

Universidad de Costa Rica  
Facultad de Ciencias Agroalimentarias  
Escuela de Zootecnia

Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) en el Control de Calidad de Aguas

Talina Silva Orozco

Proyecto de Graduación para optar al grado de Licenciado en Ingeniería  
Agronómica con énfasis en Zootecnia

Abril del 2008

PROYECTO DE GRADUACIÓN PRESENTADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO  
DE INGENIERO AGRÓNOMO CON EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO  
EN ZOOTECNIA

TRIBUNAL EXAMNADOR

M.Sc. Augusto Rojas Bourrillon

---

Subdirector de Escuela

M.A.E. Ruth Vargas Cordero

---

Directora del Proyecto

Ing. Adrián Martínez Machado

---

Miembro del Tribunal

Ing. Kathia Elizondo Orozco

---

Miembro del Tribunal

Ing. Felipe Vaquerano Pineda

---

Miembro del Tribunal

Talina Silva Orozco

---

Sustentante

## DEDICATORIA

A Dios

A mis padres, familiares y Ruth Vargas Cordero

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero quiero darle las gracias a Dios por ser mi apoyo y permitirme culminar mis estudios al lado de personas que me guiaron y orientaron a lo largo del trayecto.

A mis padres por creer en mí y tener la convicción firme de educarme y realizar siempre el mejor esfuerzo para que pudiera salir adelante.

A mi tía que ha sido más que un apoyo, un pilar en mi formación y se ha preocupado en todo momento por el bienestar de mi familia.

Externo mi sentimiento de gratitud ante el personal de Aqua Corporación Internacional S.A., pero muy en especial al Ing. Gustavo Ureña quien me permitió realizar el presente proyecto del cual obtuve experiencias muy gratificantes y enriquecedoras en mi formación. A los compañeros del plantel principal y del laboratorio, que estuvieron siempre dispuestos a otorgarme sus conocimientos y con quienes compartí durante mi estadía, especialmente al Ing. Felipe Vaquerano, a los señores Minor Rodríguez y José Luis Fallas y al Dr. Dennis Fuentes.

A mi directora de proyecto M.A.E Ruth Vargas Cordero, que más que una orientadora, ha sido un modelo a seguir, ya que he aprendido la importancia de dar siempre más de lo requerido, con su constante tenacidad y abnegación por el trabajo.

A mis profesores y amigos de la Universidad de Costa Rica, quienes permitieron mi crecimiento como ser humano y futura profesional

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

|   |     |
|---|-----|
| <b>HOJA DE APROBACIÓN</b>   | ii  |
| <b>DEDICATORIA</b>  | iii |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>  | iv  |
| <b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b>   | v   |
| <b>RESUMEN</b>  | x   |
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>  | 1   |
| <b>II. OBJETIVOS</b>  | 3   |
| <b>III. MARCO TEÓRICO</b>   | 4   |
| 3.1 Descripción de la empresa   | 4   |
| 3.2 Parámetros más importantes en la determinación de la calidad del agua | 6   |
| 3.2.1 Temperatura   | 6   |
| 3.2.2 Oxígeno disuelto en el agua   | 7   |
| 3.2.3 Turbidez  | 9   |
| 3.2.4 Acidez del agua del estanque  | 11  |
| 3.2.5 Compuestos nitrogenados   | 13  |
| 3.2.5.1 Amonio  | 13  |
| 3.2.5.2 Nitritos y nitratos   | 14  |
| 3.2.6 Fosfatos  | 16  |
| 3.2.7 Demanda Química de Oxígeno  | 16  |
| 3.2.8 Sólidos   | 16  |
| 3.2.8.1 Sólidos suspendidos o sólidos no filtrables                       | 17  |
| 3.2.8.2 Sólidos sedimentables   | 17  |
| 3.2.9 Microbiología de aguas  | 18  |
| 3.2.9.1 Recuento total aerobio  | 18  |
| 3.2.9.2 Conteo de mohos y levaduras                                       | 18  |
| 3.2.9.3 Conteo de <i>E.coli</i> y coliformes                              | 19  |
| 3.2.10 Dureza total   | 19  |

|   |    |
|---|----|
| 3.2.11 Alcalinidad  | 20 |
| 3.2.12 Dióxido de carbono   | 20 |
| 3.3 Prevención de enfermedades                                      | 21 |
| 3.4 Enfermedades frecuentes en la tilapia y su medio de transmisión | 22 |
| 3.4.1 Protozoarios  | 23 |
| 3.4.2 Helmintos   | 24 |
| 3.4.3 Nemátodos   | 25 |
| 3.4.4 Acantocéfalos   | 25 |
| 3.4.5 Céstodos  | 25 |
| 3.4.6 Crustáceos  | 26 |
| 3.4.7 Bacterias   | 26 |
| 3.4.8 Hongos  | 27 |
| 3.5 Concepto de Buenas Prácticas de Laboratorio                     | 27 |
| 3.5.1 Sección I   | 28 |
| 3.5.2 Sección II  | 29 |
| 3.5.3 Organización y personal de laboratorio                        | 29 |
| 3.5.3.1 Dirección del laboratorio                                   | 29 |
| 3.5.3.2 Director del estudio  | 30 |
| 3.5.3.3 Personal implicado  | 30 |
| 3.5.4 Programa de Garantía de Calidad                               | 31 |
| 3.5.4.1 Laboratorio   | 31 |
| 3.5.4.2 Aparatos, materiales y reactivos                            | 32 |
| 3.5.4.3 Sistemas experimentales                                     | 33 |
| 3.5.4.4 Sustancias a ensayar y de referencia                        | 33 |
| 3.5.4.5 Procedimientos Normalizados de Trabajo                      | 34 |
| 3.5.4.6 Realización del estudio                                     | 35 |
| 3.5.4.7 Informe final   | 36 |
| 3.5.4.8 Archivo   | 36 |
| 3.6 Concepto de Control y Garantía de Calidad                       | 39 |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.6.1 Unidad de Garantía de Calidad                                | 39        |
| 3.7 Seguridad en el laboratorio                                    | 43        |
| 3.7.1 Infraestructura  | 44        |
| 3.7.2 Trabajos con riesgos especiales                              | 44        |
| 3.7.3 Protección personal  | 44        |
| 3.7.4 Elementos mínimos de seguridad que debe tener el laboratorio | 45        |
| 3.7.5 Normativas especiales que deben estar escritas               | 46        |
| 3.7.6 Eliminación de residuos                                      | 46        |
| 3.7.7 Extinción de incendios                                       | 47        |
| 3.7.8 Plan de emergencia   | 47        |
| 3.7.9 Hábitos de trabajo en operaciones rutinarias                 | 48        |
| 3.7.10 Hábitos personales que deben exigirse                       | 48        |
| <b>IV PROCEDIMIENTO Y METODOLOGÍA</b>                              | <b>51</b> |
| 4.1 Ubicación  | 51        |
| 4.2 Procedimiento  | 51        |
| <b>V RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                                    | <b>53</b> |
| 5.1 Análisis de laboratorio  | 53        |
| 5.1.1 Determinación de temperatura y oxígeno                       | 54        |
| 5.1.2 Determinación turbidez                                       | 55        |
| 5.1.3 Determinación de pH  | 56        |
| 5.1.4 Determinación de amonio y amoníaco                           | 57        |
| 5.1.5 Determinación de nitritos, nitratos y fosfatos               | 59        |
| 5.1.6 Determinación de la Demanda Química de Oxígeno               | 59        |
| 5.1.7 Determinación de sólidos suspendidos                         | 60        |
| 5.1.8 Preparación de muestras de microbiología                     | 61        |
| 5.1.9 Determinación de dureza total                                | 62        |
| 5.1.10 Determinación de alcalinidad                                | 62        |
| 5.1.11 Determinación de dióxido de carbono                         | 63        |
| 5.2 Buenas Prácticas de Laboratorio                                | 64        |

|  |     |
|--|-----|
| 5.2.1 Organización y personal de laboratorio   | 64  |
| 5.2.1.1 Dirección del laboratorio  | 64  |
| 5.2.1.2 Director del estudio   | 66  |
| 5.2.1.3 Personal implicado   | 68  |
| 5.3 Programa de Garantía de Calidad  | 69  |
| 5.3.1 Laboratorio  | 70  |
| 5.3.2 Aparatos, materiales y reactivos   | 71  |
| 5.3.3 Sistemas experimentales  | 71  |
| 5.3.4 Sustancias a ensayar y de referencia   | 72  |
| 5.3.5 Procedimientos Normalizados de Trabajo   | 73  |
| 5.3.6 Realización del estudio  | 79  |
| 5.3.7 Informe final  | 79  |
| 5.3.8 Archivo  | 81  |
| 5.4 Control y Garantía de Calidad de Aguas   | 86  |
| 5.4.1 Unidad de Garantía de Calidad  | 87  |
| 5.5 Seguridad en el laboratorio  | 90  |
| 5.5.1 Infraestructura  | 90  |
| 5.5.2 Botiquín de primeros auxilios  | 91  |
| 5.5.3 Trabajos con riesgos especiales  | 92  |
| 5.5.4 Protección personal  | 93  |
| 5.5.5 Elementos mínimos de seguridad que debe tener el laboratorio                     | 93  |
| 5.5.6 Normativas especiales que deben estar escritas                                   | 94  |
| 5.5.7 Eliminación de residuos  | 94  |
| 5.5.8 Extinción de incendios   | 96  |
| 5.5.9 Plan de emergencia   | 96  |
| 5.5.10 Hábitos de trabajo y personales en operaciones rutinarias<br>que deben exigirse | 97  |
| <b>VI CONCLUSIONES</b>   | 98  |
| <b>VII RECOMENDACIONES</b>   | 100 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b>  | 102 |
| <b>ANEXOS</b>  | 108 |
| Anexo 1: Buenas Prácticas de Laboratorio   | 108 |
| Anexo 2: Lista de control  | 109 |
| Anexo 3: Determinación de sólidos sedimentables  | 110 |
| Anexo 4: Determinación de turbidez   | 111 |
| Anexo 5: Cuadro de referencia de parámetros físico-químicos                              | 114 |
| Anexo 6: Recolección general de muestras   | 115 |
| Anexo 7: Determinación de amonio   | 117 |
| Anexo 8: Determinación de nitritos   | 120 |
| Anexo 9: Determinación de nitratos   | 123 |
| Anexo 10: Determinación de fosfatos  | 126 |
| Anexo 11: Determinación de DQO   | 129 |
| Anexo 12: Determinación de sólidos no filtrables o sólidos<br>suspendidos                | 132 |
| Anexo 13: Preparación de muestras de microbiología de aguas                              | 134 |
| Anexo 14: Almacenamiento y preservación de placas de microbiología                       | 137 |
| Anexo 15: Determinación de dureza total  | 138 |
| Anexo 16: Determinación de alcalinidad   | 141 |
| Anexo 17: Determinación de dióxido de carbono  | 145 |
| Anexo 18: Estructura de la libreta del laboratorio para el mantenimiento<br>del equipo   | 148 |
| Anexo 19: Porcentaje de amoníaco en soluciones acuosas a<br>diferentes pH y temperaturas | 149 |
| Anexo 20: Organigrama del Laboratorio  | 149 |
| Anexo 21: Diagrama del Laboratorio   | 150 |

## RESUMEN

Se realizó el diagnóstico del laboratorio de la Unidad de Control de Calidad de Aguas de la empresa Aqua Corporación Internacional S.A, entre los meses de octubre de 2007 y enero de 2008, con el objetivo de comparar la metodología empleada en el mismo contra los lineamientos que rigen los principios internacionales de las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP).

Para facilitar el entendimiento de los análisis que se realizan en dichas instalaciones y ubicar cada uno de los puntos de muestreo, fue necesario conocer y comprender el flujo de aguas. Posterior a ello se procedió a observar y desarrollar las determinaciones de cada uno de los parámetros evaluados, comparando la ejecución de las mismas tanto contra la metodología e indicaciones dadas en los manuales, como contra las normas GLP. De esta manera se detectaron los puntos que podrían ser reforzados, para acercarse paulatinamente a una eventual implementación de la normativa.

El laboratorio cumple algunos de los puntos mencionados en los diversos apartados que conforman las normas internacionales, sin embargo es importante que se refuercen los temas de seguridad, infraestructura, programa de garantía de calidad, confección de Procedimientos Operativos Estandarizados (SOP-s), entre otros. Es indispensable la homogenización de criterios técnicos acorde a lo estipulado por los respectivos fabricantes y con ello minimizar la subjetividad al desempeñar cada evaluación.

## I INTRODUCCIÓN

Conforme ha ido transcurriendo el tiempo, los sistemas de producción han tendido a intensificarse como respuesta a la evolución del consumidor y sus crecientes exigencias, lo que ha traído como consecuencia un aumento en la competitividad entre los diversos sectores de producción para lograr ampliar el segmento del mercado sobre el que ejercen acción.

La acuicultura ha venido a convertirse en una posible solución para suplir las demandas de los consumidores de organismos acuáticos, manejando todo bajo una perspectiva amigable con el ambiente y sosteniendo excelentes estándares de calidad.

Siendo el agua el medio de vida en donde los peces realizan sus funciones vitales, es indispensable mantener su calidad y cantidad a lo largo del ciclo productivo. De ahí la necesidad de realizar la medición constante de ciertos parámetros que están asociados entre sí, tales como la temperatura, el oxígeno disuelto en el agua, la turbidez y la acidez. Un ejemplo claro de ello es la relación existente entre la temperatura y el oxígeno disuelto, siendo el primero uno de los factores que incide más en el crecimiento de los peces, ya que si no se maneja de acuerdo a la fase de desarrollo en que se encuentra el animal, puede provocar alteraciones en las funciones vitales del mismo que lo pueden conducir a la muerte, debido a la relación directa que sostiene con el segundo parámetro.

Dado que los sistemas de producción son cadenas que dependen de los datos generados en cada una de las unidades de producción, el producto final estará en función del sistema integrado. En este proceso, controlar la calidad de aguas es el punto de inicio en la cadena productiva, ya que es el medio que provee

condiciones vitales a los animales y por lo tanto se vuelve prioritario monitorear los parámetros que determinan las condiciones de éste. Desde la perspectiva del análisis físico-químico, las Buenas Prácticas de Laboratorio (por sus siglas en inglés, GLP) son sistemas de organización que han permitido garantizar la calidad e integridad de los datos obtenidos tanto a nivel de campo como a nivel de laboratorio. De ahí la importancia de la implementación de las GLP como un medio que ofrecerá constancia y calidad en los datos producidos para manejar rigurosamente las condiciones en que se desenvuelven los animales y con ello prevenir la incidencia de enfermedades al ejercer mayor control sobre factores que desencadenan la proliferación de las mismas.

Esto repercute positivamente en términos económicos, ya que al tener animales que se desarrollan en las mejores condiciones y presentan una menor incidencia de enfermedades, no sólo habrá un menor gasto en medicamentos sino que las ganancias de peso y conversión alimenticia de los mismos se verán favorecidas pudiendo alcanzar con ello el peso de cosecha en períodos más cortos.

Tal como se indicó el consumidor ha evolucionado con el paso del tiempo y se ha vuelto más exigente, no sólo se conforma con obtener productos de calidad reconocida sino que necesita saber la procedencia de los mismos y el tipo de procedimientos a los que son sometidos (trazabilidad); es por ello que implementar sistemas como las GLP en el control de calidad de aguas se convierte en el primer paso para conferirle a toda empresa un respaldo de que los tipos de procesos utilizados se ajustan a las necesidades de los clientes, asignándole con ello un mayor valor agregado al producto final.

## **II OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Evaluar los controles de calidad de aguas en el proceso de producción de tilapias, de cara a la posible implementación de buenas prácticas de laboratorio.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Conocer el flujo de aguas a lo largo de las unidades de producción.
2. Conocer el manejo del Laboratorio de Control de Calidad de Aguas de Aqua Corporación.
3. Evaluar el sistema del Laboratorio de Control de Calidad de Aguas versus la normativa que fundamentan las Buenas Prácticas de Laboratorio.
4. Valorar la confección de hojas de evaluación de muestreos y de la lista de control.

## III MARCO TEORICO

### 3.1 Descripción de la Empresa

La empresa Aqua Corporación Internacional S.A (perteneciente al Grupo ACI) está ubicada en Cañas, Guanacaste y se dedica a la producción de tilapias para la posterior venta de filete fresco para exportación. Conjuntamente con otras dos unidades básicas generan el ciclo completo de producción; abarcando con ello la producción de tilapia en la finca madre, su industrialización en la empresa Terrapez y finalmente la comercialización internacional por medio de Rainforest Aquaculture.

De acuerdo con Vaquerano (2003) la finca madre de Aqua Corporación Internacional S.A (ACISA) consta de seis fases de producción que se citan a continuación en orden lineal. a) Reproducción: aquí se encuentran los padrotes cuyo ciclo productivo es de 30 días de producción y 30 días de descanso. b) Reversión Sexual: se ubican los alevines provenientes de la fase anterior con un peso de 0,02 g y permanecen ahí hasta que alcanzan 1 g de peso, la duración de este ciclo es de 30 días. c) Nursery 1: los peces son llevados del gramo a los 15 g en un período de 60 días. d) Nursery 2: los peces son sembrados con un peso inicial de 15 g y la fase culmina cuando éstos alcanzan los 50 g en un período de 90 días. e) Engorde 1: la fase tiene una duración de 120 días y se lleva a los animales a un peso de 250 g. f) Engorde 2: su duración es la misma que la de la fase anterior, sin embargo los animales pasan de 250 g a 950 g e inclusive 1200 g para ser llevados posteriormente a la planta de proceso.

La finca está compuesta de nueve etapas de producción denominadas:

- Primera Etapa.
- Segunda Etapa.
- Tercera Etapa.
- Cuarta Etapa.
- Quinta Etapa.
- Sexta Etapa: la cual se divide en Sexta A, Sexta B y Sexta C.
- Séptima Etapa: también conocida como Terrapez.
- Octava Etapa: también conocida como Llano Verde.
- Novena Etapa: también conocida como Santa Paula.

Según este mismo autor (2007), la finca dispone del Laboratorio de Control de Calidad de Aguas (LABCCA, acrónimo aquí propuesto), sujeto de estudio en esta propuesta. En su sistema de evaluación se inicia el proceso de control en estanques específicos, denominados indicadores, de los cuales se toman muestras para el monitoreo de aguas. Una vez recolectadas las muestras son llevadas al LABCCA y se realizan las pruebas respectivas para cumplir la función mencionada anteriormente. Solamente cuando a raíz del monitoreo llevado en finca el encargado advierte una persistente situación de emergencia tal como déficit de oxígeno u otros, las muestras se toman de los estanques reportados, a las que se les realizan más análisis tales que permitan coadyuvar en la implementación de acciones correctivas lo más pronto posible y se reportan como muestras especiales dentro del registro que se maneja en el LABCCA. Además se realiza el monitoreo de vertidos de los humedales y microbiología de aguas para muestras provenientes del río y del canal.

### **3.2 Parámetros más importantes en la determinación de la calidad del agua**

Según la Secretaría de Pesca de México (1986), en todo sistema de cultivo es primordial optimizar la capacidad de producción, sin embargo ésta obedece directamente a la calidad y cantidad de agua que posean los estanques, ya que dependiendo de ambas medidas se pueden desarrollar diferentes tipos de especies acorde a las exigencias de las mismas, así como diferentes volúmenes de producción. Sobre este aspecto Ruiz ya desde 1984 indicó que de la calidad de agua depende el éxito de la empresa, dedicada especialmente a la reproducción de este pez.

La calidad del agua presente en un momento dado en un estanque está en función de ciertos parámetros tal se indicó, entre los más importantes que se citarán seguidamente destacan la temperatura, el oxígeno disuelto en el agua, la turbidez y la acidez (pH). El mantenimiento de éstos parámetros químicos y físicos en determinados ámbitos favorece que el ambiente acuícola esté lo más libre posible de metabolitos como nitritos, nitratos, amonio, amoniaco, fosfatos y dióxido de carbono entre otros; según se detalla.

#### **3.2.1 Temperatura (°C)**

La temperatura es un parámetro que está sujeto a variaciones, ya sea por la profundidad a la que se determine o por el transcurrir del día (Secretaría de Pesca de México, 1986). La tilapia es una especie que se adapta a estos cambios con mayor facilidad comparada a otras especies, debido a que se puede desarrollar entre los 20 °C y 30 °C, según la Secretaría de Pesca de México (1994), si bien Saavedra y Col. (2001) la sitúan en el ámbito de 25 a 32 °C

Se indica en el Manual de Piscicultura de agua dulce, de la Secretaría de Pesca de México, 1986, que de acuerdo a la fase de desarrollo en la que se encuentren los animales, éstos requerirán condiciones de temperatura específicas, ya que cambios de la misma podrían conllevar a alteraciones en las funciones vitales que los podrían conducir a la muerte. Los peces están en capacidad de adaptarse paulatinamente a variaciones de temperatura por medio de un proceso de aclimatación, sin embargo es importante que estos cambios no sean bruscos para que el pez logre adaptar sus procesos fisiológicos e impedir con ello que se de la pérdida de apetito o reducción de defensas, que eventualmente podría conllevar a la muerte del animal, según indica Vaquerano (2007). Es importante indicar además (que según Vargas, 2007) que la capacidad de adaptación a diferentes ámbitos, está en función tanto la especie como la línea a escoger.

### ***3.2.2 Oxígeno disuelto en el agua (mg/L)***

Siendo que el oxígeno y el dióxido de carbono son los gases más importantes en el aire, su compleja interrelación según Boyd (1996), se maximiza en condiciones acuícolas, por cuanto las plantas que se encuentran en los estanques son las encargadas de producir el oxígeno que es vital para los animales, dado que durante la noche ellas también requieren de este elemento, provocando que el gas llegue a sus niveles más bajos después del amanecer (Secretaría de Pesca de México, 1986), lo que provoca a su vez dramáticos cambios en la concentración de dióxido de carbono tal y como apunta Boyd (1996). Con ello se vuelve indispensable la medición de este parámetro para determinar la condición de los peces. Estanques ricos en fitoplancton se caracterizan por tener mayores concentraciones de oxígeno, sin embargo hay que tener cuidado de que el florecimiento de fitoplancton no sea excesivo para prevenir que se de la situación inversa.

En el Manual de la Secretaría de Pesca de México (1986) se indica que para medir el nivel de oxígeno presente en un estanque se pueden utilizar diferentes medios tales como oxigenómetros, sustancias químicas o evaluar el comportamiento de los animales.

El cambio en el comportamiento de los peces se nota cuando éstos suben a la superficie e intenten aspirar aire (*boquear*), que naden de lado o permanezcan agrupados cerca de las entradas de agua fresca es un indicador muy práctico de que la concentración de oxígeno no está sufriendo sus necesidades. Además en caso de ver animales muertos por asfixia, se observará que los opérculos se encuentran levantados y las branquias separadas.

Las medidas de control a implementar para mantener el mejor entorno productivo para los animales, está en función de la producción a escala de ACISA, debido al impacto económico en términos de eficacia y eficiencia que la labor representa. De ahí la importancia en que el sistema de monitoreo de aguas en esta empresa, se enfoque con respecto a la normativa internacional, tanto a nivel de finca como en LABCCA, ya que esta será la pauta que demarcará el progreso que tenga la empresa en la calidad de sus productos.

Si bien es importante monitorear el agua con el mejor sistema, no es posible obviar que la reducción del nivel de oxígeno disuelto, producto del acúmulo de desechos y desperdicios en el fondo del estanque que conlleva a malos olores (Secretaría de Pesca de México, 1986) es primordialmente consecuencia de la calidad de agua que ingresa a los estanques (Boyd, 1996). Con base en ello es de suma importancia comparar en esta empresa, la calidad de agua de los estanques indicadores versus alternos a fin de determinar si existen puntos críticos en la calidad de agua a través del flujo de la misma.

Existen diferentes factores que determinan la oxigenación del agua, entre ellos se encuentran la temperatura, contenido de material orgánico en el estanque y vegetación acuática sumergida. Entre más elevada sea la temperatura, menor será el contenido de oxígeno debido a que en el proceso de evaporación hay pérdida del gas. Ocurre lo inverso cuando las temperaturas son bajas.

Datos obtenidos del Manual de Pesca Rural de la Secretaría de Pesca de México (1986), indican que las necesidades de oxígeno varían dependiendo de la especie y etapa de vida en la que se encuentren los animales, los adultos tienen la capacidad de tolerar concentraciones más bajas que los alevines y crías. Cuando hay disminuciones en la temperatura ambiental también lo hace la temperatura corporal de los peces, lo que trae como resultado una disminución en la actividad y demanda de oxígeno de los mismos.

Las tilapias se caracterizan por soportar bajas concentraciones de oxígeno disuelto debido a la alta capacidad que tiene su sangre de saturarse con el mismo, a pesar de que la presión del medio sea baja. La estrategia que utilizan es reducir el consumo del gas cuando se presentan las condiciones descritas con anterioridad, reduciendo a su vez la ingesta de alimento, lo que trae como consecuencia el decrecimiento de los animales. La Secretaría de Pesca de México (1986) y Boyd (1996) enfatizan la importancia de impedir que los niveles de oxígeno sean inferiores a un ámbito de (2-3) ppm, en especial en ausencia de la luz solar. Se considera que para brindarle las mejores condiciones al cultivo se requieren niveles de (4-5) ppm mínimas.

### **3.2.3 Turbidez (FAU)**

La turbidez está determinada por la cantidad y el tamaño de partículas suspendidas en el agua, estas últimas pueden ser tanto inorgánicas como

orgánicas según Secretaría de Pesca de México (1986), Mena (1987), Mora (1989), Boyd (1996) y Saavedra y col. (2001). El material orgánico puede ser vegetal (fitoplancton), animal (zooplancton), material fecal, detritos de plantas acuáticas o algas, entre otros.

El productor puede detectar problemas de escasez de oxígeno y cantidad de nutrientes midiendo la turbidez de sus estanques. La Secretaría de Pesca de México (1986) y Mora (1989) coinciden en que el excesivo crecimiento de fitoplancton impide la entrada de los rayos solares a través del agua (genera turbidez), mermando con ello el proceso fotosintético, ya que son estos últimos los que incitan a que se de esta acción química en las plantas con una posterior liberación de oxígeno para favorecer el crecimiento de diversas especies vegetales.

Basándose en la información provista por la Secretaría de Pesca de México (1986), las distintas tonalidades que adquiera el estanque son un fiel reflejo de la condición en que se encuentra, así por ejemplo la coloración verde indica un apropiado contenido de nutrientes producto de la presencia tanto de fitoplancton como de zooplancton y por lo tanto fomenta condiciones adecuadas para el desarrollo de los animales. Mientras que aguas rojizas, pardas, amarillentas o grisáceas indican la presencia de impurezas como lodo o arcillas. Alto contenido de partículas de arcilla provocan lo que se conoce como transparencia mala. La turbidez generada en el agua es consecuencia del aumento en el caudal de los diversos cuerpos de agua producto de la precipitación, hábitos reproductivos (construcción de nidos) y alimenticios de la tilapia. La suspensión de partículas debido a la precipitación, es la que provoca problemas de obstrucción e irritación de branquias en los adultos que podrían conllevar a la muerte, mientras que los dos últimos no son perjudiciales para la salud del animal.

Para medir la turbidez del agua se utiliza el disco de Secchi que es un dispositivo metálico de 20 cm de diámetro con coloración blanca y negra en combinación, el cual va atado a una cuerda que está marcada por nudos de (10 a 20) cm. Datos obtenidos de Ruiz (1984), la Secretaría de Pesca de México (1986), Mena (1987) y Saavedra y col.(2001), indican que para realizar la determinación se deja caer el disco lentamente hasta que ya no se pueda ver y la medida es la profundidad a la que vuelve a aparecer el disco al jalarlo lentamente hacia arriba. Una visibilidad del mismo entre los 30 cm y 60 cm se considera que es la ideal.

### ***3.2.4 Acidez del agua del estanque (pH)***

El grado de acidez de cualquier sustancia, está dado por el pH, que según Ruiz (1984), Mena (1987), Boyd (1996), Bertsch (1998), y Saavedra y col. (2001) depende de la cantidad de iones de hidrógeno que existe en solución acuosa. De acuerdo con lo anterior, el agua puede ser ácida (pH inferior a 7), neutra (pH igual a 7) o alcalina (pH superior a 7). La determinación de dicho parámetro se puede realizar por medio del potenciómetro o uso del papel tornasol. Es importante obtener constantemente el valor de pH, ya que éste varía dependiendo de la concentración de dióxido de carbono, alcalinidad total, dureza y densidad de fitoplancton reportados a lo largo del día y, dependiendo del mismo, los animales pueden o no presentar problemas de salud.

Ruiz (1984), Boyd (1996) y Saavedra y col. (2001) consideran que las aguas con valores entre 6,5 y 8,5 son las de mejor calidad para el desarrollo adecuado de los animales, sin embargo los ámbitos específicos varían dependiendo de la especie de pez a cultivar.

De acuerdo con la Secretaría de Pesca de México (1986), es poco común que la tilapia presente problemas ante condiciones del medio ácidas o básicas, sin

embargo cuando el agua es muy alcalina (pH superior a 9), los peces presentan branquias quemadas y aletas deterioradas, lo cual puede ser prevenido disminuyendo la vegetación sumergida en descomposición. Si por el contrario el agua es muy ácida (pH por debajo de 5,5), ésta se vuelve muy tóxica para la mayoría de los peces y puede conllevar a la muerte. Entre la sintomatología presentada por los animales se puede observar un velo blanquecino que cubre la piel y segrega mucus y el borde de las branquias adquiere coloración parda.

Saavedra y col. (2001) enfatizan que la productividad de los estanques está en función del pH. Se sabe que si el agua es muy ácida los rendimientos bajan y por ello se han implementado medidas ante condiciones adversas. Aguas con pH inferior a 5,5 deben ser neutralizadas con carbonato de calcio o cal viva antes de ser fertilizadas, mientras que aguas muy alcalinas tienen un contenido de dióxido de carbono insuficiente para los procesos vegetales, sin embargo no existe una medida para mitigar su efecto, excepto la remoción de agua.

De acuerdo a lo establecido por el Manual de Crianza de Tilapia (Flores 2001), los valores de pH que estén por fuera del rango óptimo repercuten en el comportamiento de los animales, causando en los mismos la condición letárgica, reducción del apetito, lentitud de crecimiento, retrasos reproductivos, entre otros. El mismo autor enfatiza que los niveles de pH cercanos a 5, favorecen la rápida solubilización del ión hierro ( $Fe^{2+}$ ), que a su vez daña las células del arco branquial y genera la muerte del pez por anoxia. Algunos de los síntomas externos que manifiestan los peces son la pérdida de pigmentación y el aumento de la secreción de mucus en la piel.

### **3.2.5 Compuestos nitrogenados**

La alimentación es uno de los rubros más importantes para obtener eficientes niveles de producción, de ahí la importancia en maximizar su uso, sin embargo el alimento puede o no ser consumido y pasar por procesos de degradación para finalizar con la excreción. Para ambos escenarios se vislumbra la generación de los mismos productos de desecho, tales como dióxido de carbono, amonio, fosfato, entre otros (que son tanto de tipo inorgánico como orgánico), ya que en ambos casos se da la mineralización, producto de la acción microbiana. (Boyd, 1996)

Las condiciones aerobias a las que están sujetos los residuos generados por procesos metabólicos, entiéndase amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y/o amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), más tóxico que el primero y que están en suspensión en la columna de agua y/o acumulados en el suelo, permiten que se desarrollen procesos de transformación de la materia que implican la liberación de gases. Un ejemplo claro de ello se da cuando ocurre la nitrificación, que consiste en el cambio de amoníaco a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), para culminar con la formación de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Según Mora (1989), el primer producto de la transformación ( $\text{NO}_2^-$ ) es altamente inestable y su toxicidad está en función de la cantidad de cloruros, la temperatura y la cantidad de oxígeno; mientras que el segundo producto ( $\text{NO}_3^-$ ), induce a que se de el crecimiento de plancton. La generación excesiva de remanentes, desencadena procesos de contaminación del estanque, que a su vez repercute de manera progresiva y negativa sobre la calidad del agua. (Boyd, 1996)

#### **3.2.5.1 Amonio (mg/L)**

Existe un equilibrio entre el amonio y el amoníaco en las soluciones acuosas, según se muestra en la ecuación; que puede ser perturbado dependiendo de las

condiciones de acidez y niveles de oxígeno con los que se cuente. Cuando la concentración de oxígeno disuelto es baja y tanto la temperatura como el pH reportan valores altos, el equilibrio tenderá a desplazarse hacia la izquierda. Si por el contrario los valores de pH son bajos, el equilibrio se desplazará hacia la derecha.



Los valores elevados de amonio desequilibran el balance osmótico, cuya consecuencia inmediata es provocar el bloqueo metabólico. Este bloqueo genera lesiones tanto en los órganos internos como en las branquias del pez, afecta el sistema inmune con lo que facilita una mayor incidencia de enfermedades, produce exoftalmia (ojos brotados) y ascitis (líquido en abdomen), frena el crecimiento y reduce las posibilidades de sobrevivencia del animal, de acuerdo a lo reportado por Flores (2001) y Cantor (2007).

Para obtener el valor de amonio se realiza el siguiente cálculo:

$$NH_4^+ = N-NH_3 \times 1,288$$

Donde:

$NH_4^+$  es el valor de amonio

$N-NH_3$  es el valor de nitrógeno amoniacal

1,288 es el factor de conversión

### **3.2.5.2 Nitritos y nitratos (mg/L)**

El amoníaco presente en el medio puede ser eliminado por procesos de nitrificación y desnitrificación. El primer proceso que se lleva a cabo es la

nitrificación, para lo cual es necesaria la intervención de las bacterias *Nitrosomonas sp* y *Nitrobacter sp*.

Las *Nitrosomonas sp* permiten que se de el paso de amoníaco a nitrito, este último actúa como un producto intermedio que posteriormente será transformado a nitrato por medio de la acción que ejercen las bacterias *Nitrobacter sp*. A continuación se presentan las reacciones generadas para que se den ambos procesos en su orden respectivo.



Según Cantor (2007), los nitritos actúan como una barrera que le dificulta a la sangre de los seres vivos absorber oxígeno, esto trae como consecuencia la oxidación del ión ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) de la hemoglobina al ión férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) de la meta hemoglobina, la cual le confiere a la sangre un color característico e induce a que se desarrolle en el animal la anemia crónica.

Flores (2001) indica que el nitrito compite contra el cloro a nivel branquial y a mayor contenido de cloro, menor será la toxicidad generada por el amoníaco, ya que su entrada estará regulada por el elemento mencionado con anterioridad.

Se considera a los nitratos como un parámetro no tóxico de acuerdo al criterio de autores como Flores (2001) y Mora (1989), sin embargo Hidritec (2002) puntualiza que son una fuente importante de nutrientes y en cantidades excesivas pueden llegar a generar el fenómeno de eutrofización con el subsiguiente aumento de organismos autótrofos (fitoplancton, microalgas, plantas acuáticas, entre otros), que a su vez consumen oxígeno.

### **3.2.6 Fosfatos (mg/L)**

Boyd (1996), Flores (2001) y Cantor (2007) enfatizan que las concentraciones elevadas de este parámetro, promueven el rápido crecimiento de fitoplancton, microalgas y plantas acuáticas, que durante la noche reducen la disponibilidad de oxígeno. La toxicidad de los fosfatos está en relación inversa del pH, a medida que los valores del mismo disminuyen, ésta aumenta.

### **3.2.7 Demanda Química de Oxígeno (DQO, mg/L)**

Los procesos para que se de la degradación del material orgánico presente en el agua y producto de la excreción animal o restos de alimento no consumido según Boyd (1996), Cantor (2007), implican el consumo de oxígeno, de ahí la importancia de medir parámetros como la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO). El primer parámetro según indica Rosales (1996) se refiere solamente al consumo de oxígeno por parte de los microorganismos, mientras que el segundo parámetro incluye no solamente la demanda anteriormente citada, sino también la consumida en reacciones químicas.

La población biótica que conforma los estanques está compuesta por fitoplancton, zooplancton, peces, entre otros, cada uno realiza funciones metabólicas que requieren del consumo de oxígeno. (Cantor, 2007)

### **3.2.8 Sólidos**

El agua que entra a los estanques, trae consigo un conjunto de partículas, ya sean disueltas o suspendidas y podrían ser de carácter contaminante dependiendo del nivel de inclusión de las mismas. Hidritec (2002) plantea una clasificación general

de los tipos de sólidos que pueden estar presentes en un cuerpo de agua, éstos pueden ser sedimentables, en suspensión, disueltos y totales (abarca la suma de todos los anteriores).

Boyd (1996) puntualiza que las sustancias disueltas o suspendidas en medios acuosos, corresponden a la concentración de sólidos disueltos, los que a su vez están conformados primordialmente por siete iones inorgánicos que son calcio, magnesio, sodio, potasio, bicarbonato, sulfato y cloro.

#### ***3.2.8.1 Sólidos suspendidos o sólidos no filtrables (mg/L)***

Algunas partículas sólidas inmersas en medios acuosos poseen carácter hidrofílico producto de las cargas eléctricas que poseen, lo que dificulta la separación de las mismas del medio, de acuerdo a Hidritec (2002). Por otra parte Laboratorios Dr. Calderón (1997), define los sólidos suspendidos (también conocidos como sólidos no filtrables) como la porción de sólidos que es capaz de retener un filtro de fibra de vidrio.

Flores (2001) y Cantor (2007) han reportado que la concentración de los mismos es proporcional al aumento en turbidez e inversamente proporcional a la cantidad de oxígeno disuelto. De ahí que se clasifiquen los estanques como limpios si su contenido de sólidos es inferior a los 25 mg/L, intermedios para valores entre los 25 mg/L y 100 mg/L y lodosos para valores superiores a los 100 mg/L.

#### ***3.2.8.2 Sólidos sedimentables (mL/L)***

Las corrientes que permiten la entrada de agua a los estanques y la fuerza de arrastre ejercida por las mismas, favorecen el ingreso de sólidos con densidades superiores (sólidos sedimentables) a las del agua y una vez que ha cesado la

turbulencia, éstos precipitan, en lo cual concuerdan la Norma Oficial Mexicana (1998) e Hidritec (2002).

### **3.2.9 Microbiología de aguas**

Los microorganismos poseen diversos medios de propagación, tal es el caso de las soluciones acuosas y en ello radica la importancia de monitorear su comportamiento, para garantizar la calidad microbiológica del animal.

Existen tres tipos de análisis fundamentales de los que se detalla la metodología aplicada en el LABCCA para su análisis en el Anexo 12.

#### **3.2.9.1 Recuento total aerobio (RTA)**

Los microorganismos aerobios son clasificados como tales debido a que requieren grandes cantidades de oxígeno para convertir la materia prima de la que se alimentan, en dióxido de carbono y así poder desarrollarse. (Instituto Nacional de Aguas de Argentina, 2005)

El recuento total aerobio (RTA) permite determinar la cantidad de bacterias aerobias que hay en una placa a una dilución preestablecida.

#### **3.2.9.2 Conteo de mohos y levaduras**

Los mohos y levaduras pueden generar afecciones en la salud de los animales. La tasa de crecimiento tanto para mohos como para levaduras es inferior a la que poseen las bacterias. Los primeros son capaces de resistir pH que pueden ir desde valores de 2 hasta 9 y crecen en cualquier medio húmedo según la Agencia

de Protección Ambiental de EE.UU. (2007), mientras que las segundas requieren valores de 3 a 7,5 para sobrevivir.

### **3.2.9.3 Conteo de *E.coli* y coliformes**

Hernández y Mendoza (1999) enfatizan que tanto para *E.coli* como para los coliformes, el medio de transmisión es el contacto con agua contaminada o vía ingestión de excretas. Ambas se alojan en el intestino de los seres vivos, provocando con ello enfermedades gastrointestinales que pueden agravarse y causar la muerte.

Los mismos autores en 1999, reportaron que la incidencia de ciertas enfermedades tales como gastroenteritis, septicemias, entre otras, ha sido relacionada con altos niveles de *E.coli*, de ahí la importancia en monitorear el comportamiento de dicha población, por medio de los análisis desarrollados a las muestras.

### **3.2.10 Dureza total (ppm)**

Los procesos erosivos conllevan a la disolución de rocas y por ende minerales en los medios acuosos, hecho que se ve potenciado con la disminución del pH. Flores (2001), Hidritec (2002), Cántor (2007), concuerdan en que la medición de los metales alcalinotérreos, especialmente el calcio y magnesio, está dada por la dureza.

Flores (2001) y Cántor (2007) enfatizan que si los niveles de metales presentes en el agua están fuera del ámbito, podrían darse repercusiones negativas tanto en la salud de los peces como en la productividad. De ahí la importancia que ven dichos autores en mantener este parámetro en un ámbito entre los 50 mg/L y 350 mg/L, ya que niveles inferiores (aguas blandas) ocasionan mermas en el crecimiento,

problemas de fecundidad, pérdida de escamas y deshilachamiento de las aletas, mientras que los valores superiores (aguas duras) tienen efectos de inhibir la productividad del estanque.

### **3.2.11 Alcalinidad (mg/L)**

La alcalinidad ha sido definida por Boyd (1996), Flores (2001), Hidritec (2002) y Cantor (2007), como la capacidad de atrapar iones hidronio y está dada por la sumatoria de bases hidróxido, carbonato y bicarbonato, en donde las dos últimas son las más abundantes.

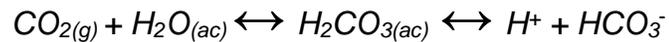
Hidritec (2002) hace referencia a la existencia de una relación directamente proporcional entre la estabilidad del pH en el agua del estanque y la alcalinidad que este posea. Es esta última la que mantiene los valores de pH *constantes*, producto del efecto tampón que ejerce al absorber protones. A su vez dicha característica permite que los peces puedan resistir condiciones adversas manteniendo los valores de pH sanguíneo, invariables.

Flores (2001) y Cantor (2007), asocian valores de alcalinidad inferiores a los 20 ppm, con aumentos en la toxicidad del sulfato de cobre, de ahí que para mitigar dicho efecto, se haga necesaria la aplicación de carbonato de calcio.

### **3.2.12 Dióxido de carbono (mg/L)**

El medio en que se encuentran los peces se caracteriza por estar conformado por diferentes componentes. Acorde a las proporciones en que se encuentren y a la influencia que ejerzan sobre otros componentes, pueden o no ser perjudiciales para la salud de los mismos. De acuerdo a Cantor (2007), la disolución de dióxido de carbono en el agua, genera un equilibrio que produce ácido carbónico, lo que a su vez reduce los valores de pH presentes en la solución, sin embargo este gas

puede reaccionar con los carbonatos alcalinos de la tierra y generar bicarbonato. A continuación se presenta la reacción de dicho equilibrio:



Según las conclusiones de Boyd (1996), Cantor (2007), la cantidad de dióxido de carbono presente en soluciones acuosas, está en función de los procesos de respiración y excreción, material no ingerido que entra en descomposición y productos de desecho, de manera directamente proporcional y con la fotosíntesis de forma inversamente proporcional.

Flores (2001) y Cantor (2007), han reportado la importancia de mantener los valores de este parámetro por debajo de las 20 ppm, ya que en caso contrario la reacción de los animales es entrar en un estado de somnolencia prolongada y anorexia.

### **3.3 Prevención de enfermedades**

Según se indicó, el conjunto de factores físicos y químicos generados por el estrés a consecuencia de la gran cantidad de patógenos presentes en el agua, suelo y aire, según cita Otárola (2005), puede conllevar a la enfermedad y eventual muerte de los peces.

Hay, sin embargo, causas generadas por los mismos sistemas de producción con los que se trabaja en la actualidad, ya que los animales son constantemente sometidos a condiciones estresantes, entre las que cita este autor se pueden mencionar:

- Altas densidades de siembra.
- Pobre calidad del agua (bajos niveles de oxígeno disuelto, altas concentraciones de materia orgánica, entre otros).
- Daño generado durante el manejo de los animales (captura, selección, traslado).
- Nutrición inapropiada.
- Condiciones antihigiénicas.

Este conjunto de situaciones pueden bajar las defensas de los peces y actuar como un foco de entrada para las enfermedades y parásitos.

Las buenas prácticas de manejo son el mejor mecanismo para mitigar los problemas de enfermedades y mortalidad. Este manejo apropiado implica el buen mantenimiento de la calidad del agua, prevención de daño y estrés durante el manejo y el uso de alimentos balanceados adecuadamente, así como procesos sanitarios apropiados.

En lo referente a las buenas prácticas en el control de la calidad del agua a las que se refiere el mismo autor, hay ciertas consideraciones para mantener este parámetro lo más estable posible tales como que, la capacidad de carga de los estanques no debe ser excedida, monitorear el agua para procurar mantener valores apropiados de los parámetros, evitar la acumulación de detritos orgánicos, desechos nitrogenados (como amonio y nitrito) y dióxido de carbono.

### **3.4 Enfermedades frecuentes en la tilapia y su medio de transmisión**

Las enfermedades de los peces se clasifican en dos grupos, las contagiosas que son causadas por agentes tales como bacterias, virus, hongos, entre otros y las no

contagiosas que son provocadas por las condiciones desfavorables del medio. (Saavedra y col., 2001)

De acuerdo con la Secretaría de Pesca de México (1994), la rusticidad que posee la tilapia le ha permitido generar mayor resistencia a condiciones de manejo que otras especies. Sin embargo el manejo directo no es el único factor determinante en la proliferación de enfermedades, también se pueden mencionar los cambios drásticos de temperatura, oxígeno, pH, limpieza y alimentación de los animales.

La reducción de la temperatura pareciera ser el factor con mayores implicaciones sobre la incidencia de enfermedades infecciosas y parasitarias, acentuando sus repercusiones en caso de manejar la densidad de carga y alimentación inadecuadamente. Por tanto, cuando la calidad del agua se mantiene bajo los estándares recomendados la incidencia de enfermedades se reduce.

Entre los organismos que pueden parasitar las tilapias se encuentran:

#### **3.4.1 Protozoarios**

a) *Ichthyophthirus multifilis*: es el causante de la mancha blanca y se presenta en los animales cuando éstos han sido sometidos a estrés por bajas temperaturas, presentan nado letárgico y problemas de apetito, conllevando con ello a elevada mortalidad. Es importante mantener la higiene y limpieza periódica de los estanques con su posterior desinfección para mejorar el control de los mismos.

b) *Trichodina* y *Chilodonella*: genera efectos graves como afecciones en la piel y branquias, que son por lo general de tipo hemorrágico, esto después de que los animales son sometidos a condiciones estresantes. Para la prevención de estas enfermedades se requiere tener un control estricto de la calidad del agua para

impedir que se den condiciones estresantes que puedan llevar a la oxidación de la materia orgánica.

c) *Ichtyobodo (Costia)*: se le asocia con bajas temperaturas, es un necatrix no muy frecuente.

d) *Sporozoa myxosporidia*: por lo general se presenta en organismos silvestres y rara vez es asociado a los cultivos; producen quistes en la piel, branquias y aletas, para lo cual es necesario drenar y desinfectar los estanques para eliminar las esporas.

### **3.4.2 Helmintos**

Se refiere a los gusanos de la clase Monogenea.

a) *Gyrodactylus*: su principal causante es el mal manejo, éste se introduce a través de las lesiones, luego de ello se adhieren a la superficie corporal del pez afectando las branquias y aletas. Para prevención se debe implementar el control de calidad de aguas y desinfectar los estanques evitando contacto.

b) *Digenea*: su principal característica es que se desarrolla por medio de un ciclo de vida que implica la presencia de organismos hospederos como caracoles (Gasterópodos), un pez intermediario y al final un piscívoro. Los quistes se ubican en cualquier parte del pez.

c) *Dactylogyrus*: este gusano se adhiere a las branquias para alimentarse del mucus epitelial y de la sangre del animal, generando con ello mucosidad excesiva en las branquias y dificultando con ello el proceso de respiración.

Debido a la alta incidencia de caracoles (que actúan como hospederos intermediarios) dentro de los estanques, canales y represas, es que la presencia de estos parásitos es muy alta. Algunos de estos parásitos son *Clinostrom*, *Neascus*, *Haplorchis* y *Diplostomun*, que a pesar de que no afectan la salud de los peces, si interfieren con la salud humana.

### **3.4.3 Nemátodos**

El más común es el *Contracaecum sp*, que se caracteriza porque sus formas larvales se alojan en la piel y las vísceras, mientras que las formas adultas lo hacen en el intestino produciendo daño visceral.

### **3.4.4 Acantocéfalos**

Producen enteritis, lo que a su vez provoca severos daños en la mucosa intestinal.

### **3.4.5 Céstodos**

Las dos especies principales que generan daños en la salud de los peces son *Corallobotrium sp* y *Botriocephalus sp*. La primera se caracteriza por enquistarse en los músculos de la cavidad pericardial y la segunda se aloja a nivel intestinal, produciendo muerte del tejido epitelial e inflamación del intestino con presencia de sangre. Se deben desinfectar los estanques para eliminar los copépodos que son los hospederos primarios.

### **3.4.6 Crustáceos**

Son tres los principales crustáceos parásitos que atacan la tilapia: *Argulus*, *Ergasilus* y *Lernea*. Se caracterizan por incrustarse sobre la piel y branquias causando úlceras y lesiones que bajan la calidad del producto, impidiendo con ello la comercialización eficiente.

### **3.4.7 Bacterias**

En los estanques, el cultivo se realiza en aguas que tienen alto contenido de materia orgánica, lo que favorece la proliferación de las bacterias, las cuales a su vez inducen la muerte de los peces. Son tres los síntomas clínicos característicos de las enfermedades bacterianas que incluyen: lesiones en la piel, granulomatosis (se presenta principalmente en el hígado, bazo y riñón) o tuberculosis (poco frecuente) y septicemia hemorrágica.

Algunas de las principales enfermedades bacterianas incluyen:

a) *Myxobacterias (Flexibacter columnaris)*: se caracteriza por la presencia de lesiones y úlceras en la epidermis que pueden provocar la muerte de los animales. Su incidencia es mayor cuando las condiciones ambientales son adversas, hay presencia de estrés, heridas o problemas de manejo.

b) *Aeromonas, Pseudomonas y Mycobacterium*: la primera se caracteriza porque los animales nadan lentamente, la segunda porque presentan septicemia o alguna infección sanguínea degenerativa y la última por la presencia de lesiones cutáneas, granulomas en el hígado, bazo y riñón.

### **3.4.8 Hongos**

En tilapia son dos especies patógenas, *Saprolegnia* y *Branchyomices*. Ambas se caracterizan por generar el crecimiento algodonoso del micelio sobre el epitelio lesionado. Son ocasionadas frecuentemente por infecciones secundarias.

La *Saprolegnia* se caracteriza por infectar las lesiones de los animales, mientras que la *Branchyomices* por atacar las branquias siempre y cuando las condiciones del medio no sean apropiadas. Las infecciones son causadas por mal manejo de redes, equipo, entre otros.

### **3.5 Concepto de Buenas Prácticas de Laboratorio**

Según Sabater y Vilumara (1988), la Agencia Reguladora de Manejo de Plagas de Canadá (1998) y Medicamentos y la Agencia Reguladora de Productos Sanitarios del Reino Unido (2007), los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP acrónimo de Good Laboratory Practices) son sistemas de organización y condiciones bajo los cuales los estudios se planifican, realizan, controlan, registran y presentan en cada laboratorio.

El objetivo de estas prácticas es garantizar la calidad y entereza de los datos obtenidos durante los estudios realizados y de acuerdo con los autores mencionados anteriormente deben permitir el reconocimiento mutuo de los ensayos entre los diferentes países, además la posibilidad de elaborar un informe final estandarizado ajustado a la realidad del ensayo desarrollado.

Según se indicó, la empresa ACISA basa sus medidas correctivas en lo que a calidad de aguas se refiere, en primera instancia a partir del monitoreo realizado a nivel de finca en cada estanque concomitantemente a los realizados en los

estanques indicadores (EI, acrónimo aquí sugerido). Si procede, los análisis se refuerzan y amplían en los estanques que generan problemas de manera consistente. Además de estos casos, la labor incluye el monitoreo del agua utilizada en ensayos y evaluaciones varias tales como monitoreo de vertidos, humedales, río, canal, aprovechamiento de alimentos, casos clínicos y de incubación realizados en una sección específica del laboratorio.

En todos los casos, el LABCCA realiza estudios de calidad; mientras que las GLP son lineamientos que surgieron para desarrollar ensayos o experimentaciones propiamente dichas. Esto refleja que si bien existe una diferencia con respecto al objetivo, en el sistema productivo de esta empresa dedicada principalmente a la exportación de filete fresco de pescado para el mercado internacional, cabe readecuar el sistema de control de calidad de aguas al sistema de normas internacionales de laboratorio, por la importancia de estandarizar los procesos desarrollados con base en los siguientes lineamientos de las GLP indicados por Sabater y Vilumara (1988) y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004):

### **3.5.1 Sección I**

Esta es la sección introductoria en la que se describe el objetivo de las GLP-s y en que áreas pueden ser aplicadas. El punto más importante que se persigue es obtener datos que indiquen las propiedades de las sustancias y productos químicos y así determinar el nivel de seguridad que le pueden garantizar a la población y al ambiente.

Por otra parte se establecen relaciones con los términos que se emplean en las GLP referentes a la organización del laboratorio y al estudio de las sustancias a ensayar. Se establecen también las disposiciones a seguir en el laboratorio para la

elaboración de proyectos de investigación y prepara al laboratorio para posibles inspecciones.

### **3.5.2 Sección II**

Esta sección hace referencia a los apartados que deben ser ejecutados para el establecimiento de las GLP-s. A continuación se mencionan los apartados en orden lineal.

### **3.5.3 Organización y personal del laboratorio**

Este apartado menciona las medidas necesarias para asegurar la entereza y calidad de los ensayos. De acuerdo a éste, para realizar un ensayo basándose en las GLP se necesita la presencia de tres órganos independientes y con responsabilidades exclusivas de cada uno. Estos tres órganos y sus respectivas funciones son:

#### **3.5.3.1 Dirección del laboratorio**

El Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004) enfatiza que la dirección se hace cargo de disponer del personal y de los medios que se necesiten para hacer el estudio. Se encarga además de nombrar al director del estudio y aprobar el programa de la Unidad de Garantía de Calidad, de este modo se implementan las correcciones necesarias ante las fallas observadas.

### **3.5.3.2 Director de estudio**

Sabater y Vilumara (1988), la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998) y Steven (2008), coinciden en que el director del estudio es la persona que se responsabiliza por la calidad y el desarrollo del estudio.

Algunas de las responsabilidades más importantes con las que debe cumplir según Sabater y Vilumara (1988), la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998) y Kioy (2001), implican los siguientes puntos:

- a) Realizar el estudio.
- b) Aprobar el protocolo experimental.
- c) Verificar el correcto seguimiento de los procedimientos y aprobar las respectivas modificaciones en caso de que sea necesario.
- d) Conducir el estudio y desarrollar el informe final.
- e) Velar por la veracidad de los datos obtenidos y basándose en ello firmar y fechar el informe final.
- f) Notificar situaciones imprevistas que puedan afectar la calidad de los resultados.
- g) Cerciorarse de que se cumple la normativa GLP.
- h) Asegurarse de que los datos recopilados son registrados y archivados.

### **3.5.3.3 Personal implicado**

El Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007), establece que el personal se hace cargo de realizar los ensayos y procedimientos a seguir para el desarrollo del estudio, cerciorándose de que se siga el protocolo descrito por los Procedimientos Normalizados de Trabajo (SOP-s), esto a su vez implica el conocimiento pleno del estudio en cuestión, el registro de dichos datos con

exactitud y precisión y la reducción de riesgos de la integridad del estudio, según informa la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998).

#### **3.5.4 Programa de Garantía de Calidad**

Es indispensable implementar este programa para el establecimiento de las GLP-s, según Sabater y Vilumara (1988), la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998) y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004). Este programa tiene como principal objetivo velar porque las instalaciones, equipos, personal, metodología, informes, entre otros sean sometidos a las normas establecidas por los SOP-s. Otro punto con el que hay que cumplir para ajustarse a las normas GLP es que el Programa de Garantía esté a cargo de la Unidad de Garantía de Calidad (QAU) de forma independiente al estudio y con libertad de informar al personal responsable, según se explicará posteriormente.

##### **3.5.4.1 Laboratorio**

La dirección del laboratorio debe velar por el tamaño y cantidad suficiente de espacios, para impedir que los agentes externos ejerzan su influencia nociva y con ello distorsionar los resultados. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España, 2004)

Instalaciones apropiadas permiten diagnósticos, tratamientos y controles adecuados de las posibles enfermedades, además de espacios especiales para el almacenamiento del equipo necesario para los mismos. Estas instalaciones deben disponer de diferentes locales para la recepción, almacenamiento y manipulación de dichas sustancias, en especial si son peligrosas.

Todo laboratorio debe contar con una sala de archivo para almacenar la documentación, informes y muestras que se generan durante el estudio, de los cuales es responsable el jefe de QAU. Además se deben encargar de la eliminación de los residuos producidos.

#### **3.5.4.2 Aparatos, materiales y reactivos**

Este apartado según Sabater y Vilumara (1988) y la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998), da información sobre las prescripciones de las GLP para el equipo que se utiliza en los ensayos no clínicos. Estas prescripciones abarcan la gran variedad de aparatos utilizados, los cuales deben ser constantemente revisados, limpiados y ubicados en las salas adecuadas de acuerdo a las instrucciones de trabajo.

En lo que a revisión de los aparatos se refiere, la División de Ingeniería Mecánica y Metalúrgica Área Metrología de Chile (1997), puntualiza la diferencia entre la calibración y la verificación. La primera compara los valores reportados por el equipo contra los valores que debería de reportar, todo ello por medio del uso de patrones. Finalizada la misma y según indica Elizondo (2007), el laboratorio externo encargado de la calibración, debe extender un certificado.

La verificación es el constante monitoreo interno por medio del uso de patrones que garantiza el correcto funcionamiento del equipo. De ahí que ambos conceptos sean indispensables en la obtención de datos fidedignos que permitan forjar el mejor criterio técnico para tomar decisiones de producción.

El equipo debe funcionar de acuerdo a las exigencias del protocolo experimental según lo indican Sabater y Vilumara (1988) y la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998), lo que implica un diseño de construcción apropiado

para dicho propósito. Otro punto importante por cumplir es la correcta identificación de todos los reactivos y soluciones utilizados para desarrollar el estudio.

#### ***3.5.4.3 Sistemas experimentales***

El término sistema experimental se refiere según Sabater y Vilumara (1988), Ministerio de Sanidad y Consumo de España (2001) y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004), a cualquier sistema animal, vegetal, microbiano, celular, subcelular, químico, físico, o cualquiera de las combinaciones entre los mencionados anteriormente y utilizados en un estudio. Para estos sistemas Sabater y Vilumara (1988) y Kioy (2001), enfatizan que las GLP tienen toda una normativa que determina las condiciones en que deben tenerse los animales y el medio que los rodea.

#### ***3.5.4.4 Sustancias a ensayar y de referencia***

Las GLP establecen un conjunto de normas para el manejo, mezcla y administración de sustancias, con el objeto de garantizar que su uso es apropiado. Al cumplir con dicha normativa se abarcan dos propósitos fundamentales: a) Evitar la contaminación de un producto con otro. b) Garantizar que la cantidad a administrar en el animal es conocida y adecuada.

Antes de realizar cualquier estudio es necesario conocer la pureza, composición, estabilidad, y condiciones de almacenamiento de la sustancia a analizar.

Como lo indica el Ministerio de Sanidad y Consumo de España (2001), dentro de la normativa se exige mantener una muestra de los lotes utilizados en el estudio en caso de que la duración del tratamiento sea superior a las cuatro semanas.

#### **3.5.4.5 Procedimientos Normalizados de Trabajo (SOP-s o Standard Operating Procedures)**

Sabater y Vilumara (1988), la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998), Kioy (2001) y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004), coinciden en que estos procedimientos establecen cómo se deben realizar los ensayos rutinarios de laboratorio por medio de instrucciones escritas, las cuales deben estar en el mismo lugar de trabajo en el que se realizan las observaciones. Steven (2008), enfatiza que los SOP forman junto con los protocolos la base para las inspecciones realizadas por la Unidad de Garantía de Calidad.

Los SOP-s tienen tres objetivos fundamentales que se mencionan a continuación.

1. Homogeneizar los diversos criterios técnicos existentes entre operarios.
2. Reducir las variaciones introducidas por cada uno de los operarios.
3. Minimizar la introducción de errores sistemáticos.

Además, requieren una estructura básica para su confección, los puntos a mencionar a continuación abarcan diversos rubros que según Sabater y Vilumara (1988), pueden contemplarse.

- a) Nombre de los SOP-s y el código que se les asigne.
- b) Fecha de redacción definitiva.
- c) Propósito (para que fue hecho).
- d) Alcance (a que aplica).
- e) Objetivos (lo que se busca).
- f) Responsabilidades (del operario).

- h) Descripción (procedimiento como tal).
- i) Terminología (vocabulario propio del documento).
- j) Referencias (otros documentos a los que se puede acudir para ampliar la información)
- k) Anexos (para clarificar el documento).
- l) Nombre y firma de la persona que los elaboró.
- m) Nombre y firma de la persona que los aprobó.
- n) Nombre y firma del jefe de la Unidad de garantía de Calidad.
- ñ) Establecer quienes tienen copia del documento.
- o) Se debe dejar espacio para refrendar las modificaciones posteriores que puedan producirse.
- p) SOP-s relacionados.

La importancia de los SOP-s radica en que garantizan el cumplimiento de las técnicas rutinarias de forma estandarizada, permiten conocer con claridad la metodología aplicada y son indispensables para el cumplimiento de las GLP.

#### **3.5.4.6 Realización del estudio**

Para realizar el estudio se requiere abarcar dos puntos, el primero es referente al protocolo de experimentación y el segundo hace referencia a los procedimientos que se deben de seguir para desarrollar el estudio.

El Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004) y Steven (2008) puntualizan que el protocolo es indispensable para realizar cualquier estudio experimental, debe ser minucioso y breve. En él se debe establecer el objetivo científico y como ha de ser realizado el procedimiento.

De acuerdo a la normativa GLP el ensayo debe realizarse tal y como se estableció en el protocolo, limitando las desviaciones a casos en los que el director del estudio documente y justifique dicha acción. Asimismo, indican los autores, la toma de datos que ha de realizarse en un estudio debe ser registrada de inmediato de forma directa, precisa y legible por el encargado, quien debe, además, anotar la fecha y firmar los documentos correspondientes.

#### **3.5.4.7 Informe final**

Una vez finalizado el ensayo se debe acudir a la realización de un informe final que como lo indica Kioy (2001), debe seguir la normativa de las GLP en lo relativo al contenido, cómo, dónde y durante cuánto tiempo debe mantenerse la documentación.

En el período de estudio se recopila qué se conoce como datos primarios, los cuales deben ser entregados a la Unidad de Garantía de Calidad para ser supervisados y con ello poder certificar el informe.

#### **3.5.4.8 Archivo**

La documentación se debe mantener durante los períodos establecidos por los lineamientos GLP para asegurar la detección rápida y completa del ensayo y solamente una persona deberá tener acceso a ésta. De acuerdo con Sabater y Vilumara (1988) y la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998), este encargado será nombrado por la dirección del laboratorio y la responsabilidad será ejercida por el jefe de la Unidad de Garantía de Calidad.

En el Anexo 1 se incluye la lista completa de las regulaciones GLP con sus respectivos apartados.

Sabater y Vilumara (1988) y Kioy (2001) puntualizan que para ajustarse a los lineamientos de la normativa, deben seguirse las siguientes consideraciones para registrar, almacenar y conservar los datos primarios escritos:

1. Deben ser anotados en libretas encuadernadas y numeradas, para evitar la pérdida de información y facilitar la lectura de la información obtenida.
2. Todo dato debe escribirse con lapicero y en caso de equivocación, debe tacharse con una raya fina, que permita ver el error cometido y posteriormente anotar al lado el dato correcto, al margen el causal, la fecha y la hora.
3. Los números deben ser claros.
4. La libreta debe tener un margen izquierdo de 4 cm para facilitar la reproducción de ejemplares, en caso de ser necesario.
5. Nada debe sobresalir del margen natural de la libreta y no se deben doblar las puntas de sus hojas.
6. La información diaria debe anotarse en una sola hoja, en caso de que sobre espacio, este debe ser tachado con una amplia equis.
7. La fecha ha de seguir siempre el mismo formato y a su lado ha de ponerse la hora y nombre de la persona que está utilizando la libreta.
8. El rubro de observaciones debe describir detalladamente las situaciones y problemáticas acontecidas, en el desarrollo del respectivo estudio.
9. Cada dato generado, debe ser anotado de inmediato en la libreta.
10. Ningún funcionario que no esté autorizado por la empresa, puede sacar la (s) libreta (s) del laboratorio.

Para registrar información bajo sistemas digitales, los lineamientos establecen los siguientes puntos:

1. La información digitada, debe indicar quien es el responsable de la introducción de los datos.

2. El director del estudio es responsable por la precisión con que se recolectan los datos.
3. Los SOP-s respectivos han de indicar el papel que desempeñan los ordenadores en la recolección, manejo, archivo, recuperación y análisis de datos, para que de este modo la Unidad de Garantía de Calidad tenga un lineamiento a seguir en la ejecución de las inspecciones.
4. Todo sistema computarizado debe seguir 9 consideraciones que incluyen:
  - a. Definición de datos.
  - b. Recolección de datos.
  - c. Corrección de errores.
  - d. Verificación de datos.
  - e. Seguridad de los datos.
  - f. Archivo de datos.
  - g. Análisis de datos.
  - h. Validación de datos.
  - i. Validación del software.
5. Para cada estudio que se realice, debe haber 2 protocolos. El primero deberá ser previamente aprobado y su función es detallar de manera clara la forma en que se desarrollará el estudio. El segundo es exclusivo del ordenador e indicará los pasos a seguir, los parámetros y datos a recolectar por el mismo.
6. Los datos deben de introducirse junto con la hora y fecha en que se realizó la operación.
7. El sistema computarizado que se utilice, permitirá la rápida y fácil detección de errores para implementar acciones correctivas eficientes.

8. Los SOP-s respectivos deben de indicar el personal autorizado para realizar revisiones y/o modificaciones.
9. Las áreas en que se almacenan los datos primarios y sus copias de seguridad, deben ser de acceso restringido.
10. Es necesaria la validación del informe final.

### **3.6 Concepto de Control y Garantía de Calidad**

Según Sabater y Vilumara (1988) el control de calidad es el sistema planificado de actividades cuyo propósito es proporcionar un producto de calidad, mientras que la Garantía de Calidad es un sistema planificado de actividades cuyo propósito es asegurar que el programa de control de calidad es actualmente efectivo. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España, 2004)

Los principios de las GLP establecen por tanto la necesidad de la presencia y funcionamiento de la Unidad de Garantía de Calidad (QAU) y debe estar formada por personas que serán designadas por la dirección del laboratorio. Su responsabilidad será monitorear cada estudio que se realice y garantizarle a la dirección que se está cumpliendo con los lineamientos.

#### **3.6.1 Unidad de Garantía de Calidad**

De acuerdo con Sabater y Vilumara (1988), Kioy (2001) y Steven (2008), para cumplir con la normativa de las GLP, todo laboratorio debe contar con un programa de Garantía de Calidad que se base en documentos para cerciorarse de que los estudios están cumpliendo con la normativa.

La Unidad de Garantía de Calidad deberá tener personal dedicado exclusivamente al programa. La cantidad de personas dependerá del tipo, variedad y cantidad de los análisis a realizar. Es importante indicar que dichos autores enfatizan en la diferencia entre los laboratorios grandes que por lo general analizan muchas muestras iguales pero utilizan pocos análisis, comparativamente a los laboratorios más pequeños que realizan gran diversidad de pruebas analíticas en un amplio espectro de muestras.

Las personas involucradas en el programa de la Unidad de Garantía de Calidad deben estar familiarizadas entonces con los procedimientos experimentales, pero no deben involucrarse en el proceso de experimentación.

Uno de los principales requisitos para el establecimiento de las GLP consiste en la instauración de un organigrama que demarque las responsabilidades desde la dirección hasta el personal que lleva a cabo el ensayo, esto tomando siempre en cuenta que la Unidad de Garantía de Calidad forma parte de un todo siendo independiente del área de investigación pero dependiente de la dirección general.

La Unidad de Garantía de Calidad se encarga de revisar periódicamente tanto las actividades de producción como las de control de calidad para garantizar el cumplimiento de la normativa GLP, de acuerdo con Sabater y Vilumara (1988) y Kioy (2001). La Unidad cubre la actividad de producción al comprobar que el control de calidad se desarrolla de manera apropiada, sin embargo no es responsable de dicha actividad.

Son tres grandes funciones que abarca la unidad:

- a) Prevención: son todas las actividades que se dan antes o durante el análisis, para lo cual se requiere de un plan detallado que de la seguridad en los estudios realizados y debe contemplar las siguientes consideraciones:
- Plan de control de exactitud y precisión de metodología aplicada dentro del laboratorio.
  - Plan de control de exactitud y/o precisión para el material suministrado por las diversas compañías.
  - Revisiones de las verificaciones hechas al instrumental del laboratorio.
  - Mantenimiento preventivo del instrumental.
  - Evaluar y cambiar con la frecuencia indicada por los fabricantes, los patrones utilizados.
- b) Evaluación: son las actividades que forman parte de los controles que se realizan durante el ensayo para la determinación de la precisión y exactitud de la metodología aplicada.
- c) Corrección: son las actividades implementadas una vez que se detectan los errores o posibles errores al final del ensayo y para los cuales es necesario determinar las causas de los mismos por medio de la calibración de instrumentos, revaloración de los métodos utilizados, o cualquier proceso que permita su detección. Para ello existe una escala en la que se transmite la información partiendo del analista y llegando hasta los jefes técnicos.

De acuerdo con Sabater y Vilumara (1988), la Unidad de Garantía de Calidad debe cumplir con las funciones mencionadas a continuación.

1. Mantener relación entre los estudios que se programen.
2. Conservar copias de los estudios que se planifican en el centro.
3. Velar por el seguimiento estricto del protocolo y los SOP-s correspondientes.
4. Realizar inspecciones con una frecuencia que permita garantizar la veracidad del estudio.
5. Entregar con cierta periodicidad, informes por escrito a la dirección del laboratorio y al director del estudio de las inspecciones realizadas, detallando la problemática hallada y las acciones correctivas a implementar.
6. Cerciorarse que tanto el protocolo, como los SOP-s respectivos, están a disposición del personal que desarrolla el estudio.
7. Verificar que las modificaciones realizadas a los protocolos o SOP-s, han sido previamente aprobadas y firmadas por el director del estudio.
8. Corroborar que la metodología, procedimientos y observaciones descritos en el informe final, son los estipulados por el protocolo o SOP respectivo, permitiendo con ello que se reflejen con exactitud aplicada
9. Adjuntar al informe una declaración en la que se indiquen las fechas de las inspecciones realizadas y las del informe entregado a la dirección del laboratorio y director del estudio.
10. Archivar y guardar los informes generados en un lugar explícitamente especificado.

Para garantizar la calidad de los datos obtenidos y cumplir a cabalidad con las funciones requeridas, es necesario el desarrollo de inspecciones por parte de la unidad, que según sugieren Sabater y Vilumara (1988), deben realizarse bajo el siguiente orden de pasos:

- a) Inicio del estudio.
- b) Durante el estudio.

- c) Informe Final.
- d) Inspecciones Generales.

Según Kioy (2001), en el caso del informe final, debe realizarse una auditoria, la cual implica la revisión en coherencia, claridad y precisión de la toma y cálculo de datos primarios y su correlación con el protocolo y el SOP respectivo.

Hay errores que no pueden ser percibidos y siempre estarán presentes, debido a que son efecto directo del azar, estos errores son conocidos como *errores aleatorios*. Algunos ejemplos de situaciones que pueden generarlos son:

1. Reactivos que envejecen en su período de no caducidad.
2. Diferente respuesta de las lecturas de los instrumentos según el tiempo que llevan conectados y también en relación a la temperatura ambiental.
3. Fluctuaciones de la red eléctrica.
4. Diferencias entre diferentes pipetas, buretas, entre otros.
5. Criterios de apreciación diferentes al momento de titular, ya sea por influencia de la luz u otro tipo de variables
6. Tiempos de incubación, calefacción, enfriamiento etc. cronometrados pero con diferencias reales de un día a otro.
7. Respuestas diferentes entre el equipo que trabaje con curvas de calibración o longitudes de onda.
8. Diferencias entre técnicos.

### **3.7 Seguridad en el laboratorio**

La implementación de GLP implica la adopción de toda una ideología, que incluye diversos apartados y cuya instauración se hace en función de obtener resultados precisos y exactos, bajo la consigna de garantizar la seguridad de los funcionarios.

Esta última no sólo se basa en acciones preventivas por parte de los operarios, si no, en aspectos de diseño, infraestructura, configuración de las instalaciones, entre otros.

### **3.7.1 Infraestructura**

De acuerdo con el Ministerio de Sanidad y Consumo de España (2001), el espacio en que trabajan los diversos operarios, debe reunir un conjunto de características, que les permita desarrollar los análisis, de la manera más eficiente y segura posible. Punto que refuerza Elizondo (2007), al enfatizar que la infraestructura garantiza la confiabilidad de los resultados, al permitir el buen funcionamiento de equipos, evitar la contaminación cruzada de muestras y las resguarda, entre otros.

### **3.7.2 Trabajos con riesgos especiales**

Este apartado como lo indica el Centro Politécnico Superior y Universidad de Zaragoza (sra)<sup>1</sup>, hace referencia a las sustancias cuyo uso implica algún riesgo potencial, producto del carácter de las mismas, ya sean explosivas, corrosivas, tóxicas, infecciosas, entre otras.

### **3.7.3 Protección personal**

Este apartado hace referencia a las medidas preventivas que deben considerarse para laborar de forma segura en las instalaciones. Sabater y Vilumara (1988) y Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra), indican que ello implica el uso de vestimenta, equipo y materiales apropiados; la forma correcta de utilizarlos y la ubicación que éstos deben de tener. Sirva de ejemplo la manera en que se porta la gabacha, esta debe ir totalmente abotonada, sin arrollar las

---

<sup>1</sup> Sin registro de año.

mangas y estar ubicada en un área previa al laboratorio. Para el equipo y materiales a utilizar, se deberán seguir las indicaciones dadas por el fabricante, para cada análisis respectivo.

#### ***3.7.4 Elementos mínimos de seguridad que debe tener el laboratorio***

De acuerdo con Sabater y Vilumara (1988), existe una serie de elementos y normas que debe seguir el laboratorio, acorde a lo estipulado por la normativa GLP. Entre los principales se pueden citar:

1. Sistema de detección de humos y/o fuego, con alarmas acústica y óptica.
2. Campanas de extracción homologadas con motor a prueba de fuegos y explosiones con extintores.
3. Número suficiente de extintores que estén debidamente señalizados y no caducos.
4. Una manguera de agua con conexión directa a la red general de entrada de agua.
5. Almacén para líquidos inflamables, blindado con hierro y pintado con pintura ignífuga (necesaria para almacenar el alcohol al 95% y el tanque de gas).
6. Los materiales inflamables deben almacenarse una vez que han sido utilizados y no permanecerán sobre la mesa de trabajo más tiempo del necesario.
7. Debe disponerse de puertas de salida de emergencia que se abran hacia fuera pulsando una palanca. Las puertas de emergencia deben estar debidamente señaladas con un letrero que diga "Salida".
8. Los enchufes no deben producir chispas al desconectarse.
9. Duchas y lava ojos de emergencia.
10. Un botiquín para primeros auxilios y un manual de curas y cuidados de urgencia.

11. Teléfonos de emergencia en un lugar visible (bomberos, ambulancias, servicio médico de 24 horas, servicio de emergencias, entre otros).
12. Plan de Emergencia.

### **3.7.5 Normativas especiales que deben estar escritas**

Se requieren normas que indiquen el manejo, acondicionamiento y las acciones a implementar en caso de una emergencia, lo que queda cubierto con los siguientes apartados.

1. Gases comprimidos no inflamables.
2. Gases comprimidos inflamables.
3. Líquidos químicos corrosivos
  - Cáusticos.
  - Ácidos fuertes.
  - Bases fuertes.
  - Agentes oxidantes fuertes.
4. Compuestos orgánicos tóxicos.
5. Productos Cancerígenos y/o Mutagénicos.
6. Productos incompatibles entre sí.

### **3.7.6 Eliminación de residuos**

Sabater y Vilumara (1988) y el Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra), establecen que las normas GLP tienen especificaciones que indican la manera de proceder para eliminar ácidos y bases acorde a las cantidades generadas de cada uno. Además hay indicaciones de la manera en que se debe eliminar cada tipo de desecho generado, no sólo en lo que respecta a sustancias que deberán ser utilizadas (para procesos de neutralización, por

ejemplo), si no el tipo de recipientes en que han de depositarse, lo cual debe ser amigable con el ambiente, según indica Kioy (2001).

### **3.7.7 Extinción de incendios**

Dentro de las instalaciones debe de haber el tipo y cantidad adecuado de extintores, distribuidos apropiadamente (determinado por un experto en cuestión), según Sabater y Vilumara (1988) y Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra). El personal debe estar capacitado para actuar eficientemente ante este tipo de circunstancias. Ello implica el uso de mantas apaga fuegos, extintores, plan de emergencia, entre otros. Por otro lado es deber de los funcionarios revisar periódicamente los extintores y así garantizar el adecuado funcionamiento y la no caducidad de los mismos.

### **3.7.8 Plan de emergencia**

Las buenas prácticas de laboratorio contemplan diversas medidas y acciones a implementar para las diferentes situaciones que podrían acontecer. Los siguientes son planes de emergencia que deberían estar contemplados dentro de las normas de seguridad, de acuerdo con Sabatrer y Vilumara (1988) y el Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra).

- Fuego en casos localizados y general.
- Vertido de productos químicos.
- Fugas de gases tóxicos, corrosivos o inflamables de sus respectivas botellas metálicas.
- Explosión con o sin incendio.
- Acciones y medidas que se deben tomar con los diferentes tipos de lesionados.

- Conducta a seguir en caso de tener que evacuar el laboratorio.

### **3.7.9 Hábitos de trabajo en operaciones rutinarias**

Es importante que el laboratorio se encuentre lo más ordenado posible para evitar accidentes laborales y a la vez impedir la entrada de agentes de contaminación que induzcan la generación de resultados sesgados.

Entre los puntos más importantes en los que enfatiza el Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra), destacan los siguientes:

1. Los materiales que no sean de uso inmediato deben ser guardados de inmediato.
2. Los reactivos peligrosos deben ir rotulados adecuadamente.
3. Toda botella debe estar etiquetada, fechada e indicar su contenido, en caso contrario hay que eliminar dicho producto.
4. Las sustancias inflamables deben guardarse inmediatamente después de su uso en el almacén de seguridad.
5. Los residuos de vidrio deben depositarse en recipientes metálicos bien sellados.
6. Para el uso, trasvase, vertido, entre otros, de líquidos inflamables, cáusticos, corrosivos o tóxicos, se deben seguir al pie de la letra los SOP-s respectivos.
7. Los cilindros con gases comprimidos, deben estar sujetas a la pared por medio de cadenas.

### **3.7.10 Hábitos personales que deben exigirse**

El personal debe adoptar un comportamiento dentro del laboratorio que le permita realizar los análisis de la manera más eficiente y segura posible, de ahí la

importancia de que se exijan y cumplan algunos de los principios mencionados por Sabater y Vilumara (1988) y el Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007), cuando se está trabajando.

1. En el laboratorio no debe permitirse: comer, fumar, mascar chicle, ni llevar palillos en la boca.
2. El consumo de alimentos será fuera del área de trabajo y cuando así sea autorizado.
3. La limpieza de manos debe realizarse como mínimo:
  - Iniciando la jornada de trabajo y siempre que se ingresa al edificio.
  - Después de ir al lavabo.
  - Siempre que se ha tenido contacto con material cáustico, tóxico, irritante y/o infeccioso.
  - Después de utilizar guantes.
  - Antes de comer.
4. Para el secado de manos es mejor utilizar papel toalla.
5. No deben quedar dispersos en la edificación objetos personales, deben colocarse en los casilleros.
6. Quienes tengan pelo largo, deben recogerlo con una cola, nunca con gorras o pañuelos.
7. No es recomendable el uso de barba si se trabaja con productos susceptibles a la contaminación.
8. El uso de lentes de contacto no es aconsejable al trabajar, de ser indispensable, se portarán gafas de protección no graduadas. Lo más adecuado es utilizar gafas graduadas.
9. El uso de joyas debe estar limitado al reloj.

10. Siempre que se manejen ácidos fuertes, bases fuertes y sustancias que deban ser llevadas a ebullición, será imprescindible el uso de gafas protectoras.
11. Sólo se puede pipetear con peras de goma o sistemas neumáticos adecuados.
12. Está prohibido que cualquier funcionario desempeñe sus funciones fuera del rango auditivo y/o visual de sus compañeros.
13. La vestimenta y calzado, portados por los funcionarios, es de uso exclusivo para el laboratorio.

## **IV Procedimiento y Metodología**

### **4.1 Ubicación**

El proyecto de graduación propuesto se desarrolló en la empresa Aqua Corporación Internacional S.A, localizada en Cañas, Guanacaste.

### **4.2 Procedimiento**

Para desarrollar los objetivos planteados, primero se tuvo que cumplir con ciertas actividades y en el orden en que se mencionan a continuación. Cabe indicar que dada la normativa con la que se planteó ajustar el sistema de control de calidad de aguas del LABCCA, algunas actividades fueron desarrolladas de forma paralela, precisamente para enriquecer los resultados finales del diagnóstico.

1. Se observaron a nivel de campo, las actividades productivas desarrolladas en los diversos departamentos, con el fin de compenetrarse en el sistema productivo de la empresa.
2. La calidad del agua fue estudiada a lo largo de las unidades de producción.
3. Fue evaluado el flujo de aguas en la compañía para observar, diagnosticar y analizar el curso que sigue el agua en cada una de las unidades de producción a través del recorrido total, permitiendo con ello determinar los puntos críticos al muestrear. Este proceso se realizó a nivel de finca en un período aproximado de tres semanas y en forma paralela al punto anterior según el departamento a observar.

4. Se observó, aprendió y analizó la metodología aplicada para la realización de estudios de calidad de aguas y el manejo del laboratorio de control de calidad de aguas.
  
5. Una vez aprendida y analizada la metodología utilizada en el sistema, se procedió a evaluar el sistema de control de calidad de aguas comparando los controles utilizados por la empresa contra los procedimientos seguidos por la normativa internacional, con el objeto de determinar la factibilidad de implementar ya sea en su totalidad o de manera parcial lo descrito en las Secciones I y II de las Buenas Prácticas de Laboratorio.
  
6. La estructuración de las GLP siguiendo la lista de control de protocolo (Anexo 2), estuvo limitada a los ensayos que se realizan en el laboratorio y no se consideran las evaluaciones rutinarias, razón por lo cual, no se confeccionaron las hojas de muestreo en este proyecto.

## V Resultados y Discusión

### 5.1 Análisis de laboratorio

Al realizar inspecciones del desempeño laboral ejercido por cada uno de los operarios, se observaron diferencias de criterio técnico entre cada uno de ellos, lo que tiene incidencia directa sobre la estandarización de procedimientos y resultados, generando por ende errores sistemáticos de tipo personal producto de la subjetividad con que se trabaja.

El seguimiento de pasos no se apega estrictamente a lo indicado por el fabricante. Para ciertas determinaciones como la preparación del material de almacenamiento, el proceso de almacenamiento, la preparación de la muestra, entre otros, no se siguen los lineamientos establecidos por los respectivos manuales (están en inglés). Por otro lado, no existe periodicidad en ciertas calibraciones realizadas al equipo que las recibe, impidiendo con ello la obtención de un fiel reflejo del comportamiento del mismo, que permita implementar la mejor medida correctiva para finalmente obtener resultados fidedignos y confiables.

Algunos análisis requieren utilizar equipo en común, por ejemplo para las determinaciones de turbidez, nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y fosfatos, se hace necesario el uso del espectrofotómetro y para las tres últimas determinaciones, se requiere la micropipeta. Como se mencionó, el equipo debe ser verificado con cierta periodicidad para garantizar la precisión y exactitud de los resultados obtenidos, ya que al realizar determinaciones de una misma muestra por triplicado, se observó la dispersión entre resultados. Acorde a lo establecido por el fabricante, en el caso del espectrofotómetro, las verificaciones deben

realizarse para cada análisis que se desarrolle en el mismo, sin embargo al igual que con el resto del equipo a excepción de la balanza analítica, esto no se cumple.

En vista de que no se dispone de un medio de transporte para recolectar las muestras y así poder desarrollar determinados análisis, el laboratorio depende para ciertos de éstos, de los funcionarios que laboran en la finca. Ellos son quienes se encargan de tomar las muestras, etiquetarlas y registrar cierta información, tal y como lo establece la normativa, según informa la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998). Esto escapa del área de investigación del presente proyecto, impidiendo con ello la evaluación del desempeño de dichos trabajadores y la veracidad de los datos anotados.

En el caso específico de la determinación de sólidos sedimentables (Anexo 3), fue imposible realizar las observaciones respectivas, debido a las razones de transporte mencionadas con anterioridad. La frecuencia con la que se requiere realizar el análisis es prácticamente diaria (seis veces por semana) y para diferentes puntos de muestreo; lo que a su vez implica la obtención de gran cantidad de muestras. Este hecho, limita el que los funcionarios de las diversas unidades de producción se encarguen de realizar dicha labor, ya que la demanda de tiempo es alta y por ende se verían obligados a hacer abandono de sus funciones.

### ***5.1.1 Determinación de temperatura y oxígeno***

Para determinar ambos parámetros, se debe introducir la sonda del oxigenómetro entre 20 cm y 40 cm sobre el espejo de agua, posterior a lo cual aparecerán ambos valores simultáneamente. Esta operación se registra por hora y para cada etapa de producción.

Estos parámetros son obtenidos a nivel de campo, lo que trae como consecuencia los puntos discutidos con anterioridad en términos de calidad de resultados.

Cada funcionario asignado para desarrollar dicha determinación, tiene indicaciones verbales de los pasos a seguir, lo que implica una revisión inicial del aparato, también llamada *calibración de campo*, con la cual se verifica si los datos de altitud y el valor de oxígeno presente en la cámara de almacenamiento de la sonda, son apropiados (90 m.s.n.m y de 7,0 mg/L a 8,0 mg/L), de lo contrario se procede a realizar diversas determinaciones para comprobar el estado del equipo y si la situación no mejora se realiza el cambio de sonda. Los dos últimos pasos son realizados exclusivamente por personal capacitado para desempeñar dicha labor.

En el caso de la temperatura, el ámbito aceptado es entre 24 °C a 32 °C. Por otra parte, el valor crítico que se maneja para el oxígeno es de 3,5 ppm. Para mantener este parámetro, la empresa hace uso de aireadores mecánicos que utilizará en caso de que se reporten niveles por debajo del valor mencionado con anterioridad. Dicho equipo se enciende unidad por unidad acorde a la situación reportada, así por ejemplo en caso de que el nivel no sea el aceptado se activa un aireador, si persiste dicha condición se continuarán activando hasta que se tengan todos los aireadores del estanque específico funcionando. Si la condición no mejora, se implementan las acciones respectivas por parte de la gerencia en términos de recambio de agua y alimentación.

### **5.1.2 Determinación de turbidez**

La metodología utilizada para realizar dicha medición, difiere de la mencionada por los diversos autores en el presente documento (método del disco Secchi), ya que hace uso del espectrofotómetro (Anexo 4). Se considera que una turbidez de 100

FAU (unidades de turbidez de formazina) o menos es lo ideal en los estanques que maneja la finca, este valor está basado en lo reportado por Shula Nitzen 2005 (Cuadro de referencia para parámetros físico-químicos, Anexo 5). En caso de que los valores obtenidos sean superiores, se implementarán las respectivas medidas en términos de alimentación y recambio de agua.

Los funcionarios tienen indicaciones (verbales) de que las muestras deben ser agitadas antes de ser introducidas al espectrofotómetro, lo que impide estandarizar la metodología empleada, ya que cada operario las agita basándose en su criterio.

### ***5.1.3 Determinación de pH***

El laboratorio utiliza dos métodos para realizar la determinación de acidez, uno a nivel de campo con el pH-metro marca YSI modelo 60, que consiste en introducir la sonda del potenciómetro a una profundidad sobre el espejo de agua entre los 20 cm y 40 cm, que además puede medir la temperatura y el otro, que se desarrolla a nivel de laboratorio con el pH-metro marca Hach modelo HQ11d, para el cual se debe tomar una muestra de agua del estanque respectivo en una botella plástica de acuerdo a lo especificado por el SOP de recolección general de muestras (Anexo 6), pero que también funciona bajo el principio de introducir el electrodo en la muestra de agua (colocada en un beaker para este caso).

La medición a nivel de campo es poco frecuente, se aplica en caso de requerir determinaciones rápidas. Por el contrario, la determinación en el laboratorio se realiza diariamente a diversas muestras. Hay indicaciones de manejo que no se ajustan de forma estricta a lo indicado por el fabricante y que repercuten directamente en los resultados, de ahí que Hanna Instruments (2004), haga

referencia al seguimiento estricto de las indicaciones de los documentos escritos de las casas comerciales respectivas.

Como lo indican Flores (2001) y Cantor (2007), la reacción que se da de la disolución de dióxido de carbono en el agua, produce ácido carbónico. Este gas se caracteriza por ser volátil, de ahí que el manejo de las muestras requeridas para los análisis de dióxido de carbono y acidez, se deba hacer con cuidado, ya que como lo indica el equilibrio, la pérdida del gas repercute en detrimento de la cantidad de ácido en solución, generando valores inferiores a los reales.

#### **5.1.4 Determinación de amonio y amoníaco**

Ambas mediciones son indirectas, ya que es necesario determinar primero el valor de nitrógeno amoniacal siguiendo la metodología del Anexo 7, para realizar posteriormente los cálculos mencionados a continuación.

$$NH_4^+ = N-NH_3 \times 1,288$$

$$NH_3 = N-NH_3 \times 1,216$$

Donde:

$NH_4^+$  es el valor de amonio

$N-NH_3$  es el valor de nitrógeno amoniacal

1,288 es el factor de conversión

$NH_3$  es el valor de amoníaco

1,216 es el factor de conversión

Los pasos citados en el manual, carecen de la estandarización en el número de agitaciones; de ahí que la jefatura del laboratorio evaluó este procedimiento

concluyendo en que la cantidad de veces que la bureta debe ser invertida cada vez que se añada un reactivo, sea de tres, evitando con ello la subjetividad de criterios entre operarios y así minimizar los errores sistemáticos.

A pesar de ello, es importante mejorar el manejo y mantenimiento del equipo para darle continuidad a los procesos de estandarización establecidos por el encargado del laboratorio. La micropipeta utilizada para añadir el reactivo de Nessler, debe ser verificada con la periodicidad definida por la jefatura del laboratorio, así como la limpieza de cristalería (viales, aplica para todos los análisis que requieran utilizar espectrofotómetro), debe de realizarse de acuerdo a lo establecido por el fabricante respectivo.

En lo que respecta a la realización del análisis, es necesario efectuar primero la determinación de cloro en las muestras de amonio, ya que éste interfiere en cualquier nivel que se encuentre. Por otro lado, es importante verificar previamente la congruencia entre viales siguiendo las indicaciones respectivas para no perjudicar la integridad de los resultados, ya que existen diferencias (tamaño, grosor, transparencia, entre otros) entre los mismos.

Cada paso requerido para desarrollar los análisis de las respectivas muestras (entiéndase por lavados, mantenimiento, verificaciones, entre otros), actúa como foco de entrada de posibles errores, de ahí que sea indispensable controlar cada uno de ellos, para mitigar los efectos que ejercen sobre los resultados. El control de un solo punto (en este caso la estandarización del procedimiento) reduce la posibilidad de sesgos, pero no en su máxima expresión.

### **5.1.5 Determinación de nitritos, nitratos y fosfatos**

En los Anexos 8, 9 y 10 se detallan los pasos a seguir para obtener las lecturas respectivas en el espectrofotómetro. En cada una de las determinaciones tres pasos son generalizados: añadir el reactivo correspondiente, mezclarlo y esperar. Es en los dos últimos puntos mencionados donde se presentan problemas de criterio técnico, sirva de ejemplo que para cada operario el concepto de mezclado es diferente, de ahí que en las inspecciones realizadas se observó que ninguno de ellos previera bajo alguna estandarización la correcta disolución del reactivo. En el caso específico de la determinación de nitratos, se debe agitar mientras se cumple el período de reacción, punto en el que se está fallando.

Por otro lado, no se cronometran los tiempos de reacción, basándose en el supuesto de que las submuestras se colocan y procesan en la mesa de trabajo, de atrás hacia delante en cuatro filas (nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y fosfatos, en ese orden respectivamente), siendo las muestras de la penúltima fila (nitritos) las que tienen el período de reacción más largo (20 minutos) y las de la primera fila (fosfatos), las que tienen el menor período de reacción (2 minutos). Esta manera de proceder tiene la desventaja de que si el lote de muestras es muy pequeño, es muy probable que no se concreten las reacciones y afecten la lectura a realizar, debido a la incertidumbre en el cumplimiento de los períodos establecidos.

### **5.1.6 Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)**

Según los autores citados con anterioridad, es de gran importancia determinar tanto la DQO, como la DBO, sin embargo este último requiere que se realicen análisis que están fuera del presupuesto de la empresa, de ahí que hayan tomado

la medida de realizar sólo el primero y basándose en éste, asumir la condición en que se encuentra el segundo.

Los pasos necesarios para desarrollar el análisis, implican el uso del reactivo de digestión (Anexo 11), a pesar de ello, el mismo no se mantiene en el laboratorio durante el transcurso de la reacción, ya que el reactor de digestión se encuentra en la planta de proceso (Terrapez). Por ende los viales que contienen el reactivo junto con las muestras respectivas deben ser trasladados para concretar el proceso, con lo que se incumple el tiempo estipulado por el manual. Deben seguirse las indicaciones del fabricante en cuanto a uso de materiales y cuantificar las agitaciones.

Es necesario que la recolección de la muestra sea en botellas de vidrio, en caso de que la misma no pueda analizarse de inmediato, existe la opción de almacenarla siempre y cuando se acidifique y refrigere. Este paso conjuntamente con atemperar la muestra, deberían realizarse previo al análisis, sin embargo no se cumplen.

#### ***5.1.7 Determinación de sólidos suspendidos***

Los sólidos en suspensión se caracterizan por presentar cargas que les permiten asociarse fuertemente con medios acuosos, de ahí que la metodología aplicada para su separación (Anexo 12), implique el uso de papel filtro de fibra de vidrio junto con un sistema de extracción al vacío. Esta técnica requiere de un manejo que garantice el aislamiento de agentes contaminantes que podrían eventualmente afectar el desempeño del análisis.

A pesar de que los funcionarios manejan los filtros con pinzas para no introducir un error de pesaje producto de la presencia de grasa (presente en la huellas que

podrían dejar si los manipularan), existe otra fuente de error de la misma índole, debido a que éstos no son previamente lavados con agua desionizada para eliminar impurezas, ni expuestos al horno para garantizar que el peso del mismo no está influenciado por la humedad del ambiente. Es importante sumarle estos pasos al procedimiento utilizado en el laboratorio, como medida que favorezca la reducción de posibles errores.

Como se ha reiterado anteriormente, es imprescindible mantener constante el peso de los filtros y con ello respaldar la precisión y exactitud del análisis en cuestión. El equipo con que se labora no garantiza que se mantengan las condiciones ideales de temperatura, humedad y vacío, necesarias para desarrollar la determinación, generando por ende un posible sesgo por malos resultados.

#### **5.1.8 Preparación de muestras de microbiología**

El laboratorio es compartido, lo que implica gran cantidad de posibilidades de contaminación, ya que el Departamento de Salud Animal de la empresa realiza cultivos de diferentes órganos y almacena materiales orgánicos, que eventualmente podrían inducir la proliferación de microorganismos indeseables. Esta situación podría ser determinante cuando se preparan las muestras sobre la mesa de trabajo, la cual también es compartida.

Las muestras de microbiología, del laboratorio de calidad de aguas, se preparan como se indica en el Anexo 13 para los análisis de recuento total aerobio (RTA), conteo de mohos y levaduras y, conteo de *E.coli* y coliformes. La manipulación de las mismas se realiza con materiales y equipo estériles, siempre que se cumpla con las condiciones indicadas por el jefe de la unidad (no se realicen necropsias en ese momento, puertas cerradas, entre otros), para impedir su contaminación y evitar con ello el crecimiento de microorganismos que no sean los deseados.

La recolección de las muestras se hace con la cautela indicada por los profesionales en cuestión, sin embargo el almacenamiento de las placas no se ajusta a lo indicado en el Anexo 14.

#### ***5.1.9 Determinación de dureza total***

Dentro del cronograma de actividades del laboratorio no se tiene planeada la determinación de dureza (Anexo 15) como uno de los análisis de rutina que se le aplican a los estanques de la empresa, razón por la cual, las observaciones a realizar son muy limitadas.

El objeto de este estudio, está orientado a las muestras de agua provenientes del plantel principal (agua de bebida), sin embargo, como ya ha sido indicado, la determinación de nitrógeno amoniacal requiere que se realice primero esta prueba, para así comprobar la existencia de iones que pudieran eventualmente generar interferencias en los resultados a obtener. Por otro lado, las botellas que se utilicen para recolectar dichas muestras, deben ser de vidrio y recibir un tratamiento previo con ácido, lo cual no se observó.

Debido a que la cantidad y frecuencia con que se analizan las muestras es poca, no se recurre al almacenamiento de las mismas, sin embargo en caso de que esta situación cambiara, se requeriría la acidificación y posterior neutralización de éstas, para su análisis.

#### ***5.1.10 Determinación de alcalinidad***

Acorde a las instrucciones que tienen los funcionarios y a los procedimientos del laboratorio, ellos deben llevar la disolución a un pH de 5,1. Las instrucciones del manual hacen uso de fenolftaleína y verde bromocresol-rojo metilo como

indicadores para determinar el punto final de la titulación. Por disposiciones internas, se utilizan métodos colorimétricos y potenciométricos en combinación, para evitar situaciones problemáticas en caso de que uno u otro falle. Al utilizar el segundo, se está cometiendo un error debido a que se ajusta la titulación a un solo pH, cuando los indicadores en realidad funcionan dentro de un margen de acidez, esto es, que la reacción no se presentará exclusivamente para un pH prefijado.

Tal como aparece en el Anexo 16, la titulación puede pasar por diferentes cambios de coloración, dependiendo de cual sea el punto final respectivo, que variará con las características de la muestra a analizar. Por lo tanto es incorrecto ajustar a un solo pH el punto final.

#### **5.1.11 Determinación de dióxido de carbono**

El manejo de estas muestras, se realiza con la cautela indicada por los expertos en la materia. En lo que respecta a las condiciones de recolección y almacenamiento de las mismas, también se cumple a cabalidad con lo establecido.

Como lo indica la reacción, la acidez es un factor clave para desempeñar exitosamente la determinación, ya que actúa como una interferencia que podría adulterar la información obtenida. Es por lo tanto preocupante que se analicen varias muestras en el mismo recipiente, ya que ello implica la posible contaminación entre muestras y con restos del hidróxido de sodio.

Para la secuencia de pasos que conforman el procedimiento (Anexo 17), es importante aclarar el concepto de *agitación*, ya que en las diversas inspecciones realizadas a los diferentes operarios, se observó que dicha acción es subjetiva, debido a que la instrucción no indica la manera de realizarla.

## **5.2 Buenas Prácticas de Laboratorio**

La empresa dispone de un laboratorio que reúne varios de los requisitos para ajustarse a los principios internacionales, sin embargo no está siendo sometido a dichos criterios, ya que su principal objetivo es otorgar un servicio que le permita a las diversas unidades productivas, forjar ideas y medidas ante los resultados obtenidos. La implementación de las GLP implica el desarrollo de ensayos como lo enfatizan Sabater y Vilumara (1988) y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004). Dado que el presente estudio basa sus lineamientos en la comparación contra la normativa internacional y determinar con ello posibilidades de mejora, es que al mencionar el término *ensayo*, realmente se esté haciendo referencia a evaluaciones.

En vista de que la empresa desea mejorar y reforzar los puntos débiles del laboratorio en lo que a buenas prácticas se refiere, es que se ha desarrollado el presente análisis para detectar los posibles lineamientos que eventualmente podrían ser implementados.

### **5.2.1 Organización y personal de laboratorio**

El laboratorio cuenta con su propio esquema de organización, sin embargo, basándose en la normativa GLP, no se está cumpliendo a cabalidad con las funciones que deberían desempeñar los tres órganos fundamentales.

#### **5.2.1.1 Dirección del laboratorio**

No existe como tal la dirección del laboratorio, ya que dicho cargo lo desempeña una sola persona, quien a su vez es el director de los diagnósticos y se encarga

de coordinar todas las actividades desarrolladas en el LABCCA, debido al poco personal con el que cuenta el mismo.

Esta entidad tiene a cargo velar por el cumplimiento de puntos indispensables para la normativa GLP. El laboratorio cumple con algunos de ellos, los otros debe reforzarlos. A continuación se presentan las responsabilidades con las que cumple, acorde a lo indicado por los autores mencionados.

1. Cada funcionario dispone de un registro en el que se indica la función que está autorizado a desempeñar y las cualidades, entrenamientos y experiencias del mismo.
2. Para cada diagnóstico existe un subalterno con experiencia, a quien se le delega el cargo de *director del estudio*, en vista de la poca disponibilidad de personal encargado de realizar las determinaciones.
3. La información que se obtiene de los diversos análisis desarrollados, se almacena en el archivo digital del laboratorio y de la jefatura del Departamento de Investigación y Desarrollo.
4. Hay una persona responsable por la información almacenada y el acceso a ésta es restringido.
5. Disponen de un cronograma de actividades del laboratorio, que facilita la organización.

Los siguientes son los puntos que deben ser reforzados.

1. El personal debe ser capacitado para estandarizar los diversos criterios técnicos que tiene cada miembro del laboratorio y minimizar con ello las variaciones entre operarios, además las instalaciones deben proveer la seguridad de dichos funcionarios, punto en el que se debe enfatizar.

2. Los funcionarios son supervisados con cierta frecuencia, sin embargo es importante llevar un registro de las inducciones y supervisiones que reciben, para garantizar el pleno entendimiento y ejecución de los procedimientos que se realizan.
3. Tomar las medidas necesarias para que se apliquen en todo momento las normas de salud y seguridad vigentes, tanto nacionales como internacionales, para lo cual es necesario disponer de todas ellas.
4. Deben desarrollarse los SOP-s para todos los análisis desempeñados en el laboratorio y supervisar continuamente su cumplimiento.
5. Se deberá nombrar al personal que conformará eventualmente el programa de Garantía de Calidad, en el momento que así se determine.
6. Las modificaciones aplicadas a los protocolos deben escribirse y exponerse ante la dirección del laboratorio, justificando el motivo de dicho cambio, para que sean posteriormente aprobadas.
7. Se debe velar por el cumplimiento del protocolo tal y como está escrito por parte de personal capacitado.

#### **5.2.1.2 Director del estudio**

El encargado del laboratorio es a su vez el director de los estudios que en el mismo se realizan. Sin embargo, debido a las múltiples funciones que desempeña, no puede estar presente en el momento en que se realizan los diversos análisis, de ahí que haya tomado la medida de efectuar supervisiones esporádicas.

Según lo estipulado por las GLP, las responsabilidades que cumple el director del estudio en el LABCCA incluyen:

1. Redacta el informe final y antes de hacerlo revisa la calidad de los datos provenientes del laboratorio.
2. Dentro de sus limitaciones, intenta asegurarse de la veracidad de los datos obtenidos de los análisis.
3. A pesar de que no existe la Unidad de Garantía de Calidad, constantemente verifica la información proveniente del laboratorio e informa a sus superiores sobre circunstancias que a su criterio están fuera de lo común.
4. Los datos reportados en los informes y registros, no llevan la firma del director, sin embargo de acuerdo a Elizondo (2007), las GLP es válido siempre y cuando se utilice un sistema que garantice la validez de los datos.
5. El director hace visitas esporádicas con el objeto de supervisar que se da el diario almacenamiento de la información proveniente de los análisis.

Los puntos en que se debe enfatizar y con ello fortalecer las responsabilidades que ejerce el director, contemplan:

- a) Según puntualiza Kioy (2001), el protocolo experimental debe ser revisado y aprobado por una entidad que involucre el criterio de diversos profesionales en la materia.
- b) Las modificaciones que se realicen deben involucrar el criterio de diversos funcionarios, de modo que se implemente la mejor medida correctiva.
- c) Se requiere involucrar a la Unidad de Garantía de Calidad, para garantizar la veracidad de los resultados de los análisis desarrollados y el cumplimiento de las GLP, lo que comprende el ciclo completo, el cual inicia con los preparativos de la toma de muestra (s) y culmina con el resultado del estudio.

### **5.2.1.3 Personal implicado**

Los funcionarios que se incorporan al equipo de laboratorio han sido previamente evaluados, basándose en las habilidades y/o conocimientos técnicos de interés que éstos puedan o no tener. Una vez que ingresan, se les dan instrucciones (verbales) detalladas del manejo y seguridad dentro de las instalaciones para cada actividad que se realiza. Este proceso de entrenamiento requiere a su vez de un período de adaptación por parte del funcionario, de ahí que el jefe de la unidad realice inspecciones esporádicas que le permiten analizar el desempeño de sus subalternos, en función del tiempo que tienen de laborar. Elizondo (2007), indica que el protocolo y los registros que respaldan dicho proceso deben existir.

Por todo lo discutido con anterioridad, es que cabe resaltar la importancia que tiene evitar la constante rotación de personal, ya que ello implica en términos económicos la inversión de tiempo y capital en los entrenamientos que deberán impartirse a los nuevos funcionarios. Esto, a su vez, pone en riesgo la calidad de los análisis desarrollados, debido a la inestabilidad con que trabaja la empresa en términos de experiencia, la cual involucra la adquisición de conocimientos y destrezas a través del tiempo.

En lo que respecta a seguridad, al realizar los análisis se cumple con la mayoría de las disposiciones exigidas, como el uso de guantes, gafas de protección y manejo del equipo y reactivos acorde a lo que se les ha indicado, sin embargo, deben reforzar los siguientes puntos para cumplir con la normativa:

- a) La vestimenta para realizar los análisis debe brindar completa protección a los operarios, de ahí la importancia en que se implemente el uso de pantalones y gabachas manga larga.

- b) Fortalecer las normas sanitarias en cuanto al uso de pediluvios, asepsia de manos al ingresar y salir del recinto y limpieza del laboratorio.

### **5.3 Programa de Garantía de Calidad**

La empresa no cuenta con un Programa de Garantía de Calidad ni con la Unidad de Garantía de Calidad. El responsable de velar por el funcionamiento adecuado del laboratorio es el director de los estudios que en éste se realizan. De ahí la importancia de poner en práctica, en el mediano o largo plazo dicho programa, ya que es indispensable forjar el mejor criterio técnico, con el objeto de implementar medidas preventivas bajo el concepto de puntos críticos de control como acción correctiva. Dicho cometido será posible en el momento en que los profesionales implicados expongan sus criterios para concretar la mejor solución, que tendrá repercusiones directas en las decisiones de producción que se realicen.

Efectuar el Programa de Garantía de Calidad para el LABCCA, facilita el acercamiento a una eventual implementación de las GLP y a su vez permite la resolución de los siguientes puntos.

- La inexistencia de documentos que confirmen que los estudios se realizaron de acuerdo a las Buenas Prácticas de Laboratorio
- No hay personal dedicado exclusivamente a realizar el programa. Quienes realizan lo más semejante al Programa de Garantía de Calidad, participan en la realización del estudio, por ende no sólo están familiarizados con el procedimiento, sino que lo realizan y conocen en su totalidad, lo que se aleja de los lineamientos GLP.

### **5.3.1 Laboratorio**

Según indica el Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007), se analizó la disposición espacial del equipo, utensilios, materiales y, tiempos y movimientos del personal y se observó que ésta podría mejorar en ciertos puntos. En el caso del equipo, la ubicación de la balanza analítica y el desecador, podría estar afectando a ambos, debido a que están sujetos a las variaciones generadas por las corrientes de aire a las que están expuestos.

El almacenamiento de reactivos es en un solo recipiente, lo que contradice lo establecido por la normativa, ya que como lo indica el Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra), existe riesgo de incompatibilidad química entre ellos. Un caso es el cartucho de hidróxido de sodio, que se coloca en el mismo recipiente utilizado para el cartucho del ácido sulfúrico. El reactivo de Nessler se caracteriza por ser altamente corrosivo, sin embargo éste se almacena en estantes elevados, en caso de un eventual derrame del mismo, puede afectar la seguridad de quienes vayan a utilizarlo y/o se encuentren cerca.

Considerando que el laboratorio es compartido con el Departamento de Salud Animal, se hace indispensable que tanto los materiales de una y otra unidad se manejen por aparte. Esto con el fin de impedir que se den procesos de contaminación cruzada, los cuales, de acuerdo con el Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007), deben ser reducidos al máximo para garantizar los resultados que se obtienen, en este caso para ambos laboratorios y para beneficio integral de la empresa.

Por otra parte, la distribución discutida anteriormente, podría repercutir no sólo en el desempeño del personal, sino generando situaciones de riesgo potencial, afectando con ello la seguridad de los funcionarios.

### **5.3.2 Aparatos, materiales y reactivos**

Todo equipo debe llevar un registro de calibraciones, del cual dispone exclusivamente la balanza analítica con una frecuencia de uso semanal. La revisión de los pH-metros, oxigenómetro y la calibración externa del espectrofotómetro no está definida. Éstas se realizan cuando los datos obtenidos producto de las mediciones realizadas se encuentran fuera de los valores esperados (históricos). Es importante que al realizar las verificaciones se lleve un registro de los valores reportados, de manera tal que se pueda graficar el comportamiento del equipo y basándose en ello acudir a calibraciones externas, según indica Elizondo (2007).

La mayoría de las etiquetas que identifican los reactivos, a excepción del reactivo de Nessler, están en el recipiente que los contiene, tal y como lo indican las buenas prácticas. Siguiendo las indicaciones de Elizondo (2007), es indispensable que todo documento sea traducido para los reactivos que así lo ameriten, ya que la información de riesgos y cuidados está en inglés no sólo en las etiquetas, sino en las hojas de seguridad, ello contradice lo estipulado por los principios en el tema de seguridad.

En lo que respecta a la limpieza del equipo, esta debería ser descrita con mayor detalle y realizada con el instrumental adecuado para evitar el deterioro del mismo.

### **5.3.3 Sistemas experimentales**

Las placas Petrifilm 3M™ utilizadas para realizar conteos de hongos y levaduras, aerobios y *E.coli* y coliformes son los sistemas experimentales con que se trabaja en el laboratorio. Las condiciones recolección de la muestra y disposición de desechos que se utilizan para dichos sistemas son las que ha establecido el

fabricante, sin embargo hay apartados que no se cumplen acorde a lo establecido por la documentación. Ejemplos claros de ello los conforman el almacenamiento de las placas y el manejo de las mismas en el momento de realizar la determinación (falta de limpieza del equipo).

#### **5.3.4 Sustancias a evaluar y de referencia**

Existen dos factores que impiden que se de el pleno cumplimiento de los dos propósitos fundamentales de la normativa de manejo, mezcla y administración de sustancias. El primero es la inexistencia de una entidad (Unidad de Garantía de Calidad) que regule el desempeño laboral, tanto dentro como fuera del laboratorio y lo segundo es que el laboratorio es compartido con la Unidad de Salud Animal, ambas unidades, trabajan en la misma mesa, por ende puede haber contaminación cruzada debido a que no se regula de forma estricta el que se comparta material y/o equipo.

Por otra parte, tener conocimiento de las condiciones de almacenamiento de los reactivos y patrones a utilizar es indispensable de acuerdo el Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007) para garantizar la calidad del análisis que se está desarrollando. En este sentido, en ciertas ocasiones se hace imposible analizar las muestras de inmediato (el mismo día en que fueron tomadas), siendo afectados con ello los parámetros a determinar, debido al cambio que sufren los mismos con el paso del tiempo. Es, por lo tanto, indispensable que las mismas sean manejadas y almacenadas siguiendo los lineamientos establecidos por el fabricante respectivo; lo que está definido para cada tipo de evaluación. Por otra parte, las muestras de las determinaciones de fosfatos, cloro, amonio y DQO no siguen las especificaciones dadas por el manual HACH para el espectrofotómetro DR/2400, lo que lleva a generar variaciones en los datos obtenidos.

Las muestras de los lotes utilizados en los estudios no pueden ser retenidas por cuatro semanas como lo indican Sabater y Vilumara (1988). Los análisis físico-químicos que se les realizan a las mismas no pueden posponerse por más de siete días (en el mejor de los casos). La mayoría de ellos requiere períodos de almacenamiento de 24 horas o menos, debido a que los parámetros a estudiar sufren modificaciones con el transcurrir del tiempo. De ahí que, en la medida de lo posible, se debe evitar llegar a esta situación, cumpliendo con lo indicado por la Agencia Reguladora del Manejo de Plagas de Canadá (1998). Por otro lado, las muestras que se toman para realizar los análisis microbiológicos deben ser procesadas de inmediato para que no sufran procesos de contaminación. Estas muestras requieren períodos de incubación de hasta 5 días.

#### ***5.3.5 Procedimientos Normalizados de Trabajo (SOP-s o Standard Operating Procedures )***

El laboratorio no dispone de SOP-s como tales; sin embargo, se cuenta con procedimientos emplastados que constan de pictogramas y pasos resumidos del procedimiento indicado por el fabricante, como medida alternativa en vista de que la mayoría de la documentación está en inglés.

El responsable de la redacción de los procedimientos que se utilizan es el jefe del Departamento de Investigación y Desarrollo y de la Unidad de Control de Calidad de Aguas, que además tiene a cargo las respectivas revisiones y modificaciones que se le aplican a los documentos. Las decisiones son tomadas por una sola persona, en vista del poco personal capacitado del que se dispone para desempeñar dicha función.

Para garantizar que los análisis realizados son ejecutados de la manera más estandarizada posible por los funcionarios y a su vez cumplir con los objetivos planteados anteriormente, se hace necesaria la confección de los siguientes SOP-s:

1. Disposición de desechos (forma de eliminar los desechos).
2. Filtración de muestras por gravedad.
3. Instalación del adaptador de viales.
4. Instalación del cartucho titulador.
5. Limpieza del adaptador de viales.
6. Limpieza del agitador eléctrico HACH.
7. Limpieza de la balanza analítica.
8. Limpieza de botellas para el análisis de fosfatos.
9. Limpieza del cono Imhoff.
10. Limpieza del espectrofotómetro DR/2400.
11. Limpieza del general del laboratorio.
12. Limpieza de pediluvios.
13. Limpieza del pH-metro HQ11d.
14. Limpieza del pH-metro YSI 60.
15. Limpieza de la pipeta Tensette 19700-10.
16. Limpieza de la punta dispensadora.
17. Limpieza de las puntas para pipeta.
18. Limpieza del titulador digital HACH 16900.
19. Manejo del reactivo Nessler.
20. Mantenimiento de la incubadora Merck.
21. Mediciones con el oxígeno metro 550 A.
22. Mezclado de reactivos.
23. Revisión de exactitud para la determinación de alcalinidad.

24. Revisión de exactitud para la determinación de CO<sub>2</sub>.
25. Revisión de exactitud para la determinación de dureza total.
26. Secado de cristalería.
27. Uso del agitador eléctrico HACH.
28. Uso general del espectrofotómetro DR/2400.
29. Uso del oxigenómetro 550 A.
30. Uso de la pera para pipetear.
31. Uso del pH-metro HQ11d.
32. Uso del pH-metro YSI 60.
33. Uso de la punta dispensadora.
34. Uso de la tabla de porcentajes de amoníaco en soluciones acuosas a diferente pH y temperaturas.
35. Uso del termómetro.
36. Uso del titulador digital HACH 16900.
37. Verificación de la balanza analítica OHAUS AR 1140.
38. Verificación de campo del oxigenómetro 550 A.
39. Verificación de cristalería.
40. Verificación del espectrofotómetro DR/2400, que debe aplicarse para los análisis de:
  - Cloro libre por medio del método de adiciones estándar.
  - DQO para el cual la metodología no está especificada por el manual respectivo.
  - Fosfato por medio del método de adiciones estándar o soluciones estándar.
  - Nitrato por medio del método de adiciones estándar o soluciones estándar.
  - Nitrito por medio del método de soluciones estándar.
  - Nitrógeno amoniacal por medio del método de adición de estándares o soluciones estándar.

41. Verificación interna del oxigenómetro 550 A (refiriéndose a la calibración que se debe realizar dentro del laboratorio).

42. Verificación de la pipeta Tensette 19700-10.

Siguiendo las recomendaciones de Elizondo (2007), los puntos indispensables en la elaboración del documento incluyen el nombre del SOP, alcance, objetivo, descripción y terminología.

Con el fin de facilitar el acercamiento a una posible acreditación, fueron confeccionados y puestos a disposición de la empresa, durante la elaboración del presente diagnóstico, algunos SOP-s que incluyen:

#### 1. Almacenamiento y preservación de muestras.

1.1 SOP de almacenamiento y preservación de muestras generales, que incluye las muestras para los análisis de:

- Alcalinidad.
- Cloro libre.
- Dióxido de carbono.
- Dureza total.
- Nitritos.
- Nitratos (períodos de 24 horas o menos).
- pH.
- Sólidos no filtrables.
- Sólidos sedimentables.

1.2 SOP de almacenamiento y preservación de muestras de fosfato.

- 1.3 SOP de almacenamiento y preservación de muestras de amonio y nitratos con períodos de almacenamiento prolongados.
- 1.4 SOP de almacenamiento y preservación de muestras de DQO.
- 1.5 SOP de almacenamiento y preservación de placas de microbiología.
2. Congruencia de viales.
3. Determinación de alcalinidad.
4. Determinación de amonio.
5. Determinación de cloro libre.
6. Determinación de dióxido de carbono.
7. Determinación de DQO.
8. Determinación de dureza total.
9. Determinación de nitratos.
10. Determinación de nitritos.
11. Determinación de fosfatos.
12. Determinación de sólidos no filtrables.
13. Determinación de sólidos sedimentables.
14. Determinación de turbidez.
15. Dilución de muestras de microbiología.
16. Diluciones en viales.
17. Enjuague de viales.
18. Filtración al vacío.
19. Limpieza de cristalería.
  - 19.1 Limpieza de cristalería en remojo.
  - 19.2 Limpieza manual de cristalería.
20. Manejo de la pipeta Tensette modelo 19700-10.

21. Mantenimiento del desecador Kartell.
22. Preparación de muestras de microbiología de aguas.
23. Preparación de la solución de almacenamiento del electrodo del pH-metro HQ11d.
24. Preparación de soluciones buffer.
- 25 Recolección de muestras.

25.1 SOP de recolección general de muestras, que se aplica para las muestras de los análisis de:

- Dióxido de carbono.
- Turbidez.
- Alcalinidad.
- pH.
- Nitritos.
- Nitratos.
- Sólidos sedimentables.
- Sólidos no filtrables.
- DQO.
- Dureza total.
- Nitrógeno amoniacal.

25.2 SOP de recolección de muestras de cloro.

25.3 SOP de recolección de muestras de fosfato.

25.4 SOP recolección de muestras de cloro.

25.5 SOP de recolección de muestras de microbiología.

26. Tratamiento de muestras con presencia de cloro para realizar la determinación de amonio.

27. Uso de la balanza analítica OHAUS modelo AR1140.

28. Uso del desecador Kartell.

29. Uso de sobres con reactivo.

30. Verificación del pH-metro HQ11d

31. Verificación del pH-metro YSI 60 (iniciado pero no concluido).

El equipo e instrumental necesario para desempeñar los diversos estudios sufre el deterioro provocado por su constante uso. De ahí que sea indispensable el mantenimiento del mismo, como medida complementaria de los SOP:s y mitigadora de los efectos citados con anterioridad y para que a su vez prolongue la vida útil. Se debe definir, por ende, la periodicidad con que se debe de realizar, ya sea diaria, semanal, quincenal, etc., todo siguiendo el formato sugerido por Sabater y Vilumara (1988), el cual se cita en el Anexo 18

### ***5.3.6 Realización del estudio***

Existen documentos escritos en los que se indica la manera de realizar cada uno de los diversos análisis. Falta estandarizar las instrucciones de dichos documentos para homogenizar los criterios existentes entre los diversos operarios y minimizar con ello la introducción de errores sistemáticos. Además, es importante que una entidad se encargue de realizar inspecciones para garantizar el cumplimiento estricto de los pasos indicados y con ello la calidad de las determinaciones que se están desarrollando.

### ***5.3.7 Informe final***

El informe final se realiza con los datos de los estanques indicadores (EI), que son anotados en el registro digital. La exposición de los mismos es en forma de tabla dinámica, la cual consta de una estructura en la que las columnas están conformadas por el año, la fecha y el punto de muestreo, mientras que en las filas se ponen los valores de pH, nitritos, nitratos, fosfatos, amonio, amoníaco, nitrógeno amoniacal, oxígeno, temperatura, turbidez, dióxido de carbono y la hora de toma de la muestra. En caso de que se requiera un informe para otro tipo de

muestras, se utiliza el formato descrito con anterioridad y se registran los parámetros de interés.

Para obtener los valores de amonio y amoníaco, se realizan cálculos basados en los datos que se obtienen de la tabla de porcentaje de amoníaco en soluciones acuosas a diferentes pH y temperatura, la cual aparece en el Anexo 19. Acorde a la temperatura y el pH en que se hayan medido de la muestra respectiva, se obtiene dicho porcentaje para la muestra correspondiente por medio de las fórmulas que se mencionarán a continuación, permite el cálculo de los valores de los parámetros mencionados con anterioridad.

$$a) \text{NH}_3 = \frac{(\% \text{NH}_3 \text{ en soluciones acuosas y a diferentes temperaturas})/100}{0,02}$$

$$b) \text{N-NH}_3 = \frac{\text{NH}_3}{1,216}$$

$$c) \text{NH}_4^+ = \text{NH}_3 - \text{N} \times 1,288$$

Donde:

$\text{NH}_3$  es el valor de amoníaco

0,02 es el valor teórico de amoníaco de acuerdo a Shula Nitzen, 2005

$\text{N-NH}_3$  es el valor de nitrógeno amoniacal

$\text{NH}_4^+$  es el valor de amonio

Los datos anteriores, que se calculan para cada muestra, corresponden a los valores críticos. Éstos son utilizados para realizar la comparación entre los datos que se obtienen de los cálculos realizados al valor de nitrógeno amoniacal proveniente de la medición realizada en el espectrofotómetro, para obtener los valores de amonio y amoníaco. Esta metodología, de comparación de valores

*teóricos* contra valores *reales*, es también utilizada para el resto de parámetros, con el objeto de que funcionen como una alerta para implementar la (s) mejor (es) medida (s) correctiva (s) posible (s). Los valores que están fuera del ámbito óptimo, se escriben en rojo. El informe final dispone de un vínculo electrónico con el cuadro reportado en el Anexo 5 para que los jefes de producción puedan realizar con mayor facilidad la comparación. Además va ilustrado con un gráfico de barras que comprende los valores de amoníaco reportados para los diversos puntos de muestreo.

Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2004) de España y Steven (2008), dicho informe debería contener la declaración de conformidad por parte de quien recibe el documento o del director del estudio, lo que no está contemplado en el laboratorio.

### **5.3.8 Archivo**

Hay un único encargado de manejar los datos primarios, que Sabater y Vilumara (1988), el Kioy (2001) y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (2004), definen como los registros originales que son generados de las observaciones o trabajos realizados a lo largo del estudio, ya sea en forma digital o escrita. El archivo tiene llave y para acceder a la información del sistema digitalizado, se debe escribir una contraseña para encender el equipo, por lo tanto el acceso es restringido.

Todos los datos que se introducen al registro se dividen en grupos acorde al tipo de análisis, objeto del estudio y frecuencia con que se realizan. Los grupos a mencionar son:

- Estanques indicadores: de éstos se obtiene una muestra por estanque seleccionado y por cada etapa de producción se analizarán dos estanques, uno de ellos debe estar a mediados de ciclo de producción y el otro a finales. El objeto de muestrearlos es monitorear la condición del agua por etapa y evitar con ello una eventual emergencia, funcionando por ende como una alerta. Los análisis que se les realizan incluyen temperatura, oxígeno, pH, turbidez, dióxido de carbono, nitritos, nitratos, nitrógeno amoniacal y fosfatos. La frecuencia de los mismos es dos veces por semana.
- Río y canal: ambos se monitorean diariamente, para conocer la condición de las dos principales fuentes de abastecimiento de agua para producción, con las que cuenta la empresa y basándose en dichos valores, tomar decisiones de recambio de agua y alimentación. Se realizan análisis de pH, alcalinidad y turbidez a las 6:00 a.m. para cada punto de muestreo, posteriormente continúan haciendo turbidez dependiendo de los valores reportados. Si la turbidez está por encima de 150 FAU, la toma de muestras es cada hora, en caso de que los valores sean inferiores, será cada tres horas. Los datos obtenidos se apuntan en la pizarra y de ahí se pasan al registro digital.
- Monitoreo de vertidos: incluye muestras diarias del canal, río, vertederos de la IV y V, drenaje de Llano Verde, humedales de Llano Verde y Santa Paula, sedimentador, CS 10-1 (compuerta sur), CS 10, drenaje de Terrapez y drenaje de Santa Paula. Las determinaciones que se realizan incluyen temperatura, oxígeno, pH, nitrógeno amoniacal (amonio) y sólidos sedimentables. Para su registro escrito se utilizan las mismas hojas de los estanques indicadores. El objeto de realizar dichas pruebas es monitorear la condición en que se encuentran las aguas que abastecen las diversas etapas de producción, sin embargo no se está realizando debido a la falta de un medio de transporte para tomar las muestras.

- Microbiología: estas muestras se toman una vez por semana para monitorear la calidad microbiológica de las aguas provenientes del drenaje de la I y II, entrada del canal, entrada del río, entrada a Llano Verde y entrada a Santa Paula. Se desarrollan análisis con placas Petrifilm 3M™ para recuento aerobio, conteo de mohos y levaduras y conteo de *E.coli* y coliformes. Los conteos se apuntan con marcador permanente sobre las placas y posteriormente se pasa la información al registro digital, lo cual Elizondo (2007), define como una práctica inapropiada.
- Muestras especiales: incluye estanques que están recibiendo un tratamiento especial o presentan una condición particular que es objeto de estudio, pero no son análisis rutinarios. En este grupo se encuentran las muestras provenientes de los estanques de mejoramiento genético, estanques heterotróficos, entre otros. Los últimos se caracterizan porque reciben un tratamiento a base de microorganismos benéficos. Los análisis y la frecuencia con que se realizan, estará determinada por el encargado del estudio respectivo.
- Humedales: incluye las muestras obtenidas de la entrada y de los humedales de Santa Paula y de la entrada y de los humedales de Llano Verde. Se realizan las determinaciones de temperatura, oxígeno, pH, turbidez, dióxido de carbono (solamente para las entradas de ambas etapas), nitritos, nitratos, nitrógeno amoniacal y fosfatos. La frecuencia de los mismos es de una vez por semana.
- Lagunas de oxidación: incluye las muestras provenientes de las lagunas de oxidación. Las determinaciones que se les realizan incluyen: pH, oxígeno y temperatura se realizan una vez por semana.

La información obtenida de los análisis de los estanques indicadores se anota de inmediato en hojas sueltas con un formato preestablecido. Incluyen los parámetros

de pH, temperatura, oxígeno, dióxido de carbono, nitritos, nitratos, nitrógeno amoniacal, fosfatos, turbidez y hora de toma de la muestra. Las anotaciones se hacen con lápiz y en caso de cometer un error se borra y se pone el dato nuevo. Dichos valores son anotados en el archivo digital del laboratorio que está escrito en tablas dinámicas, que al igual que el resto de grupos del registro, consta del siguiente formato:

| Punto de Muestreo | Parámetro | Hora de Toma de la Muestra | Observaciones |
|-------------------|-----------|----------------------------|---------------|
|-------------------|-----------|----------------------------|---------------|

El laboratorio no cuenta con libretas para anotar los resultados de los análisis que se realizan, se utilizan en su lugar hojas sueltas, lo que puede llevar a la fácil pérdida y deterioro de información, contradiciendo las normas GLP, según la Agencia Reguladora de Manejo de Plagas de Canadá (1998) y el Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007). Algunos puntos en que se debe enfatizar y mejorar para ajustarse a lo estipulado por la normativa incluyen:

- Los resultados de los análisis realizados deben anotarse en bitácoras para llevar registro de ello y evitar la pérdida de información, mejorando con ello la trazabilidad en caso de dudas.
- Quienes se encargan de introducir los datos deben firmar o poner las iniciales y mejorar con ello la trazabilidad.
- El rubro de observaciones debe ser lo suficientemente explícito para que sea accesible a cualquier tipo de lector.
- Los datos se deben escribir en lapicero y en caso de que haya un error por parte del operario, éste debe tacharlo con una raya fina que permita ver sin confusión el dato que estaba anotado y al lado anotar el nuevo dato que se considera correcto junto con la fecha y la firma de quien cometió el error.

- Los números deben ser claros para evitar confusiones cuando se pasan los datos a la base.
- La libreta debe disponer de espacio suficiente para anotar las observaciones que se consideren de interés y que no sólo sean para recopilar valores numéricos.
- El orden en que se colocan los datos debe de ser siempre el mismo para facilitar la búsqueda de información.
- Para el rubro de punto de muestro en el formato de las hojas utilizadas para anotaciones, no es válido poner sólo el número, ya que los registros deben ser entendibles para todos y podría prestarse para confusiones.
- Las libretas se deben archivar en un lugar seguro y deberá tenerse una forma ágil de localización.

A continuación se presenta el formato para libretas de laboratorio sugerido por Sabater y Vilumara (1988):

#### ENCABEZAMIENTO DE LA PÁGINA

TEMA.....LIBRETA NUM:.....PAG. NUM.....

Continúa de la página... Fecha .../.../

#### PIE DE PÁGINA

ESCRITO POR..... FECHA.../.../... REVISADO POR..... FECHA: .../.../...

Páginas relacionadas con ésta: ..... Continúa en la página

La libreta debe contar con un índice, bajo el siguiente formato:

| FECHA | TEMA | PÁG. NUM |
|-------|------|----------|
|-------|------|----------|

Debido a que las libretas contienen información que puede ser del interés de otros miembros de la empresa, es importante que tengan un formato en su primera hoja en el que se indique quien tiene la custodia de la misma, a continuación se cita el formato sugerido por los autores mencionados con anterioridad.

LIBRETA NÚMERO..... ENTREGADO A: (NOMBRE Y APELLIDOS)

FECHA: .../.../... SE GUARDARÁ EN: (DEPENDENCIA Y CAJÓN)

ENTREGADA POR: (NOMBRE DEL RESPONSABLE)

ESTA LIBRETA NO SE HA UTILIZADO DESDE EL DÍA: .../.../...

RECIBIDA PARA ARCHIVO POR: (NOMBRE Y APELLIDOS)

FECHA: .../.../...

LOS ESTUDIOS CONTENIDOS EN ESTA LIBRETA SE CONTINÚAN EN EL NÚMERO .....

#### **5.4 Control y Garantía de Calidad de Aguas**

Se han confeccionado grupos de trabajo, dispuestos en el cronograma semanal de actividades, para tener un mejor control de las mismas.

El primer grupo de trabajo está conformado por los métodos de rutina que se realizan a diario, entre los que se pueden citar los análisis de pH, alcalinidad, turbidez, sólidos sedimentables (no se realiza debido a la falta de un vehículo que recolecte las muestras) y dióxido de carbono tanto de las muestras del río y canal como para las muestras de monitoreo de vertidos.

El segundo grupo hace referencia a los métodos de rutina que se desarrollan con una frecuencia de dos a tres veces por semana y se procesan inmediatamente utilizando técnicas manuales. En este grupo se ubican las determinaciones individuales de nitritos, nitratos, fosfatos, nitrógeno amoniacal, sólidos no filtrables y demanda química de oxígeno.

La metodología que se realiza con menor frecuencia, entre dos y tres veces por mes y su procesamiento es por medio de técnicas manuales, corresponde al tercer grupo. Los análisis de dureza total y cloro libre, entran en dicha categoría.

#### **5.4.1 Unidad de Garantía de Calidad**

La cantidad de personal con que cuenta el laboratorio, impide que cada trabajador desarrolle funciones específicas y promueve con ello que éstos sean multidisciplinarios. Las labores están delimitadas en el registro conocido como *Job Descriptions* (descripción del cargo laboral desempeñado por cada trabajador respectivo), sin embargo el nivel de exigencia es tal, que en muchos casos deben salirse del esquema preestablecido, para realizar tareas que no les han sido asignadas, esto siempre y cuando esté dentro de sus capacidades.

En caso de que la cantidad de análisis a desarrollar sea excesiva, el jefe del laboratorio responde a la necesidad, ejecutando las tareas que se requieran para aminorar la carga.

La ejecución de las diferentes determinaciones, implica a su vez el análisis previo de posibles interferencias, en función de las cuales deberán seguirse otros procedimientos que están especificados por la metodología del fabricante respectivo, para eliminar la presencia de las mismas al realizar las evaluaciones. Tal es el caso de la determinación de nitrógeno amoniacal, las muestras deben ser sometidas previamente a un análisis de cloro y en caso de que éste de positivo, debe de aplicarse tiosulfato de sodio en las cantidades indicadas por el fabricante respectivo, para eliminar la presencia de este elemento.

Ante dicha situación, es indispensable la participación de funcionarios como los jefes de producción, quienes podrían eventualmente conformar la Unidad de

Garantía de Calidad y así cumplir no solamente con el cometido anterior, sino promover el constante cuestionamiento del análisis de los parámetros evaluados, puntos de muestreo, entre otros, con el fin de inducir la mejora continua.

Si bien no se cuenta con esta figura, en el laboratorio cuyo personal está organizado conforme al esquema del Anexo 20, se abarcan las 3 principales funciones de la unidad, sin embargo es importante reforzar ciertos puntos en cada una de éstas.

- a) Prevención: es indispensable desarrollar un análisis de calidad a los reactivos que deben de utilizarse para la realización de las evaluaciones, de lo contrario no se le da continuidad al control de calidad, a pesar de que se evalúa la calidad de las muestras al recibirlas.
- b) Evaluación: se debe enfatizar en la revisión de gráficas y datos obtenidos en términos de precisión y exactitud, ya que debido al poco personal del que se dispone, las inspecciones son esporádicas.
- c) Corrección: los datos generados pasan por dos revisiones (ambas se realizan una vez concluidos los análisis), una hecha por el asistente a cargo del laboratorio y la otra hecha por el director del estudio, en caso de que se detecte algún de error se procede a tomar nuevamente la muestra y a realizar la calibración respectiva en caso de que sea posible, ya que algunas determinaciones requieren el uso de estándares de calibración de los que no dispone el laboratorio.

Actualmente el LABCCA no cuenta con dicha Unidad ni con el Control de Garantía de Calidad. No se realizan auditorias por parte de ninguna entidad; quien está a cargo de velar por la calidad de los análisis que ahí se realizan es el encargado del Departamento de Investigación y Desarrollo. Esto lleva a suponer que hay múltiples funciones ejecutadas por una sola persona, limitando con ello la

eficiencia con que se realiza el control de calidad dentro del laboratorio en términos de disponibilidad de tiempo y diversidad de criterios. Por otra parte, la veracidad de los datos generados durante las determinaciones, está en función de del personal implicado en la realización de las mismas. Siendo los funcionarios de campo quienes toman las muestras y no tienen la competencia técnica para desempeñar dicha labor, cabe resaltar la importancia que tiene la capacitación de los mismos o la reincorporación del personal del laboratorio para abarcar esta tarea, proveyéndoles el medio de transporte que se requiere.

El seguimiento de los pasos indicados por Sabater y Vilumara (1988), es indispensable para desarrollar las inspecciones. Es importante que se implementen las siguientes:

- Recolección de muestras.
- Manejo de muestras.
- Análisis de muestras.
- Control de registros.

Como lo indicaron los autores, es indispensable monitorear la calidad de la información generada, de ahí la importancia de implementar inspecciones que mitiguen la entrada de errores sistemáticos. Entre los más frecuentes destacan:

1. Mezclado inadecuado.
2. Limpieza inapropiada de cristalería, debido a que no siguen las especificaciones del fabricante.
3. Contaminación de la cristalería almacenada.

4. Uso de equipo poco exacto y preciso para realizar análisis que requieren gran precisión y exactitud, como es el caso del horno utilizado para el análisis de sólidos no filtrables.
5. Soluciones buffer utilizadas por períodos superiores a los indicados por el fabricante.
6. No se evalúa la calidad de los reactivos que se reciben.
7. Pérdida de muestra al traspasarla de un recipiente a otro (de un erlenmeyer a un vial).
8. Falta de patrones de calidad para realizar las respectivas calibraciones.
9. Preparación de blancos con materiales diferentes a los indicados por el fabricante.
10. Equipo no sometido a verificaciones periódicas.
11. Muestreo deficiente debido a la falta de planes de muestreo y poca disponibilidad de recursos económicos.
12. Interferencias con las sustancias a analizar

## **5.5 Seguridad en el laboratorio**

La gerencia del laboratorio ha abarcado gran cantidad de los puntos que se citan para este apartado e inclusive, se ha preocupado por brindarle la mayor protección posible a cada uno de sus funcionarios, para que los mismos desempeñen con el menor riesgo posible las diversas determinaciones. Para concretar lo estipulado se deben reforzar los siguientes puntos.

### **5.5.1 Infraestructura**

En general la infraestructura del laboratorio cumple con lo establecido por las normas GLP, sin embargo puede mejorar al ajustarse a lo indicado por el Centro Politécnico Superior y Universidad de Zaragoza (sra) y a su vez reducir los riesgos

de contaminación, indicados por el Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007).

- Todas las puertas que no sean de vaivén deben abrir hacia el exterior, lo que no cumple la puerta de entrada/salida lateral.
- No existe una zona previa a la entrada del laboratorio por la puerta principal, en la que los funcionarios cambien su vestimenta y coloquen sus artículos personales, para minimizar con ello los focos de entrada de agentes contaminantes, cumpliendo así con las normas de bioseguridad.
- Falta la ducha de cuerpo entero.

Por otra parte y como se discutió con anterioridad, la disposición espacial del equipo, reactivos, materiales, entre otros, e incluso del personal podría repercutir en la movilización eficiente de éste y a su vez en la rápida ejecución de acciones correctivas en caso de una eventual emergencia.

Como indicaron Sabater y Vilumara (1988), para cumplir con la normativa, el volumen de trabajo mínimo con que debe contar cada trabajador es de 2 m<sup>3</sup>, punto que ya está cubierto, debido a que el volumen del que dispone cada funcionario dentro de las instalaciones es de 14,6 m<sup>3</sup> (Anexo 21), sin embargo por las razones mencionadas en el apartado del Laboratorio, es importante considerar la disposición espacial de reactivos, equipo, y tiempos y movimientos del personal.

### **5.5.2 Botiquín de primeros auxilios**

El laboratorio cuenta con un botiquín de primeros auxilios, sin embargo no dispone de todo el material que debería de tener acorde a lo establecido en las GLP. Entre los componentes faltantes se citan:

- Agua oxigenada.
- Tintura de yodo.
- Gasa estéril.
- Guantes esterilizados: hay para hacer análisis, pero no dentro del botiquín.
- Hervidor.
- Spray para proteger de quemaduras.
- Vendas.
- Esparadrapo.
- Antiespasmódicos.
- Analgésicos.
- Tónicos cardíacos de emergencia.
- Torniquete.
- Bolsas de goma para agua o hielo.
- Jeringa: no dentro del botiquín.
- Colirio antiséptico sedante.
- Pomada para golpes.
- Gasas esterilizadas.
- Balón de oxígeno con mascarilla.

Este según indica el Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra), debe ser revisado semanalmente para reponer los elementos faltantes o que han caducado.

### ***5.5.3 Trabajos con riesgos especiales***

Todos los reactivos utilizados al desarrollar los diversos análisis tienen indicaciones de su uso y manipulación. No obstante, de los que se manejan, el reactivo Nessler es el más peligroso, debido a su alto poder corrosivo. Por otro

lado, el hidróxido de sodio y el ácido sulfúrico, también requieren que su manipulación sea cuidadosa. De ahí la importancia en su identificación apropiada, traducción de indicaciones y disponer de las hojas de seguridad (de las cuales gran parte están en un fólder accesible a los funcionarios), tal como lo indican Sabater y Vilumara (1988) y el Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra).

#### **5.5.4 Protección personal**

El laboratorio cuenta con materiales que les permiten a los funcionarios protegerse contra los peligros potenciales que existen dentro de él (mascarillas, guantes, entre otros), sin embargo es indispensable:

1. Uso de gabachas manga larga.
2. Uso de pantalones largos.

Tanto con el uso de gabachas manga corta como con el uso de pantalones cortos, los funcionarios corren graves riesgos, que pueden ser prevenidos cambiando la vestimenta.

#### **5.5.5 Elementos mínimos de seguridad que debe tener el laboratorio**

De los doce elementos de seguridad que indica la normativa GLP, se cumple en cierta medida con:

1. Cantidad suficiente de extintores y apropiadamente señalizados, que son revisados por un profesional competente en el área de seguridad ocupacional tres veces al año.
2. Los enchufes no generan chispas al desconectarse.
3. Botiquín de primeros auxilios, pero está incompleto.

4. El plan de emergencia no se encuentra en el laboratorio, a pesar de que sí se dispone de él.

Los restantes ocho puntos no se cumplen del todo.

#### ***5.5.6 Normativas especiales que deben estar escritas***

No se dispone de normativas especiales por escrito que estén orientadas al manejo y cuidados dentro del laboratorio. Los operarios se les dan indicaciones de los posibles peligros y de la manera de proceder en cada caso, pero no hay un documento en el que se haga constar que tienen conocimiento de dicho tipo de información. Elizondo (2007) es enfática al mencionar que las indicaciones deberían estar por escrito, no sólo para aclarar dudas sino porque favorecen la homogeneización de criterios y por ende la reducción de errores entre operarios.

El LABCCA no utiliza compuestos orgánicos tóxicos, sin embargo, como se mencionó anteriormente, el laboratorio es compartido con el Departamento de Salud Animal, de ahí que sea importante realizar el estudio respectivo para el mismo.

#### ***5.5.7 Eliminación de residuos***

El sistema que se utiliza a lo interno se caracteriza por desechar los residuos en dos grandes grupos. El primer grupo se elimina directamente en la pila y el segundo grupo se almacena en un recipiente plástico, para posteriormente ser transferido a un garrafón plástico, este último es desechado por el gestor ambiental, quien actúa como un colaborador en la eliminación de los residuos.

El primer grupo conforma los desechos líquidos generados de los análisis de:

- pH.
- Turbidez.
- Alcalinidad.
- Dióxido de carbono.
- Sólidos no filtrables.
- Temperatura.
- Oxígeno.
- Microbiología de aguas (agua peptonada y muestras de agua con tiosulfato de sodio).

El segundo grupo está conformado por los desechos provenientes de los siguientes análisis:

- Nitritos.
- Nitratos.
- Nitrógeno amoniacal (amonio).
- Fosfatos.
- Dureza total.
- Cloro libre.

Los viales con reactivo de digestión utilizado para el análisis de DQO son almacenados y el gestor ambiental se encarga de ellos. Los desechos sólidos que incluyen filtros, pipetas desechables, envolturas de plástico y aluminio, viales plásticos, papel toalla, entre otros, se tiran al basurero, con el resto de basura sólida ordinaria no correspondiente a los análisis. Por otro lado, tal como lo indican Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra) y el Grupo de Diagnóstico Veterinario de Colombia (2007), los restos de vidrio, son desechados en recipientes plásticos con tapa, destinados exclusivamente para esto.

Es necesario que un profesional en la materia determine si el sistema con el que trabaja el laboratorio (que consiste en colocar los desechos de los diversos análisis en un solo recipiente) es adecuado o debería de hacerse de manera diferente.

#### **5.5.8 Extinción de incendios**

El laboratorio fue sometido a un análisis previo, como lo indica la Guía de Seguridad y Buenas prácticas en el Laboratorio del Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra), por parte de un profesional competente en el área de seguridad ocupacional, quien se encargó de determinar el tipo de extintor necesario y ubicarlo apropiadamente. Sin embargo no existe un sistema de detección de humos ni mantas apaga fuegos distribuidas en el edificio, como lo establecen las buenas prácticas.

#### **5.5.9 Plan de emergencia**

El laboratorio cuenta con un plan de emergencia en el que se indican las rutas de salida en caso de una eventual emergencia; sin embargo, de los planes de emergencia que deben estar contemplados dentro de las normas de seguridad, el único con que se cuenta es el de vías de escape y refugios.

Para cada plan de emergencia, debe implementarse la charla de inducción respectiva y garantizar con ello el pleno entendimiento de los planes respectivos.

### **5.5.10 Hábitos de trabajo y personales en operaciones rutinarias que deben exigirse**

Algunos apartados de este conjunto de normas necesitan ser reforzados, entre los que destacan:

1. Rotular adecuadamente los reactivos peligrosos, por ejemplo el reactivo de Nessler).
2. Etiquetar botellas indicando su contenido, por ejemplo el alcohol de 95%.
3. Seguir los SOP-s.
4. Sujetar con cadenas y contra la pared los recipientes con gases comprimidos (cilindro de gas).
5. Colocar los objetos personales en el casillero.
6. Prohibir que cualquier funcionario desempeñe sus funciones fuera del ámbito auditivo y/o visual de sus compañeros.
7. Realizar la limpieza de manos después de utilizar guantes.
8. Establecer que la vestimenta y calzado, portados por los funcionarios, es de uso exclusivo para el laboratorio.

El cumplimiento de dichos puntos es indispensable para cumplir a plenitud con lo indicado por el Centro Politécnico Superior y la Universidad de Zaragoza (sra), la cual está sujeta a la normativa internacional.

## VI Conclusiones

1. La ubicación espacial de cada uno de los puntos de muestreo fue posible gracias al conocimiento del flujo que siguen las aguas, lo que a su vez permite asociar características propias de cada una de las muestras con la información que se obtiene de las determinaciones.
2. La falta de traducción de ciertos documentos utilizados para desarrollar las determinaciones, limita el entendimiento pleno por parte de los funcionarios, de los cuidados y manejo de materiales y/o equipo utilizado,
3. Existe subjetividad de criterios debido a la falta de estandarización en la secuencia de pasos que conforman los procedimientos internos.
4. Los procedimientos utilizados para desarrollar las determinaciones, no se apegan estrictamente a lo establecido por los fabricantes respectivos en los temas de recolección, almacenamiento, análisis de interferencias, entre otros. Esto puede afectar directamente la calidad de los resultados obtenidos y a su vez las decisiones que generen los jefes de producción.
5. Las inspecciones tanto a nivel de campo como de laboratorio no son ni programadas ni registradas.
6. En el tema de seguridad y apegándose estrictamente a la normativa, se están incumpliendo los siguientes puntos:
  - 6.1 Plan de emergencia.
  - 6.2 Botiquín de primeros auxilios.
  - 6.3 Hábitos Personales y de Trabajo.
  - 6.4 Normativas especiales para los temas de manejo de residuos y almacenamiento de sustancias.
  - 6.5 Infraestructura.

7. El manejo de datos debería ser reforzado para mejorar la trazabilidad de los mismos y facilitar con ello la implementación de medidas correctivas y eventualmente acercarse a una posible acreditación, situación que en el momento de realizarse este diagnóstico no estuvo contemplado; de ahí que no se confeccionaron las hojas de validación de muestreos y de la lista de control.

## VII Recomendaciones

1. Tanto los manuales como las hojas de seguridad que así lo ameriten, deben ser traducidos.
2. La información proveída por los manuales y las hojas de seguridad, ha de seguirse fielmente para preparar, manejar, almacenar y desechar los respectivos materiales y/o equipo requeridos para la realización de las determinaciones.
3. El análisis de interferencias debería realizarse para las determinaciones de nitrógeno amoniacal, nitrato, nitrito y fosfato, para apegarse fielmente a los lineamientos del fabricante y mejorar la precisión y exactitud de los datos que se obtengan.
4. Es necesaria la confección y el seguimiento de los SOP-s, para cada actividad que se realiza dentro del laboratorio, de ahí que sea necesaria la confección de los que no fueron realizados en el alcance del presente documento.
5. Se sugiere la conformación de un grupo que podría estar integrado por los jefes de producción, para que verifiquen la calidad de los datos que se obtienen y aproximarse con ello a una eventual implementación de la Unidad de Garantía de Calidad y al Programa de Garantía de Calidad.
6. Se deben programar inspecciones e inducciones para todo el personal implicado en el desarrollo de los análisis (no sólo los operarios del laboratorio, sino los encargados de cada área respectiva que realizan la recolección de muestras), lo que debe ser registrado y firmado por los funcionarios.
7. El tema de seguridad debería reforzarse para cumplir con los lineamientos en los puntos anteriormente expuestos.
8. Es importante separar los laboratorios de Control de Calidad de Aguas y de Salud Animal, como acción correctiva que minimice los efectos de la contaminación cruzada.

9. El manejo de información debe realizarse en libretas y archivos digitales con la respectiva identificación del responsable, siguiendo los lineamientos establecidos por las GLP

## BIBLIOGRAFÍA

AGENCIA DE PROTECCIÓN AMBIENTAL DE E.E.U.U. 2007. *Factores Ambientales Causantes del Asma*. Estados Unidos. Consultado el 31/01/08.

[http://www.epa.gov/asthma/molds\\_sp.html](http://www.epa.gov/asthma/molds_sp.html)

AGENCIA REGULADORA DEL MANEJO DE PLAGAS.1998. *Buenas Prácticas de Laboratorio*. Ottawa, Canadá. Consultado el 31/01/08.

<http://64.233.169.104/search?q=cache:yVdiFDlePh8J:pmra-arla.gc.ca/english/pdf/dir/dir9801-e.pdf+Good+Laboratory+Practices&hl=es&ct=clnk&cd=8&gl=cr>

BERTSCH F. 1998. *La Fertilidad de los Suelos y su Manejo*. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. 157 p.

BOYD C. 1996. *Manejo de suelo y de la Calidad de Agua en la Acuicultura de Piscinas*. Asociación Americana de Soya. Alabama, Estados Unidos. 62 p.

CANTOR F. 2007. *Manual de Producción de Tilapia*. Secretaría del Desarrollo Rural del Estado de Puebla. Puebla, México. Consultado el 22/01/08.

<http://209.85.173.104/search?q=cache:J2yg9Hg8NAIJ:www.sdr.gob.mx/beta1/contenidos/CadenasAgropecuarias/docs/553148.235.138.1303-08-2007MANUAL%2520TILAPIA.pdf+hemoglobina+metahemoglobina+tilapia&hl=es&ct=clnk&cd=2&gl=cr>

CENTRO POLITÉCNICO SUPERIOR Y UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA. Sra. *Guía de Seguridad y Buenas Prácticas en el Laboratorio*. España. Consultado el 31/01/08.

<http://209.85.165.104/search?q=cache:WdThJK9b810J:www.cps.unizar.es/calidad/docs/guia.pdf+Buenas+Pr%C3%A1cticas+de+laboratorio&hl=es&ct=clnk&cd=4&gl=cr>

DIVISIÓN DE INGENIERÍA MECÁNICA Y METALÚRGICA ÁREA METROLOGÍA. 1997. Santiago, Chile. Consultado 10/04/08.

<http://www.dictuc.cl/metrologia/verific.html>

COMPAÑÍA HACH. 2002. *Manual de procedimientos para el Espectrofotómetro DR/2400*. Estados Unidos. 1147 p.

Elizondo, Kathia, 2007. Universidad de Costa Rica. Comunicación Personal.

FLORES P. 2001. *Manual de Crianza de Tilapia*. Nicovita. Consultado el 22/01/08.

[http://209.85.207.104/search?q=cache:0tn1d33iOGMJ:www.nicovita.com.pe/pdf/esp/manuales/man\\_tilapia\\_01.pdf+Manual+de+Crianza+de+Tilapia&hl=es&ct=clnk&cd=1&gl=cr](http://209.85.207.104/search?q=cache:0tn1d33iOGMJ:www.nicovita.com.pe/pdf/esp/manuales/man_tilapia_01.pdf+Manual+de+Crianza+de+Tilapia&hl=es&ct=clnk&cd=1&gl=cr)

GRUPO DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO. 2007. *Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio para Registro ante el ICA*. Sugerencia de Protección y Regulación Pecuaria. Colombia. Consultado el 31/01/08.

<http://209.85.165.104/search?q=cache:emP8K-ImAbsJ:www.ica.gov.co/bpl/MANUALBPLJULIO30.pdf+Buenas+Practicas+de+Laboratorio&hl=es&ct=clnk&cd=11&gl=cr>

HANNA INSTRUMENTS. 2004. *Buenas Prácticas de Laboratorio en Mediciones de pH y Conductividad*. Santiago de Chile. Consultado el 31/01/08.

<http://www.hannachile.com/articulos/21/bpl-ph-ce-intro.htm>

HERNÁNDEZ P., MENDOZA C. 1999. *Incidencia de Plesiomonas shigelloides en tetrahíbridos de Tilapia (Oreochromis sp.)*. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. Consultado el 15/08/07.

[http://www.alanrevista.org/ediciones/1999-1/incidencia\\_de\\_plesiomonas\\_shigelloides\\_tetrahibridos\\_tilapia.asp](http://www.alanrevista.org/ediciones/1999-1/incidencia_de_plesiomonas_shigelloides_tetrahibridos_tilapia.asp)

HIDRITEC. 2002. *Parámetros de Caracterización del Agua*. Hidritec Tecnología y Gestión de Recursos Hidráulicos. Consultado el 22/01/08.

<http://www.hidritec.com/doc-parametros2.htm>

INSTITUTO NACIONAL DEL AGUA. 2005. *Agua Residual y Purificación del Aire*. Cartillas Educativas. Argentina. Consultado el 31/01/08.

[http://www.ina.gov.ar/cartillas\\_edu/cartilla\\_6.htm](http://www.ina.gov.ar/cartillas_edu/cartilla_6.htm)

KIOY D. 2001. *Buenas Prácticas de Laboratorio: manual de capacitación*. TDR. Consultado el 31/01/08.

<http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.who.int/tdr/publications/publications/glp-trainee.htm&sa=X&oi=translate&resnum=5&ct=result&prev=/search%3Fq%3DGood%2BLaboratory%2BPractices%26start%3D20%26hl%3Des%26sa%3DN>

LABORATORIOS DR. CALDERÓN. 1997. Consultado el 22/01/08.

[http://www.drcalderonlabs.com/Metodos/Indice\\_de\\_Metodos.htm](http://www.drcalderonlabs.com/Metodos/Indice_de_Metodos.htm)

MEDICAMENTOS Y LA AGENCIA REGULADORA DE PRODUCTOS SANITARIOS (MHRA). 2007. *Buenas Prácticas de Laboratorio*. Reino Unido. Consultado el 31/01/08.

[http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.mhra.gov.uk/home/idcplg%3FIdcService%3DSS\\_GET\\_PAGE%26nodeId%3D614&sa=X&oi=translate&resnum=5&ct=result&prev=/search%3Fq%3DGood%2BLaboratory%2BPractices%26start%3D10%26hl%3Des%26sa%3DN](http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.mhra.gov.uk/home/idcplg%3FIdcService%3DSS_GET_PAGE%26nodeId%3D614&sa=X&oi=translate&resnum=5&ct=result&prev=/search%3Fq%3DGood%2BLaboratory%2BPractices%26start%3D10%26hl%3Des%26sa%3DN)

MENA L.A. 1987. Práctica Dirigida presentada para optar al grado de Licenciado en Biología con énfasis en Ecología. *Cultivo de Camarón Marino, aprovechando las Salinas de la Estación Lluviosa: Lepanto de Puntarenas, Golfo de Nicoya, Costa Rica*. San José. Universidad de Costa Rica. 88 p.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2004. *Programa de Cumplimiento de las Buenas Prácticas de Laboratorio Productos Fitosanitarios*. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. España. Consultado el 31/01/08.

<http://209.85.165.104/search?q=cache:FF5KiCLkEXsJ:www.mapa.es/agricultura/pags/fitos/registro/fichas/pdf/BPLs.pdf+Buenas+Pr%C3%A1cticas+de+Laboratorio&hl=es&ct=clnk&cd=1&gl=cr>

MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO. 2001. *Programa de Cumplimiento de las Buenas Prácticas de Laboratorio*. Agencia Española del Medicamento. España. Consultado el 22/01/08.

<http://209.85.165.104/search?q=cache:EuchjQbVhPQJ:www.agemed.es/actividad/documentos/infInteres/docs/BPL1bis.pdf+Buenas+Practicas+de+Laboratorio&hl=es&ct=clnk&cd=3&gl=cr>

MORA M.1989. *Manual Teórico Práctico para el Cultivo de Camarones Peneidos*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Colorado de Abangares. 43 p.

NORMA OFICIAL MEXICANA. 1998. *Determinación de sólidos sedimentables en aguas residuales*. México. Consultado el 22/01/08.

<http://www.cepis.org.pe/eswww/fulltext/normas/aa-004.html>

OTÁROLA A. 2004. *El stress y su relación en las enfermedades de los peces*. Instituto Costarricense de Acuicultura. San José, Costa Rica. 4 p.

ROSALES E. 1996. *Memoria V Congreso Lechero Nacional*. Costa Rica.

RUIZ R. 1984. Práctica Dirigida para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciado. *Manejo de una Estación Piscícola de Ciclo Completo en la Zona Atlántica de Costa Rica*. Escuela de Zootecnia. Universidad de Costa Rica. 84 p.

SAAVEDRA M.A., MENDOZA Y., ARRÓLIGA I., SOZA D. 2001. *Manual Cultivo de Tilapia*. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 69 p.

SABATER J., VILUMARA A. 1988. *Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP)*. Madrid, España. Ediciones Díaz de Santos, S.A. 230 p.

SECRETARÍA DE PESCA. 1986. *Piscicultura de agua dulce manual recetario*. Unidad de Comunicación Social de la Secretaría de Pesca. México D.F. 455 p.

SECRETARÍA DE PESCA. 1994. *Piscicultura Rural*. Unidad de Comunicación Social de la Secretaría de Pesca. México D.F. 25 p.

STEVEN. 2008. *Buenas Prácticas de Laboratorio para la Investigación con Animales*. Case Western University. Cleveland, Estados Unidos. Consultado el 22/01/08.

[http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://ora.ra.cwru.edu/research/ORC/iacuc/Case\\_IACUC\\_GoodLaboratoryPractices.cfm&sa=X&oi=translate&resnum=7&ct=result&prev=/search%3Fq%3DGood%2BLaboratory%2BPractices%26hl%3Des](http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://ora.ra.cwru.edu/research/ORC/iacuc/Case_IACUC_GoodLaboratoryPractices.cfm&sa=X&oi=translate&resnum=7&ct=result&prev=/search%3Fq%3DGood%2BLaboratory%2BPractices%26hl%3Des)

VAQUERANO F. 2003. Práctica Dirigida para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciado. *Descripción de Experiencias en el Departamento de Pesca Interna de Aqua Corporación Internacional S.A.* Escuela de Zootecnia. Universidad de Costa Rica. 65 p.

VAQUERANO F. 2007. Aqua Corporación Internacional S.A. Comunicación Personal.

VARGAS R. 2007. Universidad de Costa Rica. Comunicación Personal

## ANEXOS

### Anexo 1: Buenas Prácticas de Laboratorio

#### Sección I

1. Objetivo
2. Definiciones
  - Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP).
  - Términos relativos a la organización del laboratorio.
  - Términos relativos al estudio.
  - Términos relativos a la sustancia a ensayar.

#### Sección II

1. Organización del personal de laboratorio.
  - Responsabilidades de la dirección de laboratorio.
  - Responsabilidades del director de estudio.
  - Responsabilidades del personal.
2. Programa de garantía de calidad:
  - Generalidades.
  - Responsabilidades del personal encargado de la Unidad de Garantía de Calidad.
3. Laboratorio.
  - Generalidades,
  - Instalaciones relacionadas con el sistema experimental.
  - Instalaciones para el manejo de las sustancias a ensayar y referencia.
  - Salas de archivo.
  - Evacuación de residuos.
4. Aparatos, materiales y reactivos.
  - Aparatos.
  - Materiales.
  - Reactivos.
5. Sistemas experimentales.
  - Físicos y químicos.
  - Biológicos.
6. Sustancias a ensayar y de referencia.
  - Recepción, manipulación, muestreo y almacenamiento.
  - Caracterización.
7. Procedimientos Normalizados de Trabajo (SOP-s).
  - Generalidades.
  - Aplicación.
8. Realización del estudio.

- Protocolo.
- Contenido del protocolo.
- Realización del estudio.
- 9. Realización del informe a partir de los resultados del estudio.
  - Generalidades.
  - Contenido del informe final.
- 10. Archivos: Almacenamiento y conservación de registros y materiales.
  - Almacenamiento y consulta.
  - Conservación.

Anexo 2: Lista de control

N° de protocolo:.....

Fecha:.....

Firma.....

Si      No      N/A

1. Título del estudio
2. Objeto del estudio
3. Nombre y código de las sustancias
4. Nombre y dirección de promotor y laboratorio
5. Fechas de comienzo y finalización
6. Fecha de aprobación del protocolo
7. Justificación elección del sistema experimental
8. Características del sistema experimental (especie, cepa, número, peso, sexo, edad).
9. Métodos de administración
10. Razón de elección de dichas vías
11. Dosis o concentraciones
12. Frecuencia de administración
13. Diseño experimental, métodos de control
14. Grado de absorción de la sustancia
15. Análisis, frecuencia, parámetros
16. Dieta, mezcla, materiales
17. Niveles aceptables de contaminantes en dieta
18. Lista de registros
19. Archivo
20. Métodos estadísticos utilizables
21. Cambios aprobados: Razón, fecha y firma.

## DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SEDIMENTABLES

**Método:** No aplica

**Alcance:**

- Muestras del canal.
- Muestras del río.
- Muestras del vertedero de la IV.
- Muestras del vertedero de la V.
- Muestras del drenaje de Santa Paula.
- Muestras del drenaje del humedal de Santa Paula.
- Muestras del drenaje de Terrapez.
- Muestras del drenaje del sedimentador de Llano Verde.
- Muestras del drenaje del humedal de Llano Verde.
- Muestras de CS-10.
- Muestras de CS-10.1.

**Objetivo:**

- Determinar la cantidad de sólidos que sedimentan en un volumen preestablecido, con el objeto de conocer la condición en la que se está entregando el agua al río y canal, esta última será posteriormente utilizada para el desempeño de otras actividades tal como riego de cultivos, de ahí la importancia en que dichos valores no sean muy elevados (por encima de 80 mL/L).

**Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

## **Equipo y Materiales**

- Cono Imhoff.
- Soporte del cono Imhoff.

## **Procedimiento**

1. Llene un cono Imhoff limpio (Refiérase al SOP de limpieza del cono Imhoff) con 1 litro de muestra previamente agitada para homogenizar las partículas en suspensión
2. Espere 45 minutos para que la muestra indisturbada sedimente.
3. Gire el cono en ambos sentidos para despegar los sedimentos de las paredes del cono
4. Espere 15 minutos para que la muestra indisturbada sedimente.
5. Lea en la escala graduada del cono Imhoff la capa de sólidos sedimentables en mL/L. Registre el resultado.
6. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado por el SOP de disposición de desechos.

## **Terminología:**

- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Homogeneizar: acción de mezclar una o varias sustancias de modo que su composición y estructura uniformes.
- Suspensión: compuesto que resulta de disolver cualquier coloide en un fluido.
- Coloide: sustancia aparentemente homogénea, en cuyo seno hay otra finamente dividida en un medio continuo.
- Sedimentable: acción que ocurre cuando las partículas suspendidas en un líquido forman un sedimento.
- Indisturbada: no agitar la muestra.

Anexo 4: Determinación de turbidez.

## **DETERMINACIÓN DE TURBIDEZ**

**Rango:** (0-4400) FAU.

**Alcance:**

- Muestras de estanques indicadores.
- Muestras de estanques especiales.

- Muestras de estanques heterotróficos.
- Muestras del río.
- Muestras del canal.
- Muestras de la entrada y salida de IV etapa.
- Muestras de la entrada y salida de la V etapa.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Llano Verde.
- Muestras especiales.

### Objetivo

- Determinar la turbidez presente en las muestras respectivas (refiérase al mapa de puntos de muestreo), en unidades FAU y monitorear con ello que los niveles de este parámetro no sean excesivos (por encima de 100 FAU se observan valores que generan problemas en la salud de los peces), en caso contrario tomar las medidas respectivas para mantener la calidad del agua.

### Equipo de Protección

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

### Equipo y Materiales

- Espectrofotómetro Hach modelo DR/2400.
- Viales de 25 mL.
- Pizeta.
- Agua destilada.
- Papel toalla.

### Procedimiento

1. Encienda el equipo y espere a que se establezca la calibración automática de la longitud de onda.
2. En el menú **Programas Favoritos**, seleccione el programa **950 Turbidez**. Seleccione **Comenzar**. Seleccione un usuario.
3. Enjuague los viales que va a utilizar acorde a lo especificado en el SOP de Enjuague de viales.
4. Prepare el blanco agregando con una pizeta 25 mL de agua destilada a un vial de 25 mL.

5. Pásele al vial papel toalla humedecido con agua destilada y posteriormente papel toalla seco, de modo que no queden huellas de grasa.
6. Ponga el blanco en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
7. Seleccione **Cero**. La pantalla mostrará: **0 FAU**.
8. Agregue 25 mL de muestra a un vial de la misma capacidad (directo de la botella en la que tomó la muestra, antes de pasar la muestra al vial, agite la botella, invirtiéndola 3 veces), este será el objeto de ensayo.
9. Limpie el vial con papel toalla humedecido con agua destilada y luego pásele papel toalla seco para secar el vial, colóquelo en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
10. Seleccione **Leer**. La pantalla mostrará el resultado en: **FAU**. Registre el resultado en la hoja de registros ubicada al lado del espectrofotómetro.
11. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

*Nota:* En caso de no poder analizar las muestras de inmediato, refiérase al SOP de Almacenamiento de Muestras respectivo.

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Turbidez: medición de la transparencia de la muestra tomada.
- Estanques Indicadores: estanques a los que se les realizan análisis periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.
- Estanques especiales: estanques que no se encuentran dentro de la categoría de estanques indicadores, no se les realizan análisis periódicamente, si no cuando los valores obtenidos de los mismos están fuera del valor esperado.
- Estanques heterotróficos: estanques a los que se les añade el cultivo de bacterias que proveen condiciones más propicias para el desarrollo de los animales y se analizan periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.

Anexo 5: Cuadro de referencia de parámetros físico-químicos

| Parámetro                                    | Referencia            |                |
|--|-----------------------|----------------|
|  | Dr. Sula Nitzen, 2005 | Castillo, 1994 |
| pH   | 9-6                   | 6,5-8,5        |
| Arsénico (Ar µg/L)                           |                       | <50            |
| Alcalinidad (CaCO <sub>3</sub> mg/L)         | >20                   | 100-200        |
| Aluminio (Al mg/L)                           | <0,075                |                |
| Amoníaco (NH <sub>3</sub> mg/L)              | *<0,02                | <2,0           |
| Cadmio (Cd mg/L)                             | <0,0005 o <0,005      |                |
| Calcio (Ca mg/L)                             | >5,0                  |                |
| Dióxido de Carbono (CO <sub>2</sub> mg/L)    | <5-10                 | <20,0          |
| Cloruro (Cl <sup>-</sup> mg/L)               | >4,0                  | **             |
| Cloro (Cl mg/L)                              | <0,003                | <0,01          |
| Cobre (Cu mg/L)                              | <0,0006 o <0,03       |                |
| Sulfuro de Hidrógeno (H <sub>2</sub> S mg/L) | <0,003                | <0,02          |
| Hierro (Fe mg/L)                             | <0,1                  | <1,0           |
| Plomo (Pb mg/L)                              | <0,02                 |                |
| Mercurio (Hg mg/L)                           | <0,0002               | <0,1           |
| Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/L)  | <1,0                  | <10,0          |
| Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L)  | <0,1                  |                |
| Oxígeno (O <sub>2</sub> mg/L)                | >3,0                  | >3             |
| Selenio (Se mg/L)                            | <0,01                 |                |
| Sólidos Totales Disueltos (STD mg/L)         | <200                  |                |
| Sólidos Sedimentables (SST mg/L)             | <80                   |                |
| Turbidez (cm de visibilidad)                 | >30                   |                |
| Zinc (Zn mg/L)                               | <0,005                |                |
| Berilio (Be µg/L)                            |                       | <1,1           |
| Dureza (CaCO <sub>3</sub> mg/L)              |                       | 20-350         |
| Manganeso (Mn mg/L)                          |                       | <100           |
| Fósforo (P µg/L)                             |                       | <0,1           |

\* Nivel de amoníaco

\*\* Proporción mínima cloruro:nitrito 3:1

## Anexo 6: Recolección general de muestras

### RECOLECCIÓN GENERAL DE MUESTRAS

**Rango:** (450-600) mL.

**Método:** No aplica

**Alcance:**

- Muestras para realizar análisis de nitrógeno amoniacal (si hay cloro presente refiérase al SOP de tratamiento de muestras con presencia de cloro para realizar la determinación de amonio).
- Muestras para realizar análisis de CO<sub>2</sub>.
- Muestras para realizar análisis de turbidez.
- Muestras para realizar análisis de nitritos.
- Muestras para realizar análisis de nitratos.
- Muestras para realizar análisis de sólidos sedimentables.
- Muestras para realizar análisis de sólidos no filtrables.
- Muestras para realizar análisis de dureza total.
- Muestras para realizar análisis de alcalinidad.
- Muestras para realizar análisis de pH.
- Muestras para realizar análisis de DQO\*.

*Nota:* Para los análisis de DQO siga el mismo procedimiento que se describe a continuación, sólo que en lugar de utilizar botellas de polietileno (plástico), utilice botellas de vidrio.

*Limitación:* Las muestras para realizar las determinaciones de fosfatos y cloro Libre, deben de tomarse en otras botellas que no sean las que se utilizan para realizar la recolección general de muestras, deben ser tomadas como muestras aparte y de acuerdo a los SOP-s de recolección de muestras de fosfato y recolección de muestras de cloro. En el caso de la determinación de amonio, deberá de tomarse aparte sólo si se quiere almacenar, además al realizar los diversos análisis, se debe desarrollar la determinación de amonio y de último por si esta contiene cloro y haya de realizarle el tratamiento especificado por el SOP respectivo.

## **Objetivo:**

- Recolectar las muestras como lo indica el documento de puntos de muestreo. Es importante prevenir la presencia de partículas que interfieren, tales como componentes ácidos para realizar los análisis con la mayor precisión y exactitud posibles.

## **Equipo de Protección**

- Pantalones largos.
- Camisa manga larga o bloqueador solar (protección contra el sol).
- Gorra o sombrero (protección contra el sol).
- Capa y pantalón de hule (período de lluvias).
- Botas de hule.

## **Equipo**

- Botellas de plástico de 450 mL a 600 mL
- \*Botellas de vidrio de 355 mL (sólo para DQO).
- Muestreador.
- Bolso de recolección de muestras.
- Tabla acrílica.
- Lápiz.
- Oxigenómetro.

## **Proceso**

1. Escoja el volumen de la(s) botella(s) que utilizará para muestrear.
2. Enjuáguela(s) con el agua de la pila del laboratorio, añadiéndole agua hasta una cuarta parte de la botella. Invierta la botella y su contenido 3 veces, posteriormente vacíela.
3. Repita el procedimiento anterior 2 veces más.
4. Rotule la(s) botella(s) colocándole(s) cinta adhesiva y escribiendo sobre la misma el punto de muestreo.
5. Una vez seleccionado el punto de muestreo, proceda a llenar la botella con agua (con ayuda del muestreador que debe ser colocado a un ángulo de 45°) de este punto a una cuarta parte de su volumen e inviértala 3 veces, vacíe su contenido.
6. Repita el procedimiento anterior 3 veces.
7. Llene la botella a capacidad, tratando de dejar el mínimo de burbujas.
8. Cierre bien la tapa para evitar la exposición al aire de la muestra y a la vez trate de impedir la agitación excesiva.

9. Registre la hora de muestreo sobre la cinta adhesiva o en una tabla acrílica que debe llevar la identificación de la muestra.
10. Coloque la muestra en el bolso de recolección de muestras.
11. Realice la medición de oxígeno y temperatura con el oxigenómetro siguiendo lo especificado en el SOP de determinación de oxígeno por medio del oxigenómetro.
12. Llévelo al laboratorio donde la muestra será analizada de acuerdo a lo establecido en el SOP de determinación respectiva (nitritos, nitratos, amonio, entre otros).

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Punto de muestreo: lugar seleccionado para realizar la toma de muestras.
- Muestreador: dispositivo de madera y con dos ligas, que se utiliza para colocar la botella en la que se añadirá posteriormente la muestra.
- Interferentes: partículas que reaccionan con los componentes de la muestra, afectando con ello la composición de la misma y por ende perturbar la veracidad de los datos obtenidos.

Anexo 7: Determinación de amonio.

### **DETERMINACIÓN DE AMONIO**

**Rango:** (0,02-2,50) mg/L NH<sub>3</sub>-N.

**Método:** Método Nessler.

### **Alcance**

- Muestras de estanques indicadores.
- Muestras de estanques especiales.
- Muestras de estanques heterotróficos.
- Muestras del río.
- Muestras del canal.
- Muestras de la entrada y salida de IV etapa.
- Muestras de la entrada y salida de la V etapa.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Llano Verde.

## Objetivos

- Determinar la concentración de amonio como N-NH<sub>3</sub> presente en las muestras respectivas (refiérase al mapa de puntos de muestreo) y monitorear con ello que los niveles de dicho compuesto no sean excesivos (que sean inferiores a 2,0 mg/L de NH<sub>3</sub>), en caso contrario tomar las medidas respectivas para mantener la calidad del agua.

## Equipo de Protección

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

## Equipo y Materiales

- Espectrofotómetro Hach modelo DR/2400.
- Viales de 10 mL
- Erlenmeyer.
- Pizeta.
- Estabilizador mineral.
- Alcohol polivinílico.
- Reactivo Nessler.
- Agua destilada.

## Procedimiento

1. Encienda el equipo y espere a que se establezca la calibración automática de la longitud de onda.
2. Seleccione en el menú **Programas Favoritos**. Seleccione el programa **380 N Amoniac. Ness. 2,5 mg/L**. Seleccione **Comenzar**. Seleccione un usuario.
3. Enjuague los viales que utilizará acorde a lo especificado en el SOP de Enjuague de Viales.
4. Para preparar la muestra, llene una probeta con 25 mL de muestra directa de la botella en la que se tomó la muestra, invierta la botella 3 veces antes de transferir el volumen de 25 mL con borde esmerillado.
5. Para preparar el blanco, llene una probeta de 25 mL con borde esmerillado con 25 mL de agua desionizada utilizando una pizeta.
6. Agregue 3 gotas de estabilizador mineral directo del recipiente en el que viene a cada probeta. Círrrela e inviértala 3 veces para mezclarla.

7. Agregue 3 gotas de alcohol polivinílico, que corresponde al agente dispersante directo del recipiente en el que viene a cada probeta. Ciérrela e inviértala 3 veces para mezclarla.
8. Agregue 1 mL de reactivo Nessler (refiérase al SOP de manejo del reactivo de Nessler) a cada probeta. Ciérrela e inviértala 3 veces para mezclarla.
9. Deje que la muestra repose para que inicie el período de reacción de 1 minuto.
10. Culminado el minuto de reacción, coloque cada disolución en un vial redondo de 10 mL.
11. Pásele al vial papel toalla humedecido con agua destilada y luego papel toalla seco para quitar la humedad de éste, luego ponga el blanco en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
12. Seleccione el **Cero**. La pantalla mostrará: **0,00 mg/L NH<sub>3</sub>-N**.
13. Limpie otro vial con papel toalla humedecido y séquelo posteriormente, agregue 10 mL de muestra (en caso de no disponer de más de un vial, enjuáguelo por triplicado, para lo cual refiérase al SOP de enjuague de viales).
14. Pásele por fuera al vial, papel toalla humedecido y luego papel toalla seco para quitar la humedad de éste, luego póngalo en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
15. Seleccione **Leer**. La pantalla mostrará el resultado en **mg/L NH<sub>3</sub>-N**. En caso de que la lectura esté fuera del rango, (refiérase al SOP de diluciones).
16. Realice los cálculos respectivos.
17. Registre el resultado en la hoja de registros ubicada al lado del espectrofotómetro.
18. Corrija el resultado del análisis por adición de volúmenes (refiérase a la Sección 3.1.3 de corrección por adición de volúmenes del manual del Espectrofotómetro DR/2400).
19. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

*Nota:* Si cuenta con datos de pH y temperatura, puede consultar la tabla de porcentaje de amoníaco en solución acuosa (ver procedimiento de pH).

*Nota:* En caso de no poder analizar las muestras de inmediato, refiérase al SOP de almacenamiento de muestras respectivo.

### **Cálculos:**

Para convertir a NH<sub>3</sub>

$$NH_3 = \text{Resultado de la lectura} \times 1,216 \times 1,216$$

Para convertir a  $\text{NH}_4^+$ :

$$\text{NH}_4^+ = \text{Resultado de la lectura} \times 1,288$$

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Mezclar: acción de incorporar varias sustancias que no tienen acción química entre sí, para lo cual se debe agitar hasta que se disuelva todo el reactivo adicionado y no quede nada de reactivo a la vista.
- Disolución: mezcla que resulta de disolver cualquier sustancia en un líquido.
- Dilución: es el proceso mediante el cual se disminuye la concentración de una disolución al añadir disolvente.
- Estanques indicadores: estanques a los que se les realizan análisis periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.
- Estanques especiales: estanques que no se encuentran dentro de la categoría de estanques indicadores, no se les realizan análisis periódicamente, si no cuando los valores obtenidos de los mismos están fuera del valor esperado.
- Estanques heterotróficos: estanques a los que se les adiciona el cultivo de bacterias que proveen condiciones más propicias para el desarrollo de los animales y se analizan periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.

Anexo 8: Determinación de nitritos

### **DETERMINACIÓN DE NITRITOS**

**Rango:** (0,002-0,300) mg/L  $\text{NO}_2\text{-N}$ .

**Método:** Diazotización.

**Alcance:**

- Muestras de estanques indicadores.
- Muestras de estanques especiales.
- Muestras de estanques heterotróficos.
- Muestras del río.
- Muestras del canal.

- Muestras de la entrada y salida de IV etapa.
- Muestras de la entrada y salida de la V etapa.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras de la entrada y salida del Humedal de Llano Verde.
- Muestras especiales.

### **Objetivo**

- Determinar la concentración de nitrito como NO<sub>2</sub>-N presente en las muestras respectivas (refiérase al mapa de puntos de muestreo) y monitorear con ello que los niveles de dicho compuesto no sean excesivos (superiores a 0,1mg/L), en caso contrario tomar las medidas respectivas para mantener la calidad del agua.

### **Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

### **Equipo y Materiales**

- Espectrofotómetro Hach modelo DR/2400.
- Viales de 10 mL
- Erlenmeyer.
- Pipeta Tensette modelo 19700-10.
- Puntas para micropipeta.
- Pizeta.
- Reactivo Nitri Ver® 3.
- Agua destilada.

### **Procedimiento**

1. Enjuague por triplicado y con agua destilada, el o los erlenmeyers que utilizará.
2. Con la pipeta Tensette agregue 10 mL de muestra a un erlenmeyer.
3. Agite, invirtiendo 3 veces la muestra en su recipiente original antes de transferirla a su recipiente respectivo (refiérase al SOP de manejo de la pipeta Tensette modelo 19700-10).

4. Agregue el contenido de 1 sobre de reactivo Nitri Ver® 3 (esta será la muestra preparada, refiérase al SOP de uso de sobres con reactivo).
5. Mézclela. Se mostrará un color rosado si hay nitrito presente.
6. Deje reposar la muestra para que inicie el período de reacción de 20 minutos.
7. Encienda el equipo y espere a que se establezca la calibración automática de la longitud de onda.
8. Seleccione en el menú **Programas Favoritos**. Seleccione el **programa 371 N, Nitrito EB 0,3 mg/L**. Seleccione **Comenzar**. Seleccione un usuario.
9. Enjuague los viales que utilizará acorde a lo especificado en el SOP de enjuague de viales.
10. Una vez concluidos los 20 minutos de reacción, transfiera los 10 mL de muestra que están en el erlenmeyer a un vial de 10 mL limpio (este será el blanco, refiérase al SOP de limpieza de cristalería).
11. Limpie el vial con papel toalla humedecido para posteriormente pasarle papel toalla seco. Coloque el vial en el espectrofotómetro ubicando el vial con la marca blanca hacia el frente y cierre la tapa.
12. Seleccione **Cero**. La pantalla mostrará: **0,000 mg/L NO<sub>2</sub>-N**.
13. En otro vial limpio agregue 10 mL de muestra preparada (en caso de no disponer de más de un vial, enjuáguelo por triplicado para lo cual refiérase al SOP de enjuague de viales).
14. Pásele al vial papel toalla humedecido con agua destilada y luego papel toalla seco para quitar la humedad de éste.
15. Póngalo en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
16. Seleccione **Leer**. La pantalla mostrará el resultado en: **mg/L NO<sub>2</sub>-N** (en caso de que la lectura esté fuera del rango, refiérase al SOP de diluciones).
17. Registre el resultado en la hoja de registros ubicada al lado del espectrofotómetro.
18. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

*Nota:* En caso de no poder analizar las muestras de inmediato, refiérase al SOP de Almacenamiento de Muestras respectivo.

*Nota:* EB se refiere a estándar bajo y EA se refiere a estándar alto.

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.

- Mezclar: acción de incorporar varias sustancias que no tienen acción química entre sí, para lo cual se debe agitar hasta que se disuelva todo el reactivo adicionado y no quede nada de reactivo a la vista.
- Reacción: transformación de unos compuestos químicos en otros.
- Dilución: es el proceso mediante el cual se disminuye la concentración de una disolución al añadir disolvente.
- Estanques indicadores: estanques a los que se les realizan análisis periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.
- Estanques especiales: estanques que no se encuentran dentro de la categoría de estanques indicadores, no se les realizan análisis periódicamente, si no cuando los valores obtenidos de los mismos están fuera del valor esperado.
- Estanques heterotróficos: estanques a los que se les adiciona el cultivo de bacterias que proveen condiciones más propicias para el desarrollo de los animales y se analizan periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.

Anexo 9: Determinación de nitratos

### **DETERMINACIÓN DE NITRATOS**

**Rango:** (0,1-10,0) mg/L de NO<sub>3</sub>-N.

**Método:** Reducción de Cadmio.

**Alcance:**

- Muestras de estanques indicadores.
- Muestras de estanques especiales.
- Muestras de estanques heterotróficos.
- Muestras del río.
- Muestras del canal.
- Muestras de la entrada y salida de IV etapa.
- Muestras de la entrada y salida de la V etapa.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Llano Verde.
- Muestras especiales.

**Objetivo**

- Determinar la concentración de nitrato como NO<sub>3</sub>-N presente en las muestras respectivas (refiérase al mapa de puntos de muestreo) y monitorear con ello que los niveles de dicho compuesto, no sean excesivos

(mayores de 10 mg/L), en caso contrario tomar las medidas respectivas para mantener la calidad del agua.

### Equipo de Protección

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

### Equipo y Materiales

- Espectrofotómetro Hach modelo DR/2400.
- Viales de 10 mL cada uno.
- Erlenmeyer.
- Pipeta Tensette modelo 19700-10.
- Puntas para micropipeta.
- Pizeta.
- Reactivo Nitra Ver® 5.
- Agua destilada.

### Procedimiento

1. Enjuague por triplicado y con agua destilada, el o los erlenmeyers que utilizará.
2. Invierta la botella que tiene la muestra 3 veces.
3. Para preparar el blanco, llene un vial con 10 mL de muestra con la pipeta Tensette.
4. Para preparar la muestra, tome 10 mL de muestra con la pipeta Tensette y colóquelos en un erlenmeyer (refiérase al SOP de manejo de la pipeta Tensette modelo 19700-01).
5. Agregue el contenido de un sobre de reactivo Nitra Ver® 5.
6. Agite la disolución durante un minuto cronometrado.
7. Después de la agitación, deje reposar la muestra por un período de 5 minutos. Se mostrará un color ámbar si hay nitrato presente.
8. Encienda el equipo y espere a que se establezca la calibración automática de la longitud de onda.
9. Seleccione en el menú de **Programas Favoritos**. Seleccione el programa **353N, Nitrato EM 10 mg/L**. Seleccione **Comenzar**. Seleccione un usuario.
10. Enjuague los viales que utilizará acorde a lo especificado en el SOP de enjuague de viales.

11. Limpie el vial con papel toalla humedecido para posteriormente pasarle papel toalla seco.
12. Coloque el vial en el espectrofotómetro ubicando el vial con la marca blanca hacia el frente y cierre la tapa.
13. Seleccione **Cero**. La pantalla mostrará: **0,00 mg/L NO<sub>3</sub>-N**.
14. En otro vial limpio agregue 10 mL de la muestra preparada (en caso de no disponer de más de un vial, enjuáguelo por triplicado para lo cual refiérase al SOP de enjuague de viales).
15. Pásele al vial papel toalla humedecido con agua destilada y luego papel toalla seco para quitar la humedad de éste.
16. Colóquelo en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
17. Seleccione **Leer**. La pantalla mostrará el resultado en: **mg/L NO<sub>3</sub>-N** (en caso de que la lectura esté fuera del ámbito, refiérase al SOP de diluciones).
18. Registre el resultado en la hoja de registros ubicada al lado del espectrofotómetro.
19. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

*Nota:* En caso de no poder analizar las muestras de inmediato, refiérase al SOP de almacenamiento de muestras respectivo y realice los cálculos como se indica a continuación.

### **Cálculos:**

Corrección por adición de volúmenes

$$\text{Corrección} = \frac{\text{Volumen Total (ácido + base + muestra)}}{\text{Volumen Original}} \times \text{Resultado del Análisis}$$

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Reacción: transformación de unos compuestos químicos en otros.
- Disolución: mezcla que resulta de disolver cualquier sustancia en un líquido.
- Blanco: es la muestra sin los reactivos que se adicionan para generar una reacción específica, se utiliza para ajustar posibles errores producto de la reacción generada.
- Dilución: es el proceso mediante el cual se disminuye la concentración de una disolución al añadir disolvente.

- Estanques indicadores: estanques a los que se les realizan análisis periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.
- Estanques especiales: estanques que no se encuentran dentro de la categoría de estanques indicadores, no se les realizan análisis periódicamente, si no cuando los valores obtenidos de los mismos están fuera del valor esperado.
- Estanques heterotróficos: estanques a los que se les adiciona el cultivo de bacterias que proveen condiciones más propicias para el desarrollo de los animales y se analizan periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.

Anexo 10: Determinación de fosfatos.

### **DETERMINACIÓN DE FOSFATOS**

**Rango:** (0,02-2,50) mg/L como  $\text{PO}_4^{3-}$

**Método:** No aplica

**Alcance:**

- Muestras de estanques indicadores.
- Muestras de estanques especiales.
- Muestras de estanques heterotróficos.
- Muestras del río.
- Muestras del canal.
- Muestras de la entrada y salida de IV etapa.
- Muestras de la entrada y salida de la V etapa.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Llano Verde.

**Objetivo**

- Determinarla concentración de fosfato como  $\text{PO}_4^{3-}$  presente en las muestras respectivas (refiérase al mapa de puntos de muestreo) y con ello analizar el comportamiento de los niveles del mismo.

**Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.

- Mascarilla.

## Equipo y Materiales

- Espectrofotómetro Hach modelo DR/2400.
- Viales de 10 mL
- Erlenmeyer.
- Pipeta Tensette modelo 19700-10.
- Puntas para micropipeta.
- Pizeta.
- Reactivo Phos Ver® 3.
- Agua destilada.

## Procedimiento

1. Enjuague por triplicado y con agua destilada, el o los erlenmeyers que utilizará.
2. Invierta la botella que tiene muestra 3 veces.
3. Para preparar el blanco, tome 10 mL de muestra con la pipeta Tensette y colóquelos en un vial limpio de 10 mL.
4. Para preparar la muestra, tome 10 mL de muestra con la pipeta Tensette y colóquelos en un erlenmeyer (Refiérase al SOP de manejo de la pipeta Tensette modelo 19700-10).
5. Agregue el contenido de un sobre de reactivo Phos Ver® 3 (refiérase al SOP de uso sobres con reactivos).
6. Mézclela.
7. Deje que la muestra repose para que inicie el período de reacción de 2 minutos.
8. Encienda el equipo y espere a que se establezca la calibración automática de la longitud de onda.
9. Seleccione en el menú **Programas Favoritos**. Seleccione el programa **490 P React. PV 2,5 mg/L**. Seleccione **Comenzar**. Seleccione un usuario.
10. Enjuague los viales que utilizará acorde a lo especificado en el SOP de enjuague de viales.
11. Pásele al blanco papel toalla humedecido con agua destilada y luego papel toalla seco para quitar la humedad de éste.
12. Póngalo en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
13. Seleccione **Cero**. La pantalla mostrará: **0,00 mg/L PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>**.
14. En otro vial limpio agregue los 10 mL de muestra preparada (en caso de no disponer de más de un vial, enjuáguelo por triplicado cada vez que se le añada una muestra diferente, para lo cual refiérase al SOP de enjuague de viales).

15. Pásele al vial papel toalla humedecido con agua destilada y luego papel toalla seco para quitar la humedad de éste.
16. Póngalo en el espectrofotómetro con la marca blanca viendo hacia el frente y cierre la tapa.
17. Seleccione **Leer**. La pantalla mostrará el resultado en: **mg/L PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>**. En caso de que la lectura esté fuera del rango, refiérase al SOP de diluciones.
18. Registre el resultado en la hoja de registros ubicada al lado del espectrofotómetro.
19. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de Disposición de Desechos.

*Nota:* En caso de no poder analizar las muestras de inmediato, refiérase al SOP de almacenamiento de muestras respectivo.

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Mezclar: acción de incorporar varias sustancias que no tienen acción química entre sí, para lo cual se debe agitar hasta que se disuelva todo el reactivo adicionado y no quede nada de reactivo a la vista.
- Reacción: transformación de unos compuestos químicos en otros.
- Dilución: es el proceso mediante el cual se disminuye la concentración de una disolución al añadir disolvente.
- Estanques indicadores: estanques a los que se les realizan análisis periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.
- Estanques especiales: estanques que no se encuentran dentro de la categoría de estanques indicadores, no se les realizan análisis periódicamente, si no cuando los valores obtenidos de los mismos están fuera del valor esperado.
- Estanques heterotróficos: estanques a los que se les adiciona el cultivo de bacterias que proveen condiciones más propicias para el desarrollo de los animales y se analizan periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.

Anexo 11: Determinación de DQO.

## **DETERMINACIÓN DE DQO**

**Rango:** (0-150) ppm.

**Método:** Método de Reactor de Digestión.

### **Alcance:**

- Muestras del río.
- Muestras del canal.
- Muestras de la entrada de Llano Verde.
- Muestras de la entrada al humedal de Llano Verde.
- Muestras de la salida del humedal de Llano Verde.
- Muestras de la entrada de Santa Paula.
- Muestras de la entrada al humedal de Santa Paula.
- Muestras de la salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras especiales.

### **Objetivo**

- Determinar la demanda química de oxígeno presente en los puntos de muestreo preestablecidos (refiérase al mapa de puntos de muestreo), para así analizar el comportamiento del consumo de oxígeno y prevenir con ello niveles de oxígeno desfavorables para la salud de los peces y a la vez permite monitorear la eficiencia con que trabajan los humedales.

### **Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

### **Equipo y Materiales**

- Reactor de digestión para DQO.
- Pipeta Tensette modelo 19700-10.
- Puntas para pipeta.

- Pizeta.
- Agua destilada.
- Papel toalla.
- Espectrofotómetro Hach modelo DR/2400.
- Adaptador para viales de 16 mm

## Procedimiento

1. Encienda el reactor de digestión para DQO y precaliente hasta 150 °C
2. Destape 2 viales con reactivo de digestión para DQO. Asegúrese de que sean del ámbito adecuado (ver Cuadro 1).
3. Para preparar el blanco, con la pipeta Tensette, agregue 2 mL de agua desionizada al primer vial. Esto debe hacerlo para cada set de muestras.
4. Con la pipeta Tensette tome 2 mL de muestra y colóquelos en el segundo vial.
5. Cierre bien los viales, rotúlelos en la tapa, enjuáguelos con agua desmineralizada y séquelos con papel toalla.
6. Sostenga los viales por la tapa para no ensuciar el vidrio e inviértalos 5 veces (refiérase al SOP de mezclado de reactivos) para mezclar la muestra con los reactivos.
7. Coloque los viales en el reactor de DQO precalentado. La reacción es exotérmica y produce calentamiento de los viales.
8. Caliente los viales durante 2 horas en el **Reactor de Digestión para DQO**. Luego apáguelo y espere 20 minutos para que se enfríen a 120 °C o menos.
9. Invierta los viales 5 veces mientras están calientes y colóquelos en el recipiente en que vienen los viales con el reactivo, mientras se enfrían a temperatura ambiente.
10. Seleccione en el menú **Programas Favoritos**. Seleccione el programa **430 DQO EB (Escala Baja) 150 mg/L o 435 DQO EA (Escala Alta) 1500 mg/L**. Seleccione **Comenzar**. Seleccione un usuario.
11. Limpie la parte externa de los viales con un papel toalla húmedo y luego con uno seco para eliminar huellas digitales u otro tipo de marca.
12. Instale el adaptador para viales de 16 mm limpio (refiérase al SOP de limpieza del adaptador de viales) en la celda del espectrofotómetro, coloque el blanco viendo al frente del mismo (debe preparar un blanco por cada set de muestras) y en el adaptador, cierre tapa.
13. Seleccione **Cero**. La pantalla mostrará: **0 mg/L DQO**.
14. Saque el blanco, ponga la muestra en el espectrofotómetro y cierre la tapa.
15. Seleccione **Leer**. La pantalla mostrará el resultado en: **mg/L DQO**. Si está trabajando con viales de reactivo de digestión para rango alto PLUS,

multiplique el resultado por 10. Para resultados más exactos, al trabajar con muestras en rangos cercanos a 1500 mg/L ó 15000 mg/L COD, repita el análisis con muestras diluidas.

16. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

Cuadro 1: Selección del vial de reactivo para DQO apropiado

| Tipo de muestra  | Ámbito (mg/L DQO) | Catálogo número |
|------------------|-------------------|-----------------|
| Ámbito bajo      | 0-150             | 21258-25        |
| Ámbito alto      | 0-1500            | 21259-25        |
| Ámbito alto PLUS | 0-15000           | 24159-25        |

### Terminología:

- Reactor: equipo preparado para que en su interior se produzcan reacciones químicas o biológicas.
- Digestión: acción de degradar materia orgánica mediante el calor, los reactivos químicos o los microorganismos.
- Blanco: es la muestra sin los reactivos que se adicionan para generar una reacción específica, se utiliza para ajustar posibles errores producto de la reacción generada.
- Agua desionizada: agua a la que se le han quitado todos los iones excepto el H<sup>+</sup> y el OH<sup>-</sup>, pero puede contener pequeñas cantidades de impurezas no iónicas como compuestos orgánicos.
- Agua desmineralizada: agua a la cual se le quitan los minerales y las sales. Se utiliza cuando se requiere agua con bajo contenido en sal o baja conductividad.
- Agua destilada: es aquella a la que se le ha eliminado prácticamente la totalidad de impurezas e iones mediante destilación (el agua llega a su punto de ebullición y se recogen sus vapores, condensándolos).
- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Reacción: transformación de unos compuestos químicos en otros.
- Reacción exotérmica: reacción que implica el desprendimiento o la liberación de calor.

Anexo 12: Determinación de sólidos no filtrables o sólidos suspendidos

## **DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS NO FILTRABLES O SÓLIDOS SUSPENDIDOS**

**Método:** Gravimétrico

**Alcance:**

- Muestras de río.
- Muestras de canal.
- Muestras de la entrada de Llano Verde.
- Muestras de la entrada al humedal de Llano Verde.
- Muestras de la salida del humedal de Llano Verde.
- Muestras de la entrada de Santa Paula.
- Muestras de la Entrada al humedal de Santa Paula.
- Muestras de la salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras especiales.

**Objetivo:**

- Determinar la cantidad de sólidos que quedan suspendidos en el agua y con ello poder determinar a la vez la eficiencia con la que están o no trabajando los humedales.

**Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

**Equipo y Materiales**

- Discos de Filtro de 47mm
- Pinzas.
- Kitasato de 500 mL
- Embudo Büchner 300 mL
- Probeta de 100 mL
- Motor AIR CADET modelo No. 7530-40.
- Pizeta de 300 mL
- Bandejas de aluminio de 102 mm de diámetro.
- Horno.

- Desecador Kartell.
- Balanza analítica OHAUS.
- Agua destilada.

## Procedimiento

1. Identifique y registre el peso de un disco de filtro de 47mm, previamente secado (refiérase al SOP de secado de papel filtro) para evitar un error por humedad. Utilice siempre pinzas, ya que los dedos pueden agregar impurezas que pueden causar un error de pesaje.
2. Coloque, con pinzas, el disco de filtro de 47mm en el sistema de filtrado al vacío y añada un poco de agua destilada para mojar que el papel filtro.
3. Ensamble el sistema de filtrado (refiérase al SOP de filtración al vacío).
4. Enjuague el embudo, para lo cual debe añadir agua destilada con ayuda de la pizeta. Presione con fuerza constante la pizeta que contiene el agua destilada y colóquela sobre el borde de la boca del embudo. Realice un movimiento circular mientras va añadiendo el agua.
5. Repita el procedimiento 2 veces más.
6. Conecte el motor para generar el vacío.
7. Mida 100 mL de muestra en una probeta de 100 mL.
8. Lentamente transfiera el contenido de la probeta al embudo y aplique el vacío hasta que el agua pase a través del filtro y no caiga ni una sola gota de la muestra a través del embudo Büchner.
9. Quite el vacío paulatinamente, extraiga lentamente y con pinzas el filtro de 47mm y colóquelo en una bandeja de aluminio limpia (Refiérase al SOP de limpieza general de instrumentos para pesar).
10. Precaliente el horno a 103 °C.
11. Con una pinza, coloque la bandeja de aluminio con la muestra en el horno desecador.
12. Deseque la muestra a 103°C por 1 hora.
13. Coloque la bandeja de aluminio con la muestra en el desecador (realice dicho procedimiento con pinzas) y déjela enfriar hasta temperatura ambiente (una hora aproximadamente).
14. Extraiga con pinzas el disco de filtro de 47mm con la muestra e introdúzcalo en la balanza analítica (refiérase al SOP de uso de la balanza analítica).
15. Registre el peso en la hoja de registros.
16. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.
17. Realice los cálculos respectivos.

**Cálculos:**

Sólidos no filtrables (SNF)

$$SNF = (A - B) \text{ mg de sólidos no filtrables}$$

Donde:

A es el peso del disco con el residuo (mg)

B es el peso del disco (mg)

**Terminología:**

- Filtrar: hacer pasar un líquido por un filtro (material poroso).
- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.

Anexo 13: Preparación de muestras de microbiología de aguas.

**PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE MICROBIOLOGIA DE AGUAS**

**Método:** No aplica

**Alcance:**

Para análisis de mohos y levaduras, recuento aerobio o *E. coli* y coliformes en:

- Muestras de la salida de la I y II etapa.
- Muestras de la salida de la IV etapa.
- Muestras de la entrada del canal.
- Muestras de la entrada del río.
- Muestras de la entrada de Llano Verde.
- Muestras de la entrada de Santa Paula.
- Muestras especiales.

**Objetivo:**

- Realizar determinaciones de mohos y levaduras, recuento aerobio y/o *E. coli* y coliformes, presentes en las muestras respectivas (refiérase al mapa de puntos de muestreo) y así monitorear que los niveles de dichos análisis se encuentren entre los valores esperados, en caso contrario se tomarán las medidas respectivas en la medida de lo posible para mantener la calidad del agua.

## Equipo de Protección

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

## Equipo y Materiales

- Placas Petrifilm 3M™ para mohos y levaduras, recuento aerobio o *E.coli* y coliformes, según sea el caso respectivo.
- Pipetas desechables de 1 mL
- Difusor.

## Procedimiento

1. Aliste las laminas Petrifilm 3M™ necesarias, identificados con fecha, punto de muestreo (preestablecidos en el plan de trabajo) y nivel de dilución (0x, 10x, 100x o 1000x), de acuerdo a lo especificado.
2. Coloque la muestra (refiérase al SOP de recolección de muestras de microbiología) que se encuentra en la bolsa dentro de un beaker para evitar que se derrame. Deshaga los pliegues que se le hicieron a la bolsa con anterioridad y cuando esté totalmente “desenvuelta”, evite tocar el borde de la misma para impedir que se contamine.
3. Abra la bolsa con la muestra halando las pestañas laterales de la misma, sin tocar su borde.
4. Levante la capa superficial de la lámina para agregar la muestra.
5. Con la ayuda de la pipeta estéril, agregue 1 mL de muestra en el centro de la lamina evitando dejar burbujas (refiérase al SOP de dilución de muestras de microbiología).
6. Suelte la capa superficial de la placa sobre la muestra, evitando introducir burbujas de aire.
7. Coloque el lado cóncavo para los conteos de mohos y levaduras y recuento total aerobio o el lado plano para el conteo de *E.coli* y coliformes del difusor sobre la capa superficial de la placa y el centro de la muestra.
8. Presione suavemente el difusor sobre la muestra para distribuirla uniformemente formando un círculo.
9. Retire el difusor y deje la placa quieta al menos un minuto mientras se hidrata el agar.

10. Incube las placas con la capa superficial hacia arriba. Puede hacer grupos no mayores de 20 unidades. El tiempo y temperatura de incubación se detallan en la Tabla 1.
11. Una vez terminado el tiempo de incubación, haga la interpretación del resultado basándose en el manual de placas Petrifilm 3M™ que contiene las indicaciones para realizar la misma y que toma en cuenta el nivel de dilución y el número de colonias presentes.
12. Registre el resultado en la hoja de registros.
13. Las colonias pueden ser aisladas para identificar. Extráigalas del agar si es necesario, para lo cual debe levantar la película superior y recoja la colonia del gel.

**Cuadro 1: Condiciones de incubación para métodos Petrifilm 3M™**

| Método                         | Temperatura de incubación | Tiempo de incubación |
|--------------------------------|---------------------------|----------------------|
| Recuento total aerobio         | 35 ±1 °C                  | 48 ±3 horas          |
| Recuento de hongos y levaduras | 20 - 25 °C                | 3 - 5 días           |
| Recuento de coliformes totales | 25 ±1 °C                  | 24 ±1 horas          |
| Recuento de <i>E.coli</i>      | 35 - 37 °C                | 48 ±3 horas          |

**Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Dilución: es el proceso mediante el cual se disminuye la concentración de una disolución al añadir disolvente.
- Disolución: mezcla que resulta de disolver cualquier sustancia en un líquido.
- Disolvente: sustancia que se encarga de realizar la acción de disolver.
- Estéril: libre de gérmenes patógenos.
- Incubar: que se desarrolle hasta que aparezcan los organismo respectivos (mohos y levaduras, aerobios o *E. coli* y coliformes).
- Agar: sustancia que adquiere consistencia gelatinosa una vez que se hidrata la placa (añadir agua).
- Colonia: animal que por proliferación forma un cuerpo de numerosos zooides unidos entre sí.
- Cóncavo: superficie curva, semejante al interior de una circunferencia o esfera.

- Zooide: Individuo que forma parte de un cuerpo con organización colonial y cuya estructura es variable, según el papel fisiológico que deba desempeñar en el conjunto.
- Estanques especiales: estanques que no se encuentran dentro de la categoría de estanques indicadores, no se les realizan análisis periódicamente, si no cuando los valores obtenidos de los mismos están fuera del valor esperado.

Anexo 14: Almacenamiento y preservación de placas de microbiología

## **ALMACENAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE PLACAS DE MICROBIOLOGÍA**

### **Alcance:**

- Placas Petrifilm 3M™ de mohos y levaduras.
- Placas Petrifilm 3M™ de recuento aerobio.
- Placas Petrifilm 3M™ de *E. coli* y coliformes.

### **Objetivo:**

- Evitar la contaminación de las placas, lo cual podría perturbar los resultados obtenidos, dando con ello mediciones incorrectas y por ende afectando las medidas correctivas a aplicar.

### **Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.

### **Equipo y Materiales**

- Placas Petrifilm 3M™.
- Refrigeradora.
- Contenedor con sello.
- Termómetro.

### **Almacenamiento**

1. Almacene los paquetes cerrados a una temperatura menor o igual a 8 °C (bajo refrigeración). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad.
2. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos (dejarlos 3 horas a temperatura ambiente, deben

ser monitoreadas constantemente para determinar si ya han alcanzado la temperatura del ambiente, vea el termómetro del laboratorio).

3. Las placas Petrifilm 3M™ sin abrir deben ser almacenadas por un máximo de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

4. Cierre los paquetes abiertos doblando el extremo y sellándolo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto la alteración de las placas.

5. Mantenga los paquetes cerrados (de acuerdo a lo establecido en el punto anterior) a una temperatura inferior a los 25 °C y una humedad relativa menor o igual al 50 %.

6. No refrigere los paquetes que ya han sido abiertos. Utilice las placas Petrifilm 3M™ máximo un mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados según el punto 4, colóquelos en un contenedor con sello (tipo funda con cierre) y almacénelos en las condiciones descritas con anterioridad.

7. Para usar las placas saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde el resto de las mismas en las condiciones antes descritas hasta su fecha de caducidad.

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Atemperar: permitir que la muestra logre alcanzar la temperatura del ambiente.
- Condensación: convertir un vapor en líquido o en un sólido.

Anexo 15: Determinación de dureza total.

### **DETERMINACIÓN DE DUREZA TOTAL**

**Rango:** (10-4000) mg/L como CaCO<sub>3</sub>

**Método:** Método con Bureta Digital utilizando EDTA

**Alcance:**

- Muestras de Río.
- Muestras de Canal.
- Muestras Especiales.

## **Objetivo:**

- Determinar el nivel de calcio y magnesio presentes en las muestras respectivas, los cuales podrían alterar de manera negativa la calidad de los análisis que se realizan.

## **Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

## **Equipo y Materiales**

- Bureta digital.
- Tubo descarga.
- Agitador eléctrico.
- Erlenmeyer.
- Pastillas magnéticas.
- Pinzas.
- Pizeta.
- Cartucho titulador de EDTA (a la concentración indicada por el Cuadro 1.
- Probeta graduada.
- Solución de dureza.
- 1 Sobre Indicador de dureza Man Ver® 2.
- Agua destilada.
- Papel toalla.

## **Procedimiento**

1. Seleccione el tamaño de la muestra y el tipo de cartucho titulador de EDTA correspondientes a la dureza esperada según la Cuadro 1.
2. Inserte un tubo de descarga limpio en la salida del cartucho (refiérase al SOP de instalación del cartucho titulador).
3. Instale el cartucho al dispensador digital.
4. Coloque el cartucho titulador hacia arriba para expulsar las burbujas de aire, al girar la perilla de la bureta digital y expulsar a la vez algunas gotas de reactivo.
5. Reajuste a cero el contador y limpie el tubo de descarga con una servilleta limpia.

6. Utilice una probeta graduada o una pipeta para medir el volumen de muestra seleccionado en la Cuadro 1.
7. Invierta la botella que tiene la muestra 3 veces.
8. Transfiera el volumen de muestra seleccionado de la botella a un “erlenmeyer” o “beaker” de 250 mL.
9. Agregue con el gotero del envase que contiene la disolución de dureza 1, 2 mL de la misma y mezcle.
10. Agregue el contenido de un sobrecito de indicador de dureza Man Ver ® 2 y mezcle.
11. Coloque el tubo de descarga en la disolución mientras mezcla y titula lentamente con EDTA hasta que la disolución pase de un color rojo a azul. Registre el número del contador.
12. Realice los cálculos respectivos.
13. Registre el resultado en la hoja de registros.
14. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

Cuadro 1: Características de la muestra, cartucho de reactivo y multiplicador respectivos

| Ámbito de dureza (mg/L de CaCO <sub>3</sub> ) | Volumen de muestra (mL) | Cartucho titulador (EDTA) | Número de catálogo | Multiplicador |
|---|-------------------------|---------------------------|--------------------|---------------|
| 10-40   | 100                     | 0,08                      | 14364-01           | 0,1           |
| 40-160  | 25                      | 0,08                      | 14364-01           | 0,4           |
| 100-400                                       | 100                     | 0,8                       | 14399-01           | 1             |
| 200-800                                       | 50                      | 0,8                       | 14399-01           | 2             |
| 500-2000                                      | 20                      | 0,8                       | 14399-01           | 5             |
| 1000-4000                                     | 10                      | 0,8                       | 14399-01           | 10            |

### Cálculos

Dureza total

$$\text{Dureza total} = (\text{dato del contador} \times \text{dato del multiplicador}) \text{ mg/L CaCO}_3$$

Donde:

El dato del contador se refiere al dato final que se obtiene del contador digital, una vez que se ha dado el cambio de coloración esperado.

El dato del multiplicador se refiere al dato que se obtiene del Cuadro 1 y corresponde al volumen de muestra seleccionado.

### **Terminología:**

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Dureza: característica de química del agua que está determinada por la cantidad de carbonatos, bicarbonatos, cloruros, nitratos, sulfatos, calcio y magnesio, en caso de que el contenido de éstos sea alto, se le llama agua dura.
- Reactivo: sustancia empleada para descubrir y valorar la presencia de otra, con la que reacciona de forma peculiar.
- Disolución: mezcla que resulta de disolver cualquier sustancia en un líquido.
- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Mezclar: acción de incorporar varias sustancias que no tienen acción química entre sí, para lo cual se debe agitar hasta que se disuelva todo el reactivo adicionado y no quede nada de reactivo a la vista.
- Titular: medir la cantidad de un reactivo de concentración conocida (solución patrón) que es consumida por la sustancia a la que se le quiere averiguar la concentración (analito).

Anexo 16: Determinación de alcalinidad.

### **DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD**

**Rango:** (10-4000) mg/L como CaCO<sub>3</sub>.

**Método:** Titulación Digital, Método con fenolftaleína y ácido sulfúrico total.

### **Alcance:**

- Muestras de estanques indicadores.
- Muestras de estanques especiales.
- Muestras de estanques heterotróficos.
- Muestras del río.
- Muestras del canal.
- Muestras de la entrada y salida de IV etapa.
- Muestras de la entrada y salida de la V etapa.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Santa Paula.
- Muestras de la entrada y salida del humedal de Llano Verde.
- Muestras especiales.

## **Objetivo:**

- Determinar la alcalinidad presente en las muestras respectivas (refiérase al mapa de puntos de muestreo) y monitorear con ello que los niveles de alcalinidad no sean excesivos (por encima de 200 mg/L), en caso contrario se tomarán las medidas respectivas en la medida de lo posible para mantener la calidad del agua.

## **Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

## **Equipo y Materiales**

- Bureta digital.
- Tubo de descarga.
- Agitador eléctrico.
- pH-metro HQ11d.
- Erlenmeyer.
- Pastillas magnéticas.
- Pinzas.
- Pizeta.
- Cartucho Titulador de ácido sulfúrico (a la concentración indicada por la Cuadro 1).
- 1 Sobre indicador de fenolftaleína.
- 1 Sobre indicador de verde bromocresol-rojo metil.
- Agua destilada.
- Toalla de papel.

## **Procedimiento**

1. Seleccione la cantidad de muestra y el cartucho titulador de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) correspondientes a la alcalinidad esperada en mg/L de carbonato de calcio ( $CaCO_3$ ) según el Cuadro 1.
2. Inserte un tubo de descarga limpio en la salida del cartucho titulador. Instale el cartucho al dispensador digital (refiérase al instalación del cartucho titulador).

3. Coloque la bureta digital apuntando hacia arriba y gire la perilla de la bureta digital para expulsar algunas gotas de reactivo y eliminar todas las burbujas de aire. Reajuste a cero el contador y limpie el tubo de descarga con una servilleta limpia.
4. Utilice una probeta graduada o una pipeta para medir el volumen de muestra seleccionado en el Cuadro 1.
5. Invierta la botella que tiene la muestra 3 veces.
6. Transfiera el volumen de muestra seleccionado de la botella a un "erlenmeyer" o "beaker" de 250 mL.
7. Enjuague las pastillas magnéticas utilizando agua destilada. Sosténgalas con una pinza.
8. Coloque las pastillas magnéticas dentro del recipiente que contiene la muestra.
9. Agregue el contenido de un sobre de fenolftaleína (refiérase al SOP de uso de sobres con reactivo).
10. Coloque el recipiente con la muestra, fenolftaleína y piedras magnéticas sobre la base del agitador.
11. Enjuague el electrodo del pH-metro con agua destilada e introdúzcalo en el recipiente seleccionado. Con la ayuda del agitador inicie el mezclado.
12. Encienda el pH-metro presionando el botón ON/OFF, seguido de la tecla verde de la derecha para que inicie la lectura de pH y espere a que se establezca la lectura (para más información del funcionamiento del pH-metro refiérase al manual HQ11d).
13. Si la disolución se torna rosada, titule hasta el pH de punto final, sin color (ver tabla 2). Coloque el tubo de descarga en la solución mientras mezcla bien los reactivos. Registre el número del contador. Si la solución no se torna rosada al agregar la fenolftaleína siga al paso 10.
14. Realice el primer cálculo.
15. Agregue el contenido de un sobre de indicador verde bromocresol-rojo metil (Refiérase al SOP de uso de sobres con reactivo) a la disolución y mezcle.
16. Continúe la titulación con ácido sulfúrico hasta que la solución cambie de un color verde-azul grisáceo (pH 5.1) a azul violeta (pH 4.8) o rosado intenso (pH 4.5), según la composición requerida en el Cuadro 2. Registre el número del contador.
17. Realice el segundo cálculo.
18. Registre el resultado en la hoja de registros.
19. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

Cuadro 1: Características de la muestra, cartucho de reactivo y Multiplicador respectivos

| Rango (mg/L de CaCO <sub>3</sub> ) | Volumen de muestra (mL) | Cartucho titulador (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) | Catálogo número | Multiplicador |
|------------------------------------|-------------------------|--|-----------------|---------------|
| 10 -40                             | 100                     | 0,16   | 14388-01        | 0,1           |
| 40-160                             | 25                      | 0,16   | 14388-01        | 0,4           |
| 100-400                            | 100                     | 1,6  | 14389-01        | 1             |
| 200-800                            | 50                      | 1,6  | 14389-01        | 2             |
| 500-2000                           | 20                      | 1,6  | 14389-01        | 5             |
| 1000-4000                          | 10                      | 1,6  | 14389-01        | 10            |

Cuadro 2: Tipo de muestra y pH de punto final respectivo

| Composición de la muestra                  | Punto final |
|--|-------------|
| 30 mg/L                                    | pH 5,1      |
| 150 mg/L                                   | pH 4,8      |
| 500 mg/L                                   | pH 4,5      |
| silicatos o fosfatos presentes             | pH 4,5      |
| desechos industriales o sistemas complejos | pH 3,7      |

*Nota:* Puede utilizar el pH-metro para determinar el pH deseado.

## Cálculos

Alcalinidad

$$\text{Alcalinidad} = (\text{dato del contador} \times \text{dato del multiplicador}) \text{ mg/L CaCO}_3$$

Donde:

El dato del contador se refiere al dato final que se obtiene del contador digital, una vez que se ha dado el cambio de coloración esperado.

El dato del multiplicador se refiere al dato que se obtiene del Cuadro 1 y corresponde al volumen de muestra seleccionado.

## Terminología:

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.

- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Alcalino: sustancias cuyo pH es mayor de 7.
- Disolución: mezcla que resulta de disolver cualquier sustancia en un líquido.
- Titular: medir la cantidad de un reactivo de concentración conocida (solución patrón) que es consumida por la sustancia a la que se le quiere averiguar la concentración (analito).

Anexo 17: Determinación de dióxido de carbono.

## **DETERMINACIÓN DE DIÓXIDO DE CARBONO**

**Rango:** (10-1000) mg/L como CO<sub>2</sub>.

**Método:** Titulación Digital utilizando hidróxido de sodio y pH-metro HQ11d.

### **Alcance:**

- Muestras de estanques indicadores.
- Muestras de estanques especiales.
- Muestras de estanques heterotróficos.
- Muestras del río.
- Muestras del canal.
- Muestras de la entrada y salida de IV etapa.
- Muestras de la entrada y salida de la V etapa.
- Muestras especiales.

### **Objetivo:**

- Determinar la concentración de CO<sub>2</sub> presente en las muestras respectivas (Refiérase al mapa de puntos de muestreo) y monitorear con ello que los niveles de dicho compuesto no sean excesivos (preferiblemente menores de 20 mg/L), en caso contrario tomar las medidas respectivas para mantener la calidad del agua dentro de los valores adecuados.

### **Equipo de Protección**

- Gabacha manga larga.
- Gafas de protección.
- Uso de pantalón largo.
- Guantes de látex.
- Mascarilla.

## Equipo y Materiales

- Bureta digital.
- Tubo de descarga.
- Agitador eléctrico.
- pH-metro HQ11d.
- Erlenmeyer.
- Pastillas magnéticas.
- Pinzas.
- Pizeta.
- Cartucho titulador de hidróxido de sodio (a la concentración indicada por el Cuadro 1).
- Sobre Indicador de Fenolftaleína.
- Agua destilada.
- Toalla de papel.

## Procedimiento

1. Seleccione el tamaño de la muestra y el tipo de cartucho titulador de hidróxido de sodio (NaOH) correspondientes a la concentración de dióxido de carbono esperada según el Cuadro 1.
2. Inserte un tubo de descarga limpio en la salida del cartucho titulador (en caso de que no lo tenga instalado).
3. Instale el cartucho titulador al dispensador digital.
4. Gire la perilla de la bureta digital para expulsar algunas gotas del reactivo. Reajuste a cero el contador y limpie el tubo de descarga con una servilleta limpia o con agua destilada (cuyos lavados deben caer en otro recipiente tal como un beaker, para evitar la contaminación de la muestra).
5. Recolecte el volumen de muestra directamente en el recipiente que se va a utilizar para la determinación (refiérase al SOP de recolección de muestras respectivo). El CO<sub>2</sub> es un gas que se escapa fácilmente por lo que hay que realizar el análisis lo más pronto posible y no se debe agitar bruscamente la muestra.
6. Agregue el contenido de un sobre de indicador de fenolftaleína y mezcle suavemente (con ayuda del agitador y las pastillas magnéticas). Si trabaja con 200 mL de muestra puede agregar 2 sobres de indicador de fenolftaleína o 0,015 mL de solución de fenolftaleína
7. Coloque el tubo de descarga y el electrodo del pH-metro en la solución.
8. Encienda el pH-metro presionando el botón ON/OFF, seguido de la tecla verde de la derecha para que inicie la lectura de pH.
9. Espere a que se establezca la lectura (para más información del funcionamiento del pH-metro refiérase al manual HQ11d).

10. Mezcle y titule lentamente con NaOH hasta que la solución pase de transparente a un color rosado y llegue a un pH de 8.30. Registre el número del contador.
11. Realice los cálculos respectivos.
12. Registre el resultado en la hoja de registros
  
13. Disponga los desechos de acuerdo a lo especificado en el SOP de disposición de desechos.

Cuadro 1: Características de la muestra, cartucho de reactivo y multiplicador respectivos

| Rango esperado (mg/L de CO <sub>2</sub> ) | Volumen de muestra (mL) | Cartucho titulador (NaOH) | Número de Catálogo | Multiplicador |
|---|-------------------------|---------------------------|--------------------|---------------|
| 10-50                                     | 200                     | 0,3636                    | 14378-01           | 0,1           |
| 20-100                                    | 100                     | 0,3636                    | 14378-01           | 0,2           |
| 100-400                                   | 200                     | 3,636                     | 14380-01           | 1,0           |
| 200-1000                                  | 100                     | 3,36                      | 14380-01           | 2,0           |

*Nota:* En caso de no poder analizar de inmediato, tome otra muestra en el momento en que se pueda realizar el análisis.

## Cálculos

Dióxido de carbono

$$\text{Dióxido de carbono} = (\text{dato del contador} \times \text{dato del multiplicador}) \text{ mg/L CO}_2$$

Donde:

El dato del contador se refiere al dato final que se obtiene del contador digital, una vez que se ha dado el cambio de coloración esperado.

El dato del multiplicador se refiere al dato que se obtiene del Cuadro 1 y corresponde al volumen de muestra seleccionado.

## Terminología:

- Muestra: parte o porción extraída de un conjunto por métodos que permiten considerarla como representativa de él.
- Reactivo: sustancia empleada para descubrir y valorar la presencia de otra, con la que reacciona de forma peculiar.

- Agitar: mover con frecuencia y violentamente de un lado a otro.
- Mezclar: acción de incorporar varias sustancias que no tienen acción química entre sí, para lo cual se debe agitar hasta que se disuelva todo el reactivo adicionado y no quede nada de reactivo a la vista.
- Titular: medir la cantidad de un reactivo de concentración conocida (solución patrón) que es consumida por la sustancia a la que se le quiere averiguar la concentración (analito).
- Estanques indicadores: estanques a los que se les realizan análisis periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.
- Estanques especiales: estanques que no se encuentran dentro de la categoría de estanques indicadores, no se les realizan análisis periódicamente, si no cuando los valores obtenidos de los mismos están fuera del valor esperado.
- Estanques heterotróficos: estanques a los que se les adiciona el cultivo de bacterias que proveen condiciones más propicias para el desarrollo de los animales y se analizan periódicamente de acuerdo al plan de trabajo preestablecido.

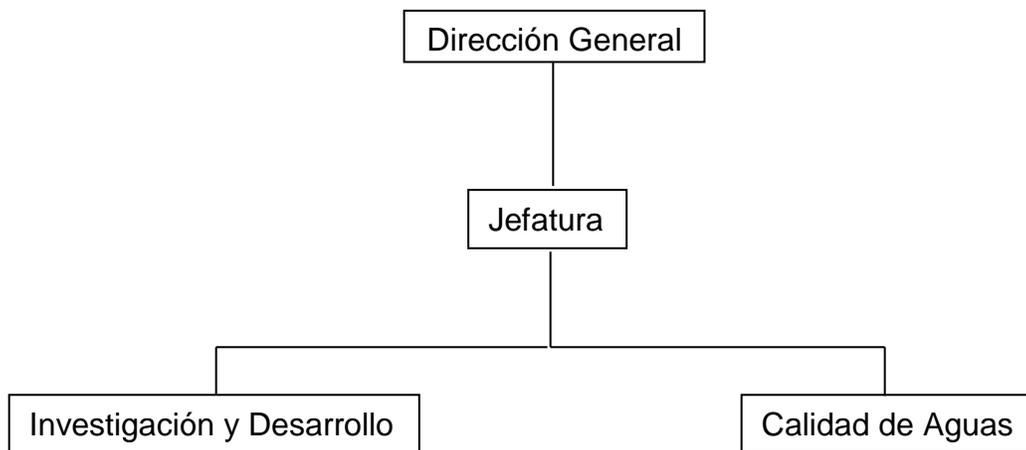
Anexo 18: Estructura de la libreta del laboratorio para el mantenimiento del equipo

| Fecha | Operación Realizada | Técnico | Observaciones |
|-------|---------------------|---------|---------------|
|       |                     |         |               |

Anexo 19: Porcentaje de amoníaco en soluciones acuosas a diferentes pH y temperaturas

| pH   | Temperatura (°C) |       |       |       |       |       |       |       |       |
|------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|      | 16               | 18    | 20    | 22    | 24    | 26    | 28    | 30    | 32    |
| 6.4  | 0.01             | 0.02  | 0.02  | 0.02  | 0.02  | 0.03  | 0.03  | 0.04  | 0.04  |
| 6.6  | 0.04             | 0.04  | 0.05  | 0.06  | 0.07  | 0.08  | 0.09  | 0.10  | 0.12  |
| 6.8  | 0.11             | 0.12  | 0.14  | 0.17  | 0.19  | 0.22  | 0.25  | 0.29  | 0.34  |
| 7.0  | 0.30             | 0.34  | 0.40  | 0.46  | 0.52  | 0.60  | 0.70  | 0.81  | 0.95  |
| 7.2  | 0.47             | 0.54  | 0.63  | 0.72  | 0.82  | 0.95  | 1.10  | 1.27  | 1.50  |
| 7.4  | 0.74             | 0.86  | 0.99  | 1.14  | 1.30  | 1.50  | 1.73  | 2.00  | 2.36  |
| 7.6  | 1.17             | 1.35  | 1.56  | 1.79  | 2.05  | 2.35  | 2.72  | 3.13  | 3.69  |
| 7.8  | 1.84             | 2.12  | 2.45  | 2.80  | 3.21  | 3.68  | 4.24  | 4.88  | 5.72  |
| 8.0  | 2.88             | 3.32  | 3.83  | 4.37  | 4.99  | 5.71  | 6.55  | 7.52  | 8.77  |
| 8.2  | 4.49             | 5.16  | 5.94  | 6.76  | 7.68  | 8.75  | 10.00 | 11.41 | 13.22 |
| 8.4  | 6.93             | 7.94  | 9.09  | 10.30 | 11.65 | 13.20 | 14.98 | 16.96 | 19.46 |
| 8.6  | 10.56            | 12.03 | 13.68 | 15.40 | 17.28 | 19.42 | 21.83 | 24.45 | 27.68 |
| 8.8  | 15.76            | 17.82 | 20.08 | 22.38 | 24.88 | 27.64 | 30.68 | 33.90 | 37.76 |
| 9.0  | 22.87            | 25.57 | 28.47 | 31.37 | 34.42 | 37.71 | 41.23 | 44.84 | 49.02 |
| 9.2  | 31.97            | 35.25 | 38.69 | 42.01 | 45.41 | 48.96 | 52.65 | 56.30 | 60.38 |
| 9.4  | 42.68            | 46.32 | 50.00 | 53.45 | 56.86 | 60.33 | 63.79 | 67.12 | 70.72 |
| 9.6  | 54.14            | 57.77 | 61.31 | 64.54 | 67.63 | 70.67 | 73.63 | 76.39 | 79.29 |
| 9.8  | 65.17            | 68.43 | 71.53 | 74.81 | 76.81 | 79.25 | 81.57 | 83.68 | 85.85 |
| 10.0 | 74.78            | 77.46 | 79.92 | 84.00 | 84.00 | 85.82 | 87.52 | 89.05 | 90.58 |
| 10.2 | 82.45            | 84.48 | 86.32 | 89.27 | 89.27 | 90.75 | 91.75 | 92.80 | 93.84 |

Anexo 20: Organigrama del Laboratorio.



## Anexo 21: Diagrama del laboratorio