

# Desarrollo de un sistema portátil de análisis de calidad de agua

Germán Comina<sup>2</sup>, Jackelin Venero<sup>2</sup>, Hugo Alarcón<sup>2</sup>, José Solís<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Casilla 31-139, Lima, Perú

## Resumen

Se ha desarrollado un prototipo que puede monitorear la calidad del agua en tiempo real cuyo principio es la “lengua electrónica”. Los principios del sistema son métodos electroquímicos, involucra la combinación de varios sensores electroquímicos no selectivos (electrodos de metales), el procesamiento y tratamiento de las señales, y un algoritmo de reconocimiento de patrones. Los patrones son únicos para cada muestra líquida y son interpretados con un análisis de componentes principales. El sistema determina atributos (calidad, estado del proceso, etc.) antes que parámetros simples. El prototipo es portátil y ha evaluado la calidad del agua de consumo humano en una zona rural (Yaurisque, Cusco). El sistema ha logrado discriminar agua con diferentes composición química y bacteriológica.

## Abstract

A prototype has been developed that could monitor the water quality in real time based on an “electronic tongue”. The system is based on electrochemical methods and involves the combination of non-selective sensors (metal electrodes), the signal processing part, and a pattern recognition. It determines attributes (quality, status of a process, etc.) rather than single parameters. Unique response patterns for liquid samples are interpreted with principal components analysis. The prototype is portable and has evaluated the water quality in a rural area (Yaurisque, Cusco). The system could discriminate water with different chemical and bacteriological composition.

## 1. Introducción

Contar con agua potable segura es un derecho de toda persona, sin embargo, gran parte de la población mundial no tiene acceso al mismo. En el Perú se tiene agua de baja calidad en las zonas rurales y en la periferia de las zonas urbanas, debido a que no cuentan con redes de agua y desagüe. La contaminación y el limitado acceso al agua inducen problemas sociales, económicos y de salud. Por ende la incidencia de diarrea infantil y de enfermedades endémicas fatales (hepatitis, fiebre tifoidea o cólera) es muy alta. Si bien es cierto, en zonas urbanas existen adecuados niveles de tratamiento de agua por parte del estado o empresas privadas. En cambio en las zonas rurales los pobladores utilizan agua de río, pozo, u otra fuente, que no está caracterizada.

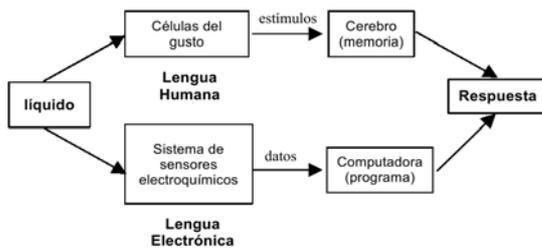
Para determinar la calidad del agua se determina su característica físico química y biológica. En agua libre de contaminación de elementos pesados, los parámetros bacteriológicos del mismo tienen mayor importancia [1]. Los organismos coniformes son buenos indicadores de la calidad higiénica del agua. Las bacterias coliformes, comprenden la *esticchia coli* y *Enterobacter aragenes*. El hallazgo de

coliformes en el agua indica la polución o contaminación fecal y no es apta para consumo humano. Existen diversas pruebas para analizar la presencia de coliformes totales y coliformes fecales, entre éstas tenemos: el método del número más probable de coliformes (MPN), la filtración a través de una membrana (MF) y la prueba Colilert. El método MPN emplea un medio de cultivo líquido en múltiples tubos de ensayos a los cuales se añaden la muestra de agua. Una prueba positiva ocasiona la producción de ácido (color amarillo) y constituye una presunción positiva que requiere confirmación. Mientras que en el método MF, la muestra de agua se pasa a través de un filtro de membrana estéril que retiene las bacterias y luego la membrana se transfiere a la superficie de un medio sólido o a un soporte absorbente, conteniendo el medio de cultivo. Luego se examina la membrana y se cuentan las colonias verdes violáceos con resplandor metálico. En la prueba Colilert se añade una muestra de agua de 100 ml a un reactivo Colilert. Si hay coliformes, el medio adquiere un color amarillo después de 24 h que se encuentra a 35 °C. Estos procesos de microbiología demoran por lo menos 18 h

\* Correspondencia autor: jsolis@ipen.gob.pe

para dar los resultados del análisis. Usando estas técnicas tradicionales no se puede monitorear el agua en tiempo real y un técnico tiene que hacer la medida, lo cual hace que sea inviable de implementarlo en zonas rurales.

Hemos desarrollado un prototipo para el análisis del agua para consumo humano en zonas rurales cuyo principio es un sistema conocido como “lengua electrónica” que puede discriminar diferentes muestras líquidas [2-5]. La lengua humana consta de una gran cantidad de células del gusto que están diseminados por ella. El líquido o alimento que uno ingiere estimula estas células que envían información a través de las neuronas al cerebro donde se compara con patrones almacenados y se reconoce el sabor. Imitando los sistemas biológicos, se han desarrollado lenguas electrónicas que son sistemas que determinan atributos del líquido analizado (ver Figura 1).



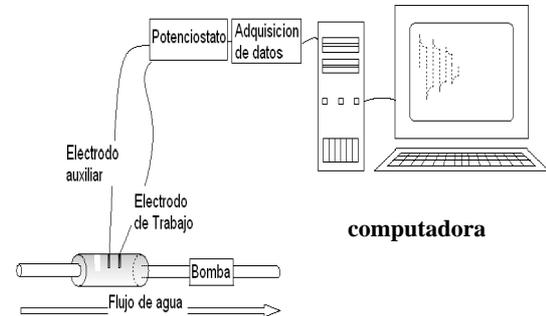
**Figura 1:** Esquema de una lengua humana y electrónica.

Los principios del sistema desarrollado son métodos electroquímicos [6], involucra la combinación de sensores no selectivos (electrodos metálicos), el procesamiento y tratamiento de las señales y un algoritmo de análisis de patrones [7].

## 2. Prototipo del sistema de análisis de calidad de agua

El sensor electroquímico utilizado se basa en una celda voltamétrica modificada, donde se tiene electrodos de trabajo de oro y platino, y el contra electrodo y electrodo de referencia es acero inoxidable. Este sistema estará en contacto con el líquido de estudio, y por medio de un potenciostato portátil Uniscan PG580 se le aplica pulsos de voltaje y se mide la corriente que pasa a través de cada electrodo de trabajo y electrodo de referencia. Esta corriente es función de la naturaleza del líquido que se analiza. Utilizando como herramienta el análisis multivariacional (el

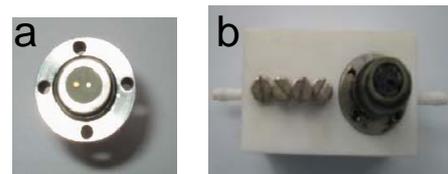
análisis por componentes principales (PCA)) se puede discriminar líquidos, y también detectar y medir la concentración de un cierto material en el líquido que se analiza [8, 9]. En la Figura 2 se observa el diagrama esquemático del prototipo desarrollado.



**Figura 2:** Diagrama esquemático del sistema de calidad de agua desarrollada.

Los pares de electrodo de trabajo y auxiliar se han diseñado y desarrollado en el laboratorio. Se fabricó un cabezal sensor, ver Figura 3a, que funciona como soporte para los electrodos de una celda electroquímica de dos electrodos. La base de soporte es de acero inoxidable y funciona como contra-electrodo, los electrodos de trabajo se fabricaron con alambre de oro (Premion®, 1 mm de diámetro, con una pureza de 99.985%) y platino (World Precision Instruments Inc, 1 mm de diámetro). El aislante que soporta a los electrodos de trabajo en la estructura del contra-electrodo es acrílico dental (3M ESPE Valux Plus).

Para la toma de muestra de forma automática e incrementar la reproducibilidad en la toma de muestras, se fabricó un mezclador de líquidos con cinco entradas. En el proyecto solo se usó una entrada. Se ha diseñado una cámara de medida donde se colocará el líquido a analizar, se limpiará y se colocará otro de una forma automática mediante una pequeña bomba. La Figura 3b muestra la cámara de medida y en la tapa se encuentra los electrodos. La cámara de medida se fabricó con Teflon®.



**Figura 3:** Fotografías de la parte superior del cabezal sensor (a) y de la cámara de medida (b).

La Figura 4 muestra la fotografía del prototipo desarrollado.

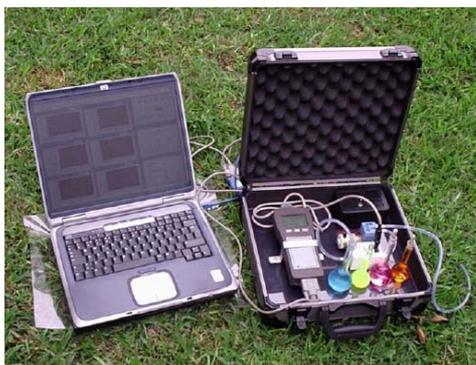


Figura 4: Foto del sistema desarrollado.

### 3. Muestras de agua

En el presente trabajo se analizaron muestras de agua contaminada con *E. coli* de tres fuentes diferentes: agua contaminada en el laboratorio, agua contaminada de puquios ubicados en Puente Piedra, Lima, y agua contaminada del río Yaurisque ubicado en Yaurisque, Cuzco.

Los resultados de los análisis microbiológicos de las muestras de agua fueron realizados en el Laboratorio “Marino Tabusso” de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

#### 3.1 Preparación de las muestras de agua contaminada en el laboratorio

Se sembró *E. coli* (ATCC10536) 24 h antes del experimento en placas Petri. La siembra se realizó tomando un inóculo con el Asa de Coll, luego se dispersó el cultivo sobre toda la placa sin dejar espacios vacíos, las placas sembradas se dejaron en la incubadora por un espacio de 18 h. Se colectó 5 l de agua potable un día antes de cada prueba, para disminuir el nivel de cloro residual en el agua. Al día siguiente se retiró de la incubadora la placa que contiene el cultivo y se dejó a temperatura ambiente por 10 min, luego se tomó una alícuota de 3 ml del agua colectada y se mezcló suavemente con el cultivo, con la ayuda de una Asa de Coll para preparar un concentrado de bacterias. Se cogió 100 µl de este concentrado y se mezcló con 160 ml adicionales de agua, esta mezcla se agregó al balde que contiene los 5 l de agua. En todo momento se trabajó al lado de un mechero Bunsen para crear un ambiente estéril en el área de trabajo.

#### 3.2 Muestra de agua contaminada de puquios ubicados en Puente Piedra

Los puquios Choqué, Tamboinga y Saucos se encuentran en la zona industrial, San Remo, y Gallinazos, respectivamente. Todos estos puquios están en el distrito de Puente Piedra. Los tres puquios están expuestos sin ningún tipo de protección, los pobladores acceden a estas fuentes de agua de manera directa para abastecerse, incluso entrando con zapatos a dichas fuentes. En algunos casos se observó que bañan a sus mascotas, lavan su ropa, etc. La fuente del manantial no se protege en ninguno de estos puquios. En esta zona la capa freática esta muy próxima a la superficie, y el puquio Choqué se encuentra próximo a un canal de desagüe.

Los resultados del análisis microbiológico (Tabla 1) muestran que el agua de estos puquios esta contaminada.

Tabla 1: Resultados del análisis microbiológico de muestras de agua de puquio.

Análisis microbiológico (APHA AWWA WEF – 1998)		Puquio Choque	Puquio Tamboinga	Puquio Saucos
Recuento de heterótrofos (UFC/ml)	de	75 x10	28 x10 <sup>3</sup>	52 x 10 <sup>2</sup>
Enumeración de coliformes totales (NMP/100ml)	de	92 x10	24 x 10 <sup>3</sup>	49 x 10 <sup>2</sup>
Enumeración de coliformes fecales (NMP/100ml)	de	49 x 10	24 x 10 <sup>3</sup>	49 x 10 <sup>2</sup>
Enumeración de E-coli (NMP/100ml)		24 x 10	21	20 x 10

La presencia de heterótrofos, y la presencia de coliformes totales es alta, siendo la mas contaminada con estos microorganismos, la muestra del puquial Tamboinga. En estas muestras también se ha encontrado la presencia de coliformes fecales en cantidades considerablemente altas. La presencia de *E. coli* se encontró en las tres muestras, siendo el agua del puquial Choqué la mas contaminada con *E. coli*.

Para las pruebas de laboratorio se seleccionó el agua proveniente del puquio Choqué debido a que tiene una gran cantidad de *E. Coli*.

### 3.3 Caracterización microbiológica de muestras de agua

Para la caracterización microbiológica del agua contaminada se utilizó el método de filtración de membrana. Este método se puede utilizar en zonas rurales con un equipo portátil DelAgua de Oxfam. Se rotulan 2 frascos que contienen 9.9 ml de agua destilada estéril para realizar las diluciones. Luego se añade 100  $\mu$ l de agua contaminada con la ayuda de una micro pipeta al primer frasco, esto corresponde a una dilución  $10^{-2}$ . Posteriormente se coge 100  $\mu$ l de esta dilución y se agrega al segundo frasco de agua destilada estéril y se mezclan suavemente, esto corresponde a una dilución  $10^{-4}$ . Esta dilución se filtra con una membrana, luego esta membrana se coloca sobre las placas pad al que se ha añadido 1.75 ml de Lauril sulfato. Después de colocar la membrana con la muestra en la placa se deja unos minutos al ambiente y luego se lleva a la incubadora a 37 °C entre 19 y 20 h, al cabo del cual se realiza el conteo o lectura de las unidades formadoras de colonia por 10 ml (UFC/10ml). Expresando el número de colonias por la dilución a la que se ha trabajado.

La esterilización del equipo de filtración se realizó por la incineración con alcohol metílico, y para desinfectar superficies y otros se usa alcohol etílico. Si el número de UFC/10 ml exceden a 800 se considera incontable como lo indica el método. En todo el trabajo se ha tenido especial cuidado con la limpieza e higiene del material y el ambiente de trabajo.

### 3.4 Muestra de agua de una zona rural, Yaurisque, Cusco

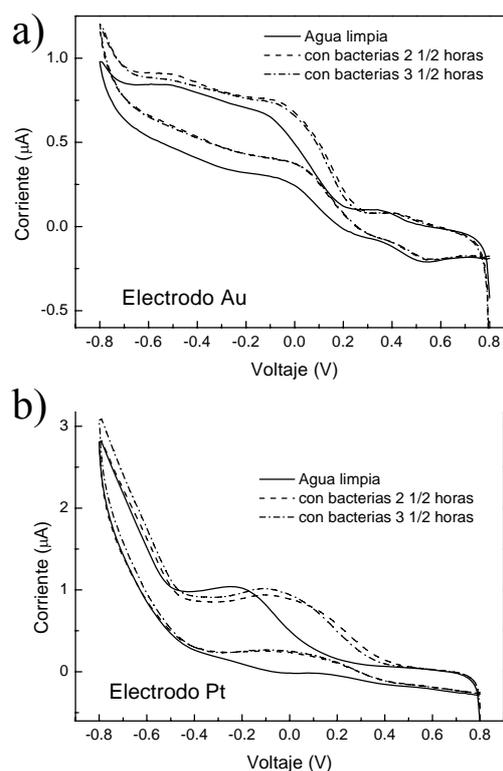
El prototipo fue probado en una zona rural. Este trabajo experimental de campo se realizó en el distrito de Yaurisque a unos 48 km de la ciudad de Cusco. El lugar esta ubicado a una altitud de 3330 m sobre el nivel del mar y el agua de consumo humano no tiene ningún tipo de tratamiento.

Sobre el río Yaurisque desembocan los desagües de la posta médica y del colegio del lugar, el trabajo se ha llevado a cabo en colaboración con el Centro de Capacitación de Desarrollo, CECADE, de Cusco.

## 4. Resultados y Discusión

Inicialmente se realizaron las pruebas de voltametría cíclica a muestras de agua limpia y contaminada artificialmente para determinar el rango de voltaje en el cual tienen diferente respuesta. El agua contaminada artificialmente tiene un número de UFC/10 ml que exceden a 800, por ende se considera incontable como lo indica el método, se usó agua muy contaminada para ver si se puede diferenciarla respecto del agua limpia.

Se eligió un rango de trabajo entre 0.8V y -0.8V para evitar la descomposición del agua y una velocidad de barrido de 20  $\text{mV s}^{-1}$ , los voltagramas obtenidos para el agua limpia y contaminada (ver Figura 5) nos muestran una marcada diferencia (un corrimiento en valores de corriente) entre -0.1V y -0.4V.

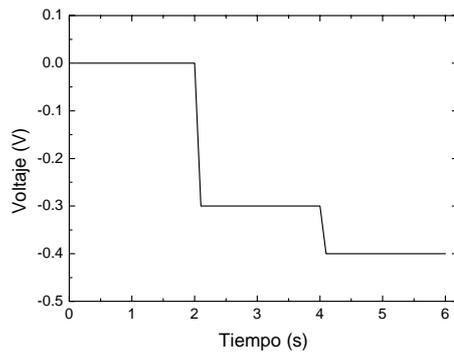


**Figura 5:** Voltametría cíclica del agua limpia y contaminada con *E. coli* para el electrodo de oro (a) y platino (b).

A partir de la voltametría cíclica se eligió un potencial escalón como se muestra en la Fig. 6, para el análisis de agua. Las muestras de agua contaminada se midieron después de 2 h 30 min y 3 h 30 min de preparada la muestra.

Se puede observar que las medidas son reproducibles.

Usando este voltaje escalón se puede observar la diferencia entre el agua limpia y el agua contaminada con *E. coli*, los voltajes establecidos fueron de -0.3V y de -0.4V por un tiempo de 2 s. Se prepararon tres muestras con diferentes concentraciones de *E. coli*, como se muestra en la Tabla 2.



**Figura 6:** El voltaje en función del tiempo utilizado para el análisis de agua.

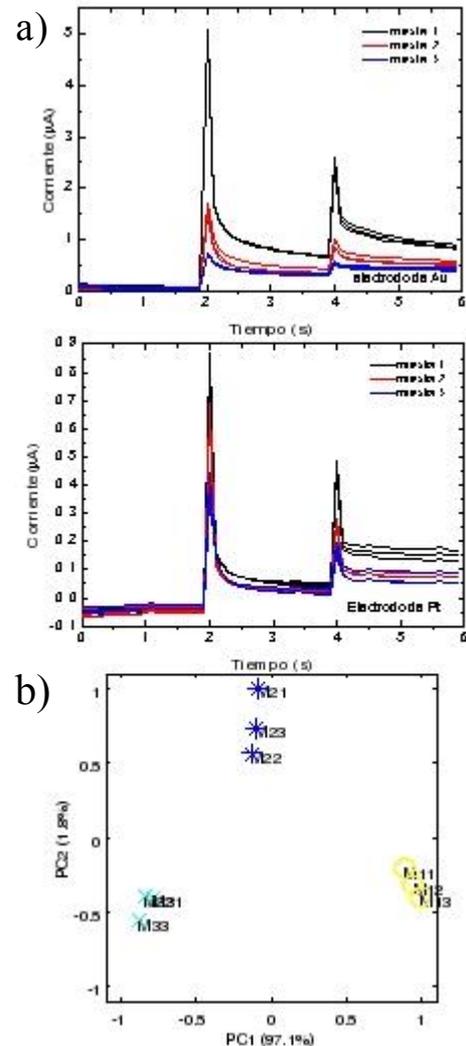
Se midió tres veces cada una de las tres muestras en orden aleatorio usando el potencial escalón que se observa en la Fig. 6. En la Figura 7a se observa las corrientes de respuesta de los electrodos de Au y Pt a las diferentes muestras de agua contaminada artificialmente, solamente con el electrodo de Au se puede diferenciar claramente las muestras. Para una mejor visualización se obtuvo la gráfica de componentes principales para del electrodo de Au (ver Fig. 7b).

**Tabla 2:** Concentraciones de las muestras de agua contaminadas en laboratorio.

Muestra	M3	M2	M1
Concentración de <i>E.coli</i>	Alta	Media	Baja
UFC/ 10 ml	Incontables $\times 10^{-1}$	Incontables $\times 10^{-2}$	$554 \times 10^{-4}$

Una forma económica de desinfectar agua es por medio del uso de la radiación solar, esta técnica se conoce como descontaminación de agua en unidades independientes (DSAUI) [10, 11]. Esta técnica consiste en la irradiación solar de agua contaminada contenida en botellas de plástico (recipientes de bebidas comerciales), obteniéndose al

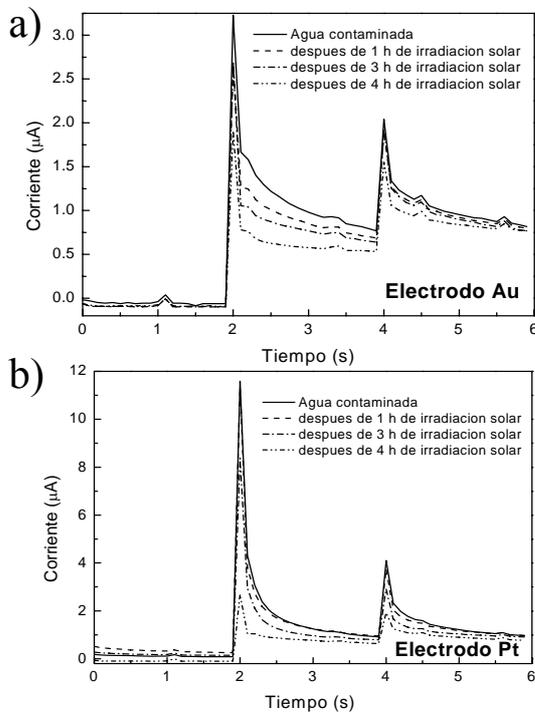
final del proceso agua apta para consumo humano.



**Figura 7:** a) La respuesta de corriente en función del tiempo para las muestras de agua contaminada para los electrodos de Au y Pt, y b) la gráfica de componentes principales para el electrodo de Au.

Para evaluar nuestro sistema desarrollado, empleamos agua del puquio de Choque, de Puente Piedra; que se encuentra contaminada con *E. coli*, y con bacterias del género *Pseudomonas sp.* Tres muestras de agua colocadas en botellas de polietileno-tereflatato (PET) de 500 mL fueron expuestas a la radiación solar durante 4 h (10 a.m a 2 p.m). Se supervisó el proceso de desinfección del agua contaminada cada hora y los resultados obtenidos con el sistema desarrollado se muestran en la Fig. 8. Se

observa que las muestras se pueden discriminar fácilmente, el prototipo puede monitorear el proceso de desinfección solar. La muestra inicial tenía  $42 \times 10^{-1}$  UFC/10 ml de *E. coli* y al cabo de 4 h de irradiación solar no tiene *E. coli*.



**Figura 8:** La respuesta de corriente en función del tiempo para las muestras de agua contaminada para los electrodos de Au (a) y Pt (b), sometidas diferentes tiempos de irradiación solar.

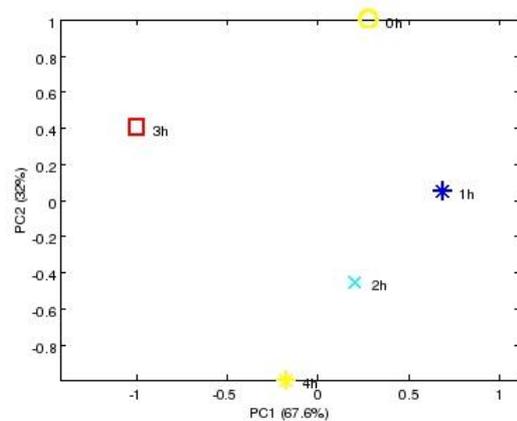
Una vez que el sistema ha sido optimizado con pruebas de laboratorio se procedió a realizar medidas en una zona rural, Yaurisque, Cusco. Las muestras de agua del río Yaurisque en botellas PET se expusieron al sol por 4 h. Se logró supervisar la desinfección del agua con el prototipo. Las muestras colectadas del río Yaurisque fueron analizadas microbiológicamente y muestran una gran contaminación de *E. coli* (ver Tabla 3). Estas disminuyen después de ser irradiadas con luz solar y después de 4 h presentan aun una pequeña cantidad de *E. coli*.

En la Figura 9 se muestra la respuesta típica de las muestras de agua del río inicialmente y después de ser irradiada con luz solar por 1h, 2h, 3 h, y 4h. Se puede distinguir las muestras pero no fácilmente. Para lo cual se realizó el análisis de componentes principales, el cual

ayuda a observar las diferencias que tienen las muestras de agua de río.

**Tabla 3:** Análisis microbiológico de las muestras de agua del río Yaurisque, Cusco.

Tiempo	UFC/10 ml
<b>Control inicial</b>	117 x 10 <i>E.coli</i> 190 x 10 <i>Pseudomonas sp.</i>
<b>T<sub>1</sub> 1 h</b>	60 x 10 <i>E. coli</i> 71 x 10 <i>Pseudomonas sp.</i>
<b>T<sub>2</sub> 2 h</b>	19 x 10 <i>E.coli</i>
<b>T<sub>3</sub> 3 h</b>	4 x 10 <i>E. coli</i> 4 x 10 <i>Pseudomonas</i>
<b>T<sub>4</sub> 4 h</b>	2 x 10 <i>E. coli</i>



**Figura 9:** Gráfica de componentes principales para el electrodo de Au de muestras de agua del río Yaurisque con diferentes tiempos de irradiación solar.

## 5. Conclusiones

El prototipo desarrollado ha logrado diferenciar diferentes muestras de agua contaminada con *E.coli*.

Se ha encontrado que las muestras de agua necesitan analizarse desde el punto de la voltametría cíclica para optimizar el potencial escalón adecuado.

El prototipo desarrollado puede usarse en zonas rurales, puesto que con una pequeña batería se puede alimentar todo el sistema, una medida toma de dos a tres minutos, así que se puede realizar una gran cantidad de medidas.

El potencióstato portátil es la componente más cara del sistema, así que esta parte será reemplazado por un potencióstato diseñado

con una tarjeta de adquisición usando el puerto USB.

## 6. Agradecimientos

Al CONCYTEC y al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería por la ayuda económica para la realización del trabajo.

## 7. Bibliografía

[1] Nollet LM. Editor. Handbook of Water Analysis (Food Science and Technology). New York, 2000.

[2] Winquist F, Wide P, Lundstrom I. An electronic tongue based on voltammetry. *Analytica Chimica Acta*. 1997; 357:21-31.

[3] Holmin S. Liquid sensing: Development and characterization of an electronic tongue based on electrochemical methods. [tesis Ph.D.] Universidad de Linköping University, Suecia, 2002.

[4] Winquist F, Krantz-Rülcker C, Wide P, Lundstrom I. Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on basis of voltammetry. *Measurement Science and Technology*. 1998; 9:1937-46.

[5] Comina G, Holmin S, Ivarsson P, Winquist F, Krantz-Rülcker C. COD monitoring of waste water using an electronic tongue. 2<sup>nd</sup> SENSPOL Workshop Response To New Pollution Challenges, King's College, London, UK. 4-7 June, 2002.

[6] Bard AJ, Faulkner LR. *Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications*. 2<sup>nd</sup>. Ed. New York: Wiley Text Books; 2000.

[7] Esbensen K. *Multivariate Data Analysis in Practice*. CAMO Process AS, 2001.

[8] Comina G, Solis J, Estrada W. Uso del análisis multivariado de datos y espectrometría de absorción UV-Visible para la determinación simultánea de la concentración de Co, Cu y Ni en una solución. *TECNIA*. 2004; 14(2):57-62.

[9] Comina G. Supervisión In-Situ y en tiempo real de una muestra líquida usando PCA-3D. *REVCUNI*. 2006; 10(1):18-22.

[10] Ollis DF, Al-Ekabi H. Editors. *Purification and Treatment of Water and Air*. Amsterdam: Elsevier; 1993.

[11] Galarza P, Sánchez E, Maurtua D, Rodríguez J, Solis J, Estrada W. Desinfección Solar de Aguas en Tambo Pariachi, Huaycán, Lima, Perú. En: Litter M, Mansilla H. Editors. *Desinfección Solar de Aguas en Comunidades Rurales de América Latina*, Informe Proyecto OEA AE 141/2001, Organización de Estados Americanos (AICD), marzo 2003.