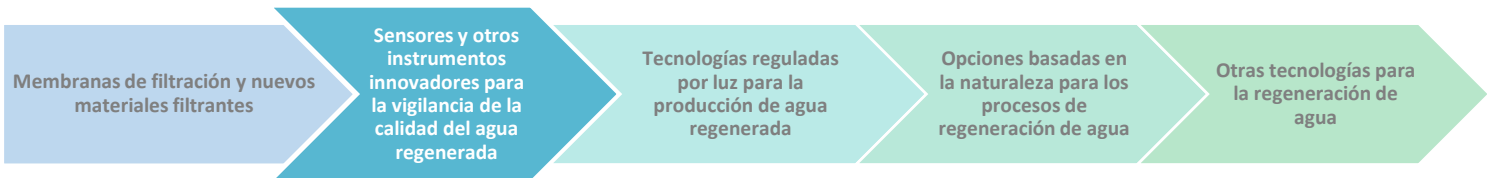




## Fact-sheet 4.2 – Sensores y otros instrumentos innovadores para la vigilancia de la calidad del agua regenerada: Cifras y datos



**SUWANU EUROPE** es un proyecto H2020 que tiene por objeto promover el intercambio eficaz de conocimientos, experiencias y aptitudes entre profesionales y agentes pertinentes para la utilización de agua regenerada en la agricultura. Esta fact-sheet es una de las 5 que integran el paquete formativo 4 dirigido a empresas de ingeniería hídrica. En ella se detallan diferentes innovaciones para detectar patógenos o el carbono orgánico disuelto. Para la medición de patógenos, se utilizará la citometría de flujo y para el carbono orgánico disuelto, un sensor de fluorescencia LED UV. Por último, se presenta la tecnología de próxima aparición

## INTRODUCCIÓN

### 1. Citometría de flujo

La mayoría de las bacterias transmitidas por el agua no son cultivables ni forman colonias en los medios de cultivo microbiológicos estándar disponibles. Por consiguiente, estas bacterias no son recogidas por métodos de detección basados en el cultivo. Entre los métodos independientes del cultivo, la citometría de flujo destaca por su rapidez y la reproducibilidad de los resultados con diferentes tipos de agua. Las concentraciones bacterianas pueden determinarse en 15 minutos y en un formato en línea. Además de la cuantificación pura, la tecnología permite la diferenciación entre las bacterias intactas (bacterias vivas) y las bacterias sin membrana íntegra (muertas/dañadas).

### 2. Sensor LED UV

La supervisión permanente y en línea de la materia orgánica disuelta (MOD) es una cuestión urgente para el futuro control inteligente y rentable durante el tratamiento del agua. Por otra parte, la supervisión frecuente del carbono orgánico disuelto (COD) y de los subproductos de desinfección (SPD) tóxicos es relativamente costosa en términos de tiempo y de dinero. Como resultado, muchos organismos destacan la necesidad de una supervisión sustitutiva del COD y la estimación del potencial de formación de SPD. Por lo tanto, es necesario desarrollar algún tipo de sensor barato, pequeño y de poco consumo de energía, pero con sensibilidad y que pueda proporcionar señales de retroalimentación en tiempo real para la optimización automática de los parámetros operativos y la estimación de la formación de SPD durante el tratamiento del agua. Las mediciones espectrales, incluidas señales de fluorescencia y absorbencia de UV que se asocian con MOD en masa, ofrecen soluciones particularmente prometedoras para la vigilancia frecuente en línea.

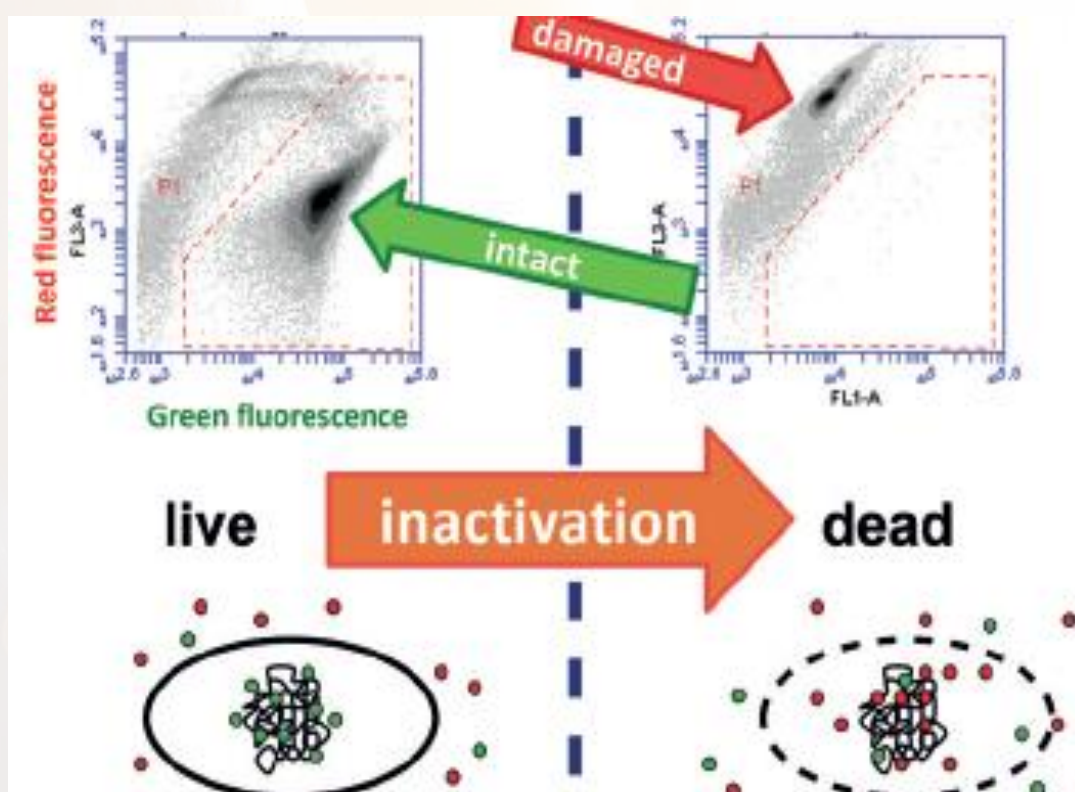
### 3. Próxima innovación

A pesar de todos los esfuerzos por desarrollar sistemas de supervisión en tiempo real, siguen faltando dispositivos robustos, continuos, precisos y verificables en tiempo real con un potencial probado para su aplicación en gran escala. Su aplicación generalizada se ha visto limitada por la imposibilidad de obtener de manera fiable datos precisos y rentables sobre la calidad del agua. Por otra parte, la mayoría de los sistemas de supervisión en línea desarrollados son adaptaciones directas de métodos analíticos tradicionales basados en el laboratorio que no se diseñaron originalmente para aplicaciones sobre el terreno. Además, deben operar en entornos extremos y variables, sin dejar de obtener resultados precisos y reproducibles. Por consiguiente, estos métodos requieren una calibración y un mantenimiento frecuentes y suelen consumir grandes cantidades de reactivos químicos. Además, los analizadores suelen sufrir respuestas cruzadas debido a las variaciones de matriz entre las normas y las muestras analizadas, ya que las condiciones de medición no están controladas. También hay importantes costes económicos y logísticos asociados con el mantenimiento del equipo a distancia, por la dificultad de detectar problemas como la formación de incrustaciones en los sensores.

# 1. CITOMETRÍA DE FLUJO

## 1.1. Tecnología

La integridad de la membrana de una célula es un criterio bien aceptado para caracterizar las células viables (activas o inactivas) y distinguirlas de las células dañadas y con la membrana no íntegra. Esta información es de gran importancia en los estudios de la función de los ensamblajes microbianos en los entornos naturales, a fin de asignar las actividades en masa medidas por diversos métodos a las células muy activas que son efectivamente responsables de las observaciones. El principio de este enfoque consiste en utilizar simultáneamente una sonda permeable (SYBR Green; sondas moleculares) y una sonda impermeable (yoduro de propidio), y en aprovechar la transferencia de energía que se produce entre ellas cuando ambas sondas están tiñendo ácidos nucleicos. Una neutralización completa de la fluorescencia de sonda permeable por la sonda impermeable señalará las células con una membrana no íntegra; una neutralización parcial señalará las células con una membrana levemente dañada, y la ausencia de neutralización será propia de células de membrana íntegra identificadas como viables.



**Figura 1:** Diagrama ejemplar de densidad de la citometría de flujo de una suspensión bacteriana con células de membrana vivas e íntegras (en el área de puntos rojos) o con células muertas con membrana dañada (fuera de la zona punteada) tras la coloración con dos tintes

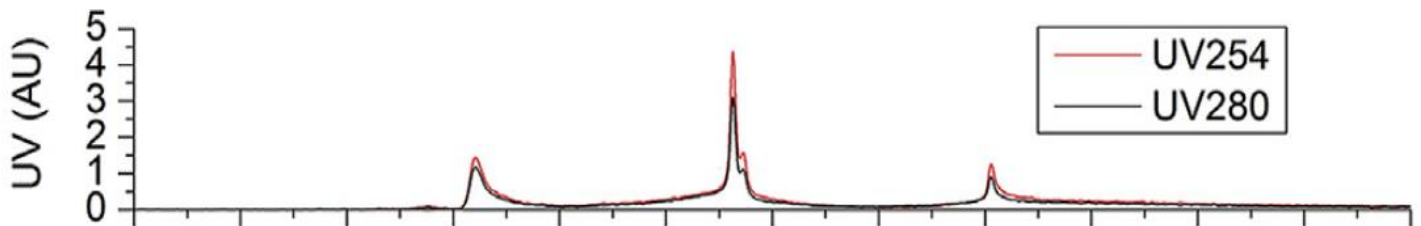
## 1.2. Aplicación en la regeneración de agua

Como en otros tipos de agua, la citometría de flujo ofrece una determinación rápida y fiable del número de células bacterianas en el ámbito de la supervisión de procesos de regeneración de agua. La detección no se basa en el cultivo de las bacterias, sino que se mide toda la población bacteriana en el agua, independientemente de sus requisitos de crecimiento. Mientras que las bacterias indicadoras de higiene tradicionales (como coliformes, enterococos intestinales o *Clostridium perfringens*) no suelen ser detectables tras la filtración por membrana y el recuento total de colonias tarda en estar disponible de 2 a 3 días, la citometría de flujo ofrece una base de datos sólida para la evaluación microbiológica de la eficiencia de las diferentes etapas del tratamiento del agua. El método es compatible con el concepto de "Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control" (APPCC), ya que la rápida detección de cambios en la microbiología constituye una buena base para las decisiones de control de procesos.

## 2. SENSOR DE FLUORESCENCIA LED UV

### 2.1. Tecnología

El sensor LED (que mide la absorbancia de UV280, la fluorescencia proteínica y la húmica simultáneamente) es capaz de supervisar cromóforos y fluoróforos con buenas sensibilidad y precisión. La cromatografía líquida con detector de carbono orgánico combinada con análisis de correlación 2D sincrónico demostró además que los componentes MOD de gran peso molecular se transformaban en pequeños residuos, conforme a la disminución de la fluorescencia de tipo húmico. Para la caracterización espectral de las muestras, se aplica una cromatografía de exclusión por tamaño de alto rendimiento con escaneos de fluorescencia multi UV y multi-emisión.



**Figura 2:** Imagen de un espectrofotómetro con diagrama que muestra los picos medidos en UV254 y UV280

### 2.2. Aplicación en la regeneración de agua

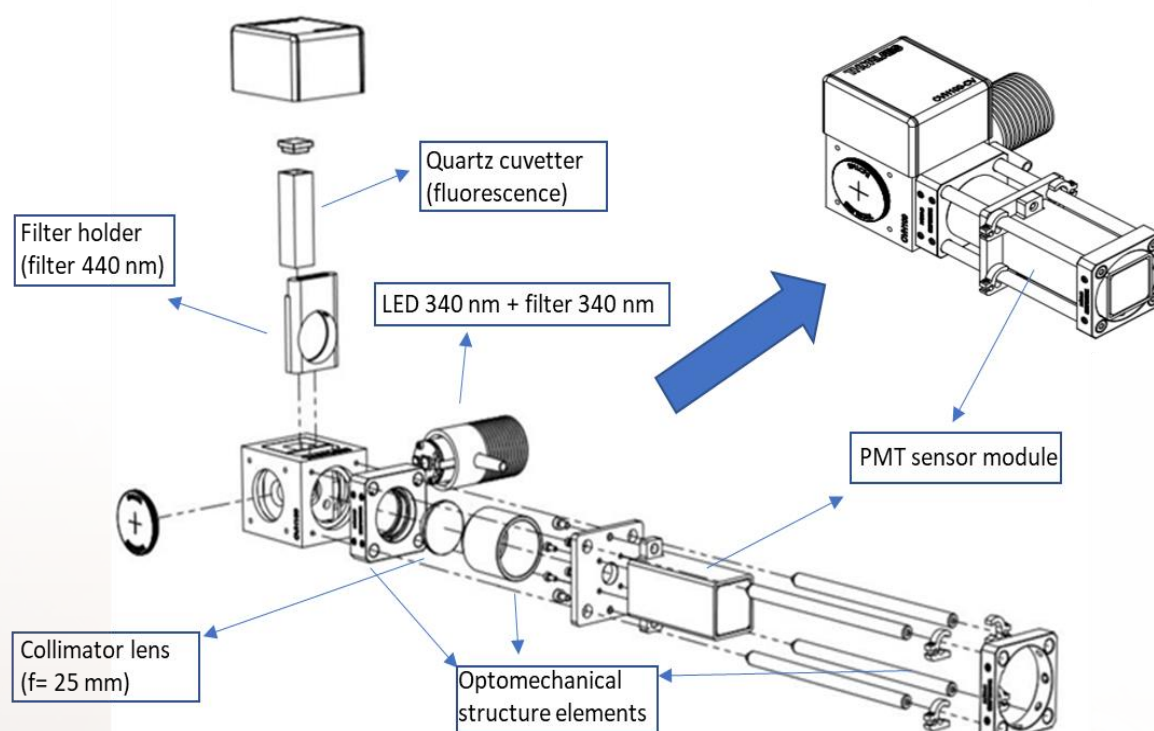
La cloración es la práctica de desinfección más utilizada durante el tratamiento del agua, porque es eficaz contra la mayoría de los patógenos y proporciona una capacidad de desinfección residual. Sin embargo, es inevitable la formación de subproductos de desinfección (SPD) tóxicos, debido a las reacciones entre cloro y la materia orgánica natural (MON), lo que ha causado problemas graves de salud pública. Muchos estudios sugieren que los SPD son citotóxicos y genotóxicos, y la exposición crónica a los SPD se asocia con el cáncer de vejiga y colon en el ser humano. La capacidad de detección de estos productos con un sensor de fluorescencia LED UV podría reducir la concentración de estos productos en el momento del tratamiento.



### 3. PRÓXIMA INNOVACIÓN

#### 3.1. Tecnología

En el caso particular de la detección de patógenos en el agua, la perspectiva es prometedora para los sensores fotónicos, que mejoran la detección biológica aprovechando la propiedad de fluorescencia natural de algunas bacterias, como *Escherichia coli*. El sensor de patógenos propuesto por el AIMEN pretende detectar la fluorescencia natural de las bacterias en una muestra de agua real con mediciones in situ. Un estudio minucioso con muestras de agua reales marcará la diferencia con el estado actual de la técnica en este ámbito. Este sensor no dará una cuantificación precisa de *E. coli*, pero realizará una supervisión que puede establecer una estimación de la presencia de patógenos. Esto debe entenderse como un sistema de alarma temprana, que implicaría la necesidad de más análisis de laboratorio para confirmar la presencia y UFC de patógenos en el agua. Tampoco es muy específico, pero no requiere tratamiento de agua ni reactivos, funcionalización ni pretratamiento de muestras, lo que lo hace más barato y fácil de manejar.



**Figura 3:** Configuración del sensor PMT sugerida por AIMEN para las mediciones de fluorescencia de *E. Coli*

#### 3.2. Aplicación en la regeneración de agua

Se han diseñado algunos sensores para medir directamente la fluorescencia natural de estas bacterias en condiciones reales sin tratamiento de muestras y mediante sistemas de circulación de agua para reproducir una solución de supervisión del agua en línea. Sin embargo, no existe ningún informe de que alguno de estos sensores se utilice en sitios reales ni de que supervise muestras reales de agua de plantas de tratamiento de agua. Con todo, con el sensor de patógenos propuesto por AIMEN, este sensor sería un dispositivo de supervisión en línea en tiempo real, con la medición continua de la emisión de fluorescencia en una derivación en la planta de tratamiento de aguas. Si el sensor funciona correctamente, será un gran avance en la supervisión de muestras de agua real fuera de las condiciones de laboratorio, sin tratamiento de muestras, adición de reactivos ni costosos dispositivos.

## 5. Referencias

- Dartnell, L. (2013). Fluorescence characterization of clinically-important bacteria. PloS one vol. 8,9.
- Edberg, S. (2000). Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. J. Appl. Microbiol., 88, 106S-116S.
- Hesari, N. (2016). A biosensor platform for rapid detection of E. coli in drinking water. Enzyme and Microbial Technology vol. 83, pp. 22-28.
- Hongying, Z. (2012). Quantum dot enabled detection of Escherichia coli using a cell-phone. The Analyst vol. 137.
- Kilungo, A. (2013). Continuous Real-time Detection of Microbial Contamination in Water using Intrinsic Fluorescence. doi: 10.4172/2155-6210.S12-002. J Biosens Bioelectron S12:002.
- Li, W. T., Jin, J., Li, Q., Wu, C. F., Lu, H., Zhou, Q., y Li, A. M. (2016). Developing LED UV fluorescence sensors for online monitoring DOM and predicting DBPs formation potential during water treatment. Water research, 93, 1-9.
- Simões, J. (2018). Continuous and Real-Time Detection of Drinking-Water Pathogens with a Low-Cost Fluorescent Optofluidic Sensor. Sensors (Basilea, Suiza) vol. 18,7 2210.
- Wildeboer, D. (2010). Rapid detection of Escherichia coli in water using a hand-held fluorescence detector. Water Research vol. 44, pp. 2621-2628.
- Zulkifli, N. (2018). Detection of contaminants in water supply State-of-the-art monitoring technologies and their applications. Sensors and Actuators B 255 (2018), 2657–2689.



### CONTACTOS:

#### Coordinador

Rafael Casielles (BIOAZUL SL)  
Avenida Manuel Agustin Heredia n.º 18 1ª 4 Málaga (ESPAÑA)  
Correo electrónico | [info@suwanu-europe.eu](mailto:info@suwanu-europe.eu)  
Página web | [www.suwanu-europe.eu](http://www.suwanu-europe.eu)

### CONTACTOS:

#### Responsable de la fact-sheet

Andrés Acosta (TTZ Bremerhaven)  
Am Ludeneich 12 27572 Bremerhaven (ALEMANIA)  
Página web | <https://www.ttz-bremerhaven.de/de/>



THIS PROJECT HAS RECEIVED FUNDING FROM  
THE EUROPEAN UNION' HORIZON 2020 RESEARCH  
AND INNOVATION PROGRAMME  
UNDER GRANT AGREEMENT N. 818088

