

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**



**“ALTERACIONES DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL
AGUA ALMACENADA EN TANQUES DE CONEXIONES
DOMICILIARIAS, ABASTECIDOS CON AGUA POTABLE DE
SEDAPAL”**

Presentada por:

ALEXANDER JACINTO HERRERA MANRIQUE

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Lima - Perú

2020

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**“ALTERACIONES DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL
AGUA ALMACENADA EN TANQUES DE CONEXIONES
DOMICILIARIAS, ABASTECIDOS CON AGUA POTABLE DE
SEDAPAL”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

ALEXANDER JACINTO HERRERA MANRIQUE

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg.Sc. Zulema Quinteros Carlos
PRESIDENTE

Mg.Sc. Rosa María Miglio Toledo
PATROCINADORA

Dra. Rosemary Vela Cardich
MIEMBRO

Dr. Víctor Meza Contreras
MIEMBRO

DEDICATORIA

A mis hijas Grisel y Alisson

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento infinito a mis padres Jacinto y Fortunata, por brindarme una formación integral mediante el cual logré superar las adversidades.

Agradezco a la Ing. Rosa María Miglio Toledo, por haberme orientado en las diferentes etapas de la investigación.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN DE LITERATURA	04
2.1. El agua potable	04
2.2. Mecanismo de acción del cloro sobre los microorganismos.....	11
2.3 Temperatura	16
2.4. Sistemas de distribución de agua para consumo humano	16
2.5. Ecología microbiana	19
2.6. Condiciones que favorecen el crecimiento bacteriano en el sistema de distribución de agua potable	21
2.7. Biopelículas.....	21
2.8. Tanques de almacenamiento agua.....	25
2.9. Metodologías para el recuento de bacterias heterótrofas	28
2.10. Sistema de agua potable.....	30
2.11. Pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas.....	31
2.12. Poblaciones independientes.....	32
2.13. Prueba de Kolmogrov-Smirnov para dos muestras	32
2.14. Prueba de T de Student para muestras independientes	33
III. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. Alteraciones de la calidad bacteriológica del agua almacenada en tanques de conexiones domiciliarias.....	35
3.2. Evaluación de la eficacia de dos métodos de desinfección en tanques de almacenamiento.....	39
3.3. Planteamiento de hipótesis	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1. Recuento de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección periódica	42

4.2. Recuento de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección	45
4.3. Recuento de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por un tanque de almacenamiento	52
4.4. Número de coliformes totales en tanques de almacenamiento de agua potable, sometidos a dos métodos de desinfección.....	56
4.5. Resultados de las mediciones fisicoquímicas	57
V. CONCLUSIONES	63
VI. RECOMENDACIONES	65
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

ÍNDICE DE CUADROS

	Contenido	Pág.
Cuadro 1	Límites máximos permisibles de parámetros de calidad organoléptica del agua para consumo humano.....	7
Cuadro 2	Límites máximos permisibles de parámetros microbiológicos y parasitológicos del agua para consumo humano.....	11
Cuadro 3	Límites máximos permisibles de parámetros químicos inorgánicos y orgánicos	16
Cuadro 4	Promedio de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección.....	42
Cuadro 5	Promedio de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección.....	46
Cuadro 6	Promedio de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por un tanque de almacenamiento.....	52
Cuadro 7	Número de coliformes totales (UFC/100 cm ²), en tanques sometidos a dos métodos de desinfección.....	56
Cuadro 8	Promedio de pH, conductividad, sólidos totales disueltos y temperatura en tanques sin limpieza y desinfección.....	58
Cuadro 9	Promedio de pH, conductividad, sólidos totales disueltos y temperatura en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	Contenido	Pág.
Figura 1	Comportamiento de las fracciones del ácido hipocloroso respecto a variaciones de pH.....	14
Figura 2	Proceso de crecimiento bacteriano sobre las paredes de las tuberías y las partículas suspendidas, adaptado por Miranda y Sahuquillo, 1997.....	25
Figura 3	Concentración de ATP y recuentos bacterianos en agar extracto de levadura a 22 y 37°C, en agua saliendo del tanque.....	27
Figura 4	Instalación indirecta de tanque de almacenamiento de agua.....	34
Figura 5	Promedio del recuento de bacterias heterótrofos y promedio de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección.....	44
Figura 6	Promedio del recuento de coliformes totales y promedio de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección.....	45
Figura 7	Promedio del recuento de heterótrofos y promedio de cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección.....	47
Figura 8	Promedio del recuento de heterótrofos en tanques sin limpieza y desinfección..	49
Figura 9	Promedio de coliformes totales y promedio de la concentración de cloro residual libre en muestras de agua provenientes de tanques sin limpieza y desinfección.....	50
Figura 10	Promedio del recuento de heterótrofos y concentración de cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento.....	53
Figura 11	Promedio del recuento de coliformes totales y concentración de cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento....	55
Figura 12	Promedio del pH de muestras provenientes de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento.....	60
Figura 13	Promedio de Sólidos Totales Disueltos de muestras provenientes de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento.....	61
Figura 14	Promedio de conductividad de muestras de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento.....	61
Figura 15	Promedio de la temperatura en muestras provenientes de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento...	62

ÍNDICE DE ANEXOS

	Contenido	Pág.
Anexo 1	Análisis de normalidad de las variables.....	75
Anexo 2	Comparación de medias según el recuento de bacterias heterótrofas usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes...	76
Anexo 3	Comparación de medias según el recuento de bacterias heterótrofas usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes.....	77
Anexo 4	Comparación de medias según el recuento de bacterias heterótrofas usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes...	78
Anexo 5	Prueba de comparación de medias según la concentración de cloro residual libre, usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes.....	79
Anexo 6	Localización de la línea de conducción de agua potable donde se desarrolló el estudio.....	80
Anexo 7	Promedio del recuento de heterótrofos en tanques con limpieza y desinfección, sin limpieza y desinfección y muestras de agua que no atraviesan por tanques de agua del 14 de marzo del 2015 al 26 de marzo del 2016.....	81
Anexo 8	Promedio de la concentración de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección, sin limpieza y desinfección y muestras de agua que no atraviesan por tanques de agua del 14 de marzo del 2015 al 26 de marzo del 2016.....	82
Anexo 9	Informe de ensayo de muestras de agua provenientes de tanques sin limpieza y desinfección al inicio del experimento usando Agar Plate Count.....	83
Anexo 10	Número de bacterias heterótrofas y concentración de cloro residual libre, en tanques con limpieza y desinfección del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016.....	84
Anexo 11	Número de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016...	85
Anexo 12	Número de bacterias heterótrofas, en muestras de agua que no atraviesan por un tanque de almacenamiento, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016.....	86
Anexo 13	Número de coliformes totales, en muestras de agua provenientes de tanques de almacenamiento con limpieza y desinfección periódica, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016.....	87
Anexo 14	Número de coliformes totales, en muestras de agua provenientes de tanques de almacenamiento sin limpieza y desinfección, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016.....	88
Anexo 15	Número de bacterias coliformes totales, en muestras de agua	

	que no atraviesan por tanques de almacenamiento de agua, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016.....	89
Anexo 16	Certificado de calibración del equipo medidor de cloro libre.....	90
Anexo 17	Certificado de calibración de medidor de PH/CE/TEMP/SDT.....	91
Anexo 18	Certificado de calibración del equipo medidor de cloro libre.....	93
Anexo 19	Imágenes de diferentes procesos del desarrollo de la investigación.....	94

RESUMEN

El incremento poblacional y crecimiento vertical de las ciudades, condicionan la necesidad de implementar viviendas con tanques de almacenamiento de agua potable. Los objetivos de esta investigación fueron determinar las alteraciones bacteriológicas y la eficacia de dos métodos de desinfección para tanques domiciliarios. Esta investigación se desarrolló en un sector de Villa María del Triunfo en la ciudad de Lima, donde el agua es administrada por la empresa SEDAPAL. Los tratamientos fueron cinco tanques con limpieza y desinfección; cinco sin limpieza y desinfección, y tres viviendas sin tanques de almacenamiento, constituyeron los tratamientos que proporcionaron las muestras de agua, tomadas con frecuencia de 14 días, durante 13 meses (marzo 2015 - marzo 2016). Aplicando los métodos adecuados se hizo el recuento de bacterias heterótrofas, coliformes totales y la determinación del cloro residual libre. La prueba estadística T de Student para muestras independientes, se usó para validar los resultados. Se concluye que el promedio de bacterias heterótrofas es significativamente mayor en las muestras de tanques sin limpieza y desinfección. De la misma forma 68 por ciento de estas muestras presentaron concentraciones de cloro residual libre por debajo de 0,5 ppm. Se confirmó que presencia de tanques de almacenamiento de agua en las viviendas, alteran la calidad de la misma. Se determinó que después de 189 días, la concentración de bacterias heterótrofas supera los valores que especifica la normativa, esto implica que el mantenimiento en los tanques debe hacerse cada seis meses. Las muestras tomadas en las viviendas sin tanques de almacenamiento avalan la buena calidad del agua, entregada por SEDAPAL a los usuarios, cumpliendo así con lo estipulado en la normativa vigente.

Palabras claves: Coliformes totales; bacterias heterótrofas; cloro residual; agua potable; calidad bacteriológica.

ABSTRACT

The increase in population and vertical growth of the cities, conditions the need to implement houses with potable water storage tanks. The objectives of this research was to determine the bacteriological alterations and the effectiveness of two methods of disinfection for residential water tanks. These investigation was developed in a sector of Villa Maria del Triunfo in the city of Lima, where the water is administrated by SEDAPAL. The treatments were: Five tanks cleaned and disinfected; five without cleaning and disinfection, and water from the pipeline of three houses without storage tanks. These treatments provided the water samples, taken with a frequency of 14 days, during 13 months (March 2015 - March 2016). By applying the appropriate methods, according to the standards of water quality; heterotrophic bacteria, total coliforms and the determination of free residual chlorine were counted. The statistical T Student test for independent samples was used to validate the results. It is concluded that the average of heterotrophic bacteria is significantly higher in the tanks without cleaning and disinfection. In the same way, 68 percent of these samples showed concentrations of free residual chlorine below 0.5 ppm, which is below the parameters stablished by the standards. It was confirmed that the presence of water storage tanks in the houses, changes the quality of the water. It was determined also that after 189 days, the concentration of heterotrophic bacteria exceeds the values specified in the local regulations, this means that the maintenance in the water tanks must be done every six months. The samples taken in the pipelines of houses without storage tanks guarantees the good quality of the water delivered by SEDAPAL to the users, thus accomplishing what is stipulated in the current local regulations.

Key words: Total coliforms; heterotrophic bacteria; residual chlorine; drinking water; bacteriological quality.

I. INTRODUCCIÓN

El agua es esencial para los ecosistemas, un adecuado uso, distribución y gestión traerá como beneficio una apropiada interacción entre la sociedad y el ambiente, así como también la prosperidad, la salud y el bienestar social.

La importancia del agua para consumo humano, ha sido descrita en los acuerdos internacionales a fin de garantizar su disponibilidad, uno de estos compromisos son los Objetivos de Desarrollo Sostenible para el 2030. Siendo el sexto objetivo, el de garantizar la disponibilidad de agua, su gestión sostenible y el saneamiento para todos; el mismo que tiene como una de sus metas, mejorar la calidad del agua reduciendo la contaminación, con el fin de conseguir un futuro sostenible (CEPAL 2018).

Uno de los métodos más usados para la desinfección del agua es la cloración, método que ha permitido disminuir los brotes de enfermedades relacionadas al agua de consumo humano (The National Academies Press 1980).

Una insuficiente concentración de cloro residual libre durante la desinfección, permitirá encontrar elevadas cantidades de bacterias en algún lugar del sistema de distribución. La concentración de cloro residual varía espacial y temporalmente en el sistema de distribución (Characklis 1988).

La concentración de cloro residual libre es insuficiente para controlar el crecimiento de coliformes. Se necesita mayor investigación para identificar las maneras de controlar el crecimiento de bacterias coliformes en los suministros de agua potable y mejorar la desinfección de biopelículas en las redes de distribución (LeChevallier *et al.* 1987).

La composición química de los materiales en contacto con el agua es un factor determinante en el desarrollo de las biopelículas, Roger *et al.* (1994) realizaron un estudio

a fin de determinar los materiales que favorecen el desarrollo de biopelículas, dentro de los materiales de plástico, el polietileno parecía ser más colonizado con una microflora recuperable de $2,75 \times 10^6$ UFC/cm².

En el Perú las empresas prestadoras de servicios de saneamiento (EPS) someten el agua a una serie de procesos a fin de purificarla y ofrecerla en buenas condiciones sanitarias. Luego de potabilizarla, la entregan conforme a lo establecido en el reglamento de la calidad del agua para consumo humano. Sin embargo, la falta de mantenimiento en las instalaciones domiciliarias podría afectar la calidad del agua, siendo esta situación responsabilidad directa del usuario o propietario de la vivienda (Resolución de Consejo Directivo SEDAPAL N° 011 2007).

Montoya *et al.* (2012), indican que los tanques de almacenamiento de agua en la red de distribución se comportan como reactores, esto pueden implicar riesgos en la salud de los usuarios, ya que se asocia a diversos problemas como disminución del desinfectante, contaminación química, formación de subproductos de la desinfección, generación de olor y sabor en el agua, crecimiento microbiano en la estructura y en la masa de agua; todos ellos asociados a deficiencias hidráulicas ocasionadas por determinados patrones de flujo que afectan los tiempos de retención hidráulica, especialmente en aguas con alto contenido de carga orgánica y/o altas temperaturas.

Durante el almacenamiento de agua potable, el cloro residual disminuye y eventualmente se expande la contaminación biológica (Montoya *et al.* 2012).

La inadecuada planificación urbana, el crecimiento poblacional, la sobreexplotación y contaminación del recurso, disminuyen la disponibilidad del agua, favoreciendo la instalación de tanques de almacenamiento de agua potable a nivel domiciliario.

Un tanque de almacenamiento de agua potable correctamente diseñado, instalado y mantenido, debe ser capaz de proporcionar agua segura durante el tiempo que el agua permanece almacenada. La falta de inspecciones y mantenimiento inadecuado pueden plantear riesgos de salud y seguridad a los consumidores, aumentando el peligro de

contaminación del agua y/o deterioro de la calidad del agua durante el almacenamiento. El trabajo de investigación se desarrolló en viviendas con tanques de almacenamiento de agua ubicados en el distrito de Villa María del Triunfo. Las viviendas seleccionadas pertenecían a un tramo de la línea de conducción de agua potable de la empresa SEDAPAL, solo se admitieron viviendas que presentaban instalaciones sanitarias adecuadas (sin fugas de agua), los tanques seleccionados fueron de material polietileno de 1100 litros de capacidad en buen estado de conservación. Para el desarrollo del trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- a. Evaluar las alteraciones en el crecimiento de bacterias heterótrofas del agua potable almacenada en tanques elevados domiciliarios.
- b. Evaluar las alteraciones en el crecimiento de bacterias coliformes totales del agua potable almacenada en tanques elevados domiciliarios.
- c. Establecer las variaciones en la concentración de cloro residual libre como consecuencia del almacenamiento del agua en tanques domiciliarios.
- d. Evaluar la eficacia de dos métodos de desinfección de tanques de almacenamiento de agua para consumo humano.
- e. Establecer el tiempo adecuado para realizar la limpieza y desinfección de tanques elevados de agua potable.
- f. Establecer alteraciones en el pH, conductividad, temperatura y sólidos totales disueltos, como consecuencia del almacenamiento de agua en tanques elevados.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. EL AGUA POTABLE

El agua potable es uno de los recursos más importantes para la sociedad; en la producción de esta, se selecciona una combinación de procesos de tratamiento para la reducción y/o eliminación de los contaminantes que se encuentran en el agua cruda. Estos procesos incluyen procedimientos como la coagulación, floculación, filtración, y desinfección. La desinfección implica típicamente la adición de cloro para asegurar la eliminación de patógenos. Sin embargo, después de la desinfección, las bacterias restantes liberadas en el sistema de distribución de agua potable, pueden interactuar con las poblaciones microbianas de la red de distribución, donde se llevan a cabo procesos como el crecimiento de biopelículas, nitrificación y biocorrosión (Poitelon *et al.* 2010).

En los últimos 30 años el sector de agua potable y saneamiento de América Latina ha experimentado reformas sucesivas y de diferente naturaleza a pesar de que el sector de agua potable y saneamiento ha sido objeto de profundas reformas. La región en su conjunto presenta aún importantes déficits. La mayor parte de los países se encuentran lejos de alcanzar la universalidad de los servicios de agua potable y saneamiento, en algunos casos también restan esfuerzos para proveer agua potable y niveles de calidad de prestación apropiados (Lentini 2011).

En los distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco se tenía una continuidad promedio de 13,7 horas de servicio de agua potable en el 2002, situación que constituía un factor de riesgo para el deterioro de la calidad del agua a nivel domiciliario (Marchand 2002). Cifras más actuales indican un incremento del promedio de horas de servicio de agua potable en Lima Metropolitana, Provincia Constitucional del Callao, Punta Hermosa, Punta Negra, Pucusana y San Bartolo: 21,72; 21,74 y 21,89 horas, en los años 2010, 2011 y 2012, respectivamente (SUNASS 2016).

Es necesario mantener una concentración adecuada del desinfectante para limitar el nuevo crecimiento de bacterias en los sistemas de distribución de agua potable. Sin embargo, es posible identificar un nuevo crecimiento de bacterias (Propato y Uber 2004).

2.1.1 Parámetros de control del agua potable basado en el reglamento de la calidad del Agua para consumo humano (Decreto Supremo N° 031 2010)

2.1.1.1 Parámetros de calidad organoléptica

- **pH**

La concentración molar de H^+ (ac) en una disolución acuosa es por lo común muy pequeña. En consecuencia, y por comodidad, $[H^+]$ se expresa habitualmente en términos del pH, que es el logaritmo negativo de base 10 de $[H^+]$ (Brown *et al.* 2004).

El reglamento de la calidad del agua para consumo humano establece un límite máximo permisible para el pH de 6,5 a 8,5; como se muestra en la Cuadro 1.

- **Conductividad**

La conductividad es una medida de la capacidad de una solución acuosa para transportar corriente eléctrica. Esta capacidad depende de la presencia de iones disueltos, sus concentraciones absolutas y relativas, su movilidad, su valencia, temperatura y la viscosidad de la solución. Este parámetro sirve para estimar el contenido total de constituyentes iónicos. La medición física practicada en una determinación en el laboratorio suele ser de resistencia medida en ohmios. En el Sistema Internacional de Unidades el recíproco del ohmio es el siemens (S) y la conductividad se expresa en mS/m, siendo la correspondencia $1 \text{ mS/m} = 10 \text{ mmhos/cm}$. La salinidad que es adimensional, se concibió inicialmente como la determinación de la masa de sales disueltas en una masa de solución, pero esta determinación experimental mediante desecación, presenta dificultades a causa de las pérdidas de algunos componentes. La única manera real de determinar la salinidad real o absoluta de un agua natural es realizar un costoso análisis químico completo, cuya precisión no siempre es satisfactoria. Así, se optó por determinarla

indirectamente a través de diferentes métodos, entre ellos, la conductividad. Este presenta la mayor precisión, pero responde sólo a solutos iónicos (Severiche *et al.* 2013).

El reglamento de la calidad del agua para consumo humano establece un límite máximo permisible para la conductividad de 1500 mho/cm a 25 °C, como se ve en el Cuadro 1.

- **Sólidos Totales Disueltos**

Los sólidos disueltos totales (SDT) comprenden las sales inorgánicas (principalmente de calcio, magnesio, potasio y sodio, bicarbonatos, cloruros y sulfatos) y pequeñas cantidades de materia orgánica que están disueltas en el agua. Los SDT presentes en el agua de consumo proceden de fuentes naturales, aguas residuales, escorrentía urbana y aguas residuales industriales. Las sales empleadas en algunos países para eliminar el hielo de las carreteras también contribuyen a aumentar el contenido de SDT en el agua de consumo. Debido a las diferentes solubilidades de diferentes minerales, las concentraciones de SDT en el agua varían considerablemente de unas zonas geológicas a otras (World Health Organization 2003).

No se dispone de datos fiables sobre posibles efectos para la salud asociados a la ingestión de SDT presentes en el agua de consumo y no se propone ningún valor de referencia basado en efectos sobre la salud. No obstante, la presencia de concentraciones altas de SDT en el agua de consumo puede resultar desagradable para los consumidores (OMS 2006).

El reglamento de la calidad del agua para consumo humano establece un límite máximo permisible para sólidos totales disueltos de 1000 mg/l, como se muestra en el Cuadro 1.

2.1.1.2 Parámetros microbiológicos

- **Bacterias heterótrofas**

El término "bacterias heterótrofas" incluye todas las bacterias que utilizan nutrientes orgánicos para el crecimiento. Estas bacterias están presentes en todos los tipos de agua,

los alimentos, el suelo, la vegetación y el aire. Bajo esta amplia definición también se incluyen a los coliformes (Allen *et al.* 2004).

Cuadro 1: Límites máximos permisibles de parámetros de calidad organoléptica del agua para consumo humano

N°	Parámetros	Unidad de medida	Límite máximo permisible
1	Olor	Aceptable
2	Sabor	Aceptable
3	Color	UCV escala Pt/Co	15
4	Turbiedad	UNT	5
5	pH	Valor de pH	6,5 a 8,5
6	Conductividad (25°C)	umho/cm	1 500
7	Sólidos totales disueltos	mgL ⁻¹	1 000
8	Cloruros	mg Cl-L ⁻¹	250
9	Sulfatos	mg SO ₄ = L ⁻¹	250
10	Dureza total	mg CaCO ₃ L ⁻¹	500
11	Amoníaco	mg N L ⁻¹	1,5
12	Hierro	mg Fe L ⁻¹	0,3
13	Manganeso	mg Mn L ⁻¹	0,4
14	Aluminio	mg Al L ⁻¹	0,2
15	Cobre	mg Cu L ⁻¹	2
16	Zinc	mg Zn L ⁻¹	3
17	Sodio	mg Na L ⁻¹	200

UCV = Unidad de color verdadero UNT = Unidad nefelométrica de turbiedad

FUENTE: Decreto Supremo N° 031 (2010)

Los géneros aislados por cualquier método de recuento de heterótrofos son muy variables, ya que el medio de cultivo seleccionado, la temperatura de incubación, el tiempo de incubación, el origen de la muestra, la estación del año y la edad de la muestra de agua; tienen un efecto significativo sobre los géneros que crecerán en condiciones seleccionadas (Allen *et al.* 2004).

El agua que no tiene desinfectante residual puede tener poblaciones de bacterias heterótrofas mucho más altas. Mientras que una población máxima de bacterias

heterótrofas de 500 UFC/ml en el agua potable es a menudo usada como un estándar basado en la salud, esta percepción es errónea y no se basa en hechos reales (Allen *et al.* 2004).

El riesgo de recontaminación del agua en la red de distribución se incrementa con el tiempo de almacenamiento en los depósitos, la edad del depósito, la edad de las tuberías de distribución y las interrupciones de flujo. Para compensar los riesgos de recontaminación los investigadores recomiendan que el agua tratada debe abandonar el tanque de tratamiento con un nivel de cloro residual de al menos 1,0 mg/l, y la concentración de cloro debe mantenerse entre 0,2 y 0,5 mg/l en toda la red de distribución de agua. En épocas de lluvia los riesgos de recontaminación son mayores, por lo que se recomienda mantener concentraciones de cloro mayor o igual a 0,5 mg/l en todo el sistema de distribución de agua (Ecura *et al.* 2011).

Christensen *et al.* (2014) estudiaron dos tanques abastecidos con agua subterránea en Dinamarca, realizaron muestreos para investigar la calidad del agua microbiana antes, durante y después de la limpieza de los tanques. Los recuentos bacterianos en agar extracto de levadura, a 22°C, aumentaron ligeramente después de la limpieza de los tanques, pero no excedieron los valores recomendados en ningún punto durante las investigaciones. Inmediatamente después del inicio de funcionamiento se midió un máximo de 10 UFC/ml (Unidades Formadoras de Colonias) en ambos tanques, y después de menos de 24 horas las concentraciones fueron inferiores a 1 UFC/ml en ambos tanques. Las bajas concentraciones se mantuvieron los días siguientes.

La limpieza de un sistema de distribución de la ciudad de Wellington en New Jersey, no controló el hallazgo de bacterias heterótrofas, después de una semana de realizada la limpieza las bacterias heterótrofas volvieron a los niveles de pre - limpieza (LeChevallier *et al.* 1987).

El reglamento de la calidad del agua para consumo humano establece un límite máximo permisible para bacterias heterótrofas de 500 UFC/ml a 35°C (Cuadro 2).

- **Bacterias coliformes totales**

Las bacterias coliformes están presentes en el medio ambiente y las heces de todos los animales de sangre caliente. Las bacterias coliformes son poco probable que causen enfermedades. Sin embargo, su presencia en el agua potable indica que los organismos causantes de enfermedades (patógenos) podrían estar en el sistema de agua. La mayoría de los agentes patógenos que pueden contaminar los suministros de agua provienen de las heces de humanos o animales (Washington State Department of Health 2016).

Las pruebas para determinar posibles patógenos en el agua potable tienen cierta complejidad, consumen tiempo y tienen costos elevados. Sin embargo, detectar bacterias coliformes resulta sencillo y barato. Si la prueba detecta bacterias coliformes en una muestra de agua, resulta necesario buscar la fuente de contaminación (Washington State Department of Health 2016).

Hay tres grupos de bacterias coliformes, cada uno es un indicador de la calidad del agua potable y tiene un diferente nivel de riesgo; los coliformes totales son una colección de diferentes tipos de bacterias. Los coliformes fecales son tipos de coliformes totales que existen en las heces y *E. coli* es un subgrupo de coliformes fecales (Washington State Department of Health 2016).

Las bacterias coliformes totales son comunes en el medio ambiente y generalmente son inofensivas. Si se detecta sólo las bacterias coliformes totales en el agua potable, la fuente es probablemente el medio ambiente y la contaminación fecal es poco probable. Las bacterias coliformes fecales son un subgrupo de bacterias coliformes totales. Existen en los intestinos y heces de personas y animales (Washington State Department of Health 2016). El empleo de los organismos coliformes como grupo indicador de contaminación fecal en el agua, se fundamenta en el hecho de encontrarse presentes en el intestino y en las heces de los animales de sangre caliente, en mayor número que las bacterias patógenas, siendo incapaces de multiplicarse en aguas limpias. Su presencia no indica obligatoriamente la existencia de patógenos en el agua, más bien representa una medida de la posibilidad de que existan patógenos en el agua en el momento de efectuarse el muestreo (Márquez *et al.* 1994).

Escherichia coli es un subgrupo del grupo de coliformes fecales. La mayoría de las bacterias *E. coli* son inofensivas y existen en los intestinos de las personas y de los animales de sangre caliente. Sin embargo, algunas cepas pueden causar enfermedades. (Washington State Department of Health 2016).

Durante el estudio de los sistemas de distribución de Salem y Beverly en Massachusetts, se encontró que la frecuencia de aislamiento de coliformes era independiente de la cantidad de cloro residual libre en la muestra al momento de recolección. La frecuencia de aislamiento de coliformes no disminuyó significativamente, a pesar del menor número de muestras tomadas en cada aumento del nivel de cloro residual libre en la muestra al momento de la recolección (Reilly y Kippin 1982).

LeChevallier *et al.* (1987) reportaron que las células de *E. coli* recubiertas con polisacárido extracelular unidos a partículas de carbón activado no mostraron lesiones, incluso cuando se expone a 2,0 mg/l de cloro libre durante 60 minutos.

La encapsulación es vital para la supervivencia de las bacterias en un ambiente natural, ya que la cubierta capsular recoge material útil e impide los efectos de iones y moléculas peligrosas en el ambiente. La implicancia es clara: la densa capa polisacárida establece una barrera no sólo física sino también química, capaz de proteger a las bacterias de las moléculas e iones de cloro libre. Con la "neutralización" del cloro libre, se convierte en un medio adecuado para la supervivencia y crecimiento de microorganismos (Reilly y Kippin 1982).

Podría producirse agua de la mejor calidad en una planta de tratamiento y usarse una alta concentración de cloro residual a lo largo del sistema de distribución, pero si éste tiene un ecosistema microbiano a lo largo de su red, entonces no importa qué tan buena sea la calidad del agua clorada, los microorganismos de esa flora, incluyendo los coliformes, pueden subsistir en el sistema (Reilly y Kippin 1982).

Un estudio para evaluar las condiciones de mezcla y su influencia sobre la calidad del agua en un tanque de compensación del sistema de distribución de agua potable de la ciudad de

Cali (Colombia), determina que el tanque estudiado ocasiona su calentamiento, debido a la transferencia de calor desde la cubierta y paredes hacia la masa de agua (Montoya *et al.* 2012).

El almacenamiento del agua potable en el tanque ocasiona una disminución significativa del cloro residual libre, identificada principalmente en la salida hacia la estación de bombeo y no al interior del tanque (Montoya *et al.* 2012).

El reglamento de la calidad del agua para consumo humano establece un límite máximo permisible para coliformes totales de 0 UFC/100 ml a 35°C (Cuadro 2).

Cuadro 2: Límites máximos permisibles de parámetros microbiológicos y parasitológicos del agua para consumo humano

N°	Parámetros	Unidad de medida	Límite máximo permisible
1	Bacterias Coliformes Totales	UFC/100 ml a 35°C	0(*)
2	E. Coli	UFC/100 ml a 44.5°C	0(*)
3	Bacterias Coliformes Termotolerantes o fecales	UFC/100 ml a 44.5°C	0(*)
4	Bacterias Heterotróficas	UFC/ml a 35°C	500
5	Huevos y larvas de Helminetos, quistes y ooquistes de protozoarios patógenos	N° org/L	0
6	Virus	UFC/ml	0
7	Organismos de vida libre, como algas, protozoarios, copépodos, rotíferos, nematodos en todos sus estadios evolutivos	N° org/L	0

UFC = Unidades Formadoras de Colonias

En caso de analizar por la técnica del NMP por tubos múltiples = < 1.8 / 100 ml

FUENTE: Decreto Supremo N° 031 (2010)

2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DEL CLORO SOBRE LOS MICROORGANISMOS

La cloración puede lograrse usando gas de cloro licuado, solución de hipoclorito de sodio o gránulos de hipoclorito de calcio y generadores de cloro. El gas de cloro licuado se suministra en recipientes a presión, este se retira del cilindro y se dosifica en agua por un

clorador, que controla y mide el caudal de gas. La solución de hipoclorito sódico se dosifica usando una bomba de dosificación eléctrica de desplazamiento positivo o un sistema de alimentación por gravedad. El hipoclorito de calcio debe disolverse en agua y luego mezclarse con el suministro principal. El cloro, ya sea en forma de gas cloro de un cilindro, hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio, se disuelve en agua para formar ácido hipocloroso (HOCl) e hipoclorito (OCl-) (World Health Organization 2008).

El tratamiento adecuado y la entrega en condiciones favorables de agua segura, representan uno de los caminos más idóneos para reducir en gran medida las tasas expuestas por la OMS. Dentro de este marco, la desinfección del agua de bebida es clave para la solución del problema. No solo representa un mecanismo apropiado para ello, sino que es un elemento vital dentro de lo que en la visión moderna del tratamiento de agua se conoce como “buena práctica” y también dentro del análisis de riesgo y puntos críticos de control o ARPCC (HACCP en inglés). Ambas propuestas de acción significan que cada etapa del tratamiento del agua debe ser evaluada individualmente y que se deben determinar los puntos críticos o de riesgo para poder controlarlos y eliminar o disminuir su peligro inherente (Méndez y Solsona 2002).

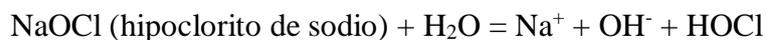
El mecanismo de desinfección más aplicado en los sistemas de abastecimiento de agua es el que emplea el cloro y sus compuestos derivados como agentes desinfectantes. Fue introducido masivamente a principios del siglo XX y constituyó una revolución tecnológica, que complementó el proceso de filtración que ya era conocido y utilizado para el tratamiento del agua. La cloración incrementó en 50 por ciento la esperanza de vida de los países desarrollados (Méndez y Solsona 2002).

La cloración del agua potable se lleva a cabo mediante el burbujeo del cloro gaseoso o mediante la disolución de los compuestos de cloro y su posterior dosificación. El cloro en cualquiera de sus formas, se hidroliza al entrar en contacto con el agua, y forma ácido hipocloroso (HOCl) de la siguiente forma:

En el caso del cloro gaseoso, la reacción que tiene lugar es:



En el caso del hipoclorito de sodio, la reacción que tiene lugar es:



En el caso del hipoclorito de calcio y la porción activa de la cal clorada, la reacción es:



Durante el proceso químico de la desinfección se producen compuestos tales como: cloraminas, dicloraminas y tricloraminas en presencia de amoníaco en el agua. Las cloraminas sirven igualmente como desinfectantes, aunque reaccionen de una manera sumamente lenta. Asimismo, se forman el ácido clorhídrico (HCl) y los hidróxidos de calcio y sodio, los cuales no participan en el proceso de desinfección.

La especie desinfectante es el ácido hipocloroso (HOCl), el cual se disocia en iones hidrogeniones (H^+) e hipoclorito (OCl^-) y adquiere sus propiedades oxidantes:

Tanto el ácido hipocloroso (HOCl) como el ion hipoclorito (OCl^-) están presentes hasta cierto punto cuando el pH varía entre 6 y 9 (el rango usual para el agua natural y potable). Cuando el valor de pH del agua clorada es 7,5, el 50% de la concentración de cloro presente será ácido hipocloroso no disociado y el otro 50% será ion hipoclorito. Los diferentes porcentajes de HOCl y OCl^- a diferentes valores de pH pueden verse en la Figura 1 (Méndez y Solsona 2002).

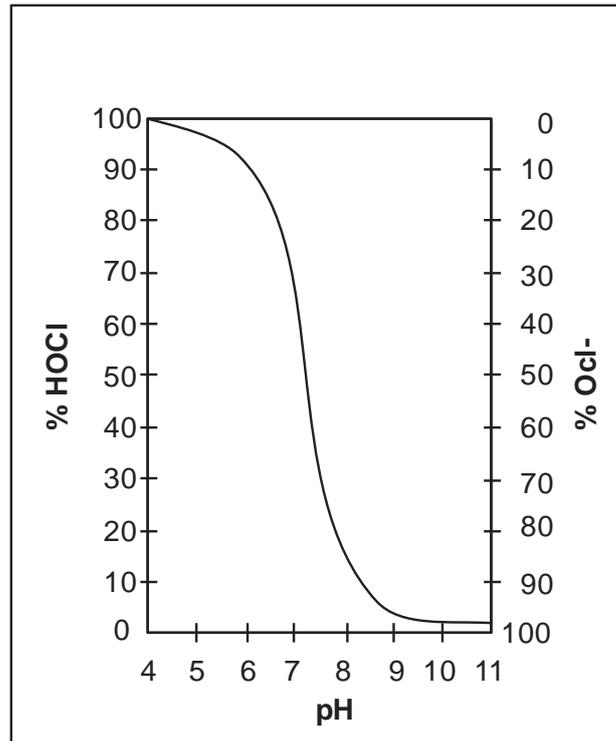


Figura 1: Comportamiento de las fracciones del ácido hipocloroso respecto a variaciones de pH

Una de las dificultades en el estudio de los efectos HOCl en bacterias, es que el HOCl reacciona con muchos compuestos que se encuentran en los medios de crecimiento, lo que lleva a la producción de especies altamente reactivas. Por ejemplo, HOCl reacciona con NH_4^+ y con aminas orgánicas, produciendo monocloramina y cloraminas, respectivamente (Thomas *et al.* 1986).

El ácido hipocloroso es considerado un oxidante altamente destructivo, no selectivo, que reacciona con una variedad de compuestos subcelulares y afecta a los procesos metabólicos (Albrich y Hurst 1982).

Experimentos preliminares indicaron que las células pre tratadas con HOCl mostraron resistencia a un estrecho rango de concentraciones de HOCl, con una concentración máxima alrededor de 0,3 mg/l (Dukan *et al.* 1996).

Los parámetros biológicos que afectan las propiedades bactericidas de cloro en el medio ambiente aún no se entienden completamente. Un gran número de microorganismos viables, muchos de los cuales han demostrado ser patógenos oportunistas, a menudo se pueden recuperar de los sistemas de distribución de agua potable, con concentraciones de cloro residual libre ($\text{HOCl} + \text{OCl}^-$) de 0,5 a 1,0 mg/l (LeChevallier *et al.* 1980).

El análisis químico del agua realizado en los sistemas de distribución del agua potable de una empresa en los EE.UU, donde se realizaba la desinfección por cloración, indica que el cloro residual libre disponible fluctuó entre 1 y 4 mg/l como Cl_2 , durante tres períodos diferentes de cloración del 2010 al 2011 (Hwang *et al.* 2012).

Para una desinfección eficaz, debe haber una concentración residual de cloro libre $\geq 0,5$ mg/l después de al menos 30 minutos de tiempo de contacto a $\text{pH} < 8,0$ (World Health Organization 2008).

Se acepta que el ácido hipocloroso penetra en la pared celular alterando la permeabilidad e integridad de la misma, luego de lo cual puede reaccionar con las enzimas esenciales que intervienen en los procesos respiratorios de la célula, provocando su destrucción (Guiracocha *et al.* 2016).

Se puede explicar el mayor poder desinfectante del ácido hipocloroso respecto al ion hipoclorito, debido a que el HOCl es una molécula neutra y de reducido tamaño, razón por la cual se cree que podría atravesar con mayor facilidad la pared celular que la molécula de OCl^- (Guiracocha *et al.* 2016).

Para el caso de bacterias heterotróficas, los procesos de coagulación y filtración son capaces de reducir más del 99,5 por ciento de las bacterias y, luego de la desinfección ésta puede aumentar al 99,9 por ciento (Guiracocha *et al.* 2016).

El reglamento de la calidad del agua para consumo humano establece una concentración mínima de cloro residual libre de 0,5 ppm, como se muestra en el Cuadro 3.

2.3 TEMPERATURA

La temperatura es un parámetro físico que afecta mediciones de otros, tales como: pH, alcalinidad o conductividad. Las temperaturas elevadas resultantes de descargas de agua caliente, pueden tener un impacto ecológico significativo por lo que la medición de la temperatura del cuerpo receptor, resulta útil para evaluar los efectos sobre éste (Severiche *et al.* 2013).

2.4. SISTEMAS DE DISTRIBUCIÓN DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO

La American Water Works Association (AWWA, 1974) define el sistema de distribución de agua como todos los componentes para la distribución de agua potable, mediante alimentación por gravedad o redes de bombeo, a clientes u otros usuarios.

Debido a que los sistemas de distribución de agua potable representan la mayor parte de infraestructura física para el suministro de agua, constituyen el reto principal de gestión, desde el punto de vista de la salud pública y operativa. Además, su reparación y sustitución representan una enorme responsabilidad financiera (The National Academies Press 2005).

La integridad del sistema de distribución es una barrera que impide la contaminación del agua potable. Si el sistema de distribución presenta deficiencias, el suministro de agua potable queda expuesto a la contaminación, muchas veces este se ve afectado por el deterioro físico y químico de los materiales, la ausencia o la instalación incorrecta de sus componentes (The National Academies Press 2005).

Cuadro 3: Límites máximos permisibles de parámetros químicos inorgánicos y orgánicos

N°	Parámetros Inorgánicos	Unidad de medida	Límite máximo permisible
1	Antimonio	mg Sb L ⁻¹	0,02
2	Arsénico (nota 1)	mg As L ⁻¹	0,01
3	Bario	mg Ba L ⁻¹	0,70
4	Boro	mg B L ⁻¹	1,50

«Continuación»

5	cadmio	mg Cd L ⁻¹	0,003
6	Cianuro	mg CN- L ⁻¹	0,07
7	Cloro (nota 2)	mg L ⁻¹	5
8	Clorito	mg L ⁻¹	0,7
9	Clorato	mg L ⁻¹	0,7
10	Cromo total	mg Cr L ⁻¹	0,05
11	Flúor	mg F- L ⁻¹	1000
12	Mercurio	mg Hg L ⁻¹	0,001
13	Níquel	mg Ni L ⁻¹	0,02
14	Nitratos	mg NO3 L ⁻¹	50,00
15	Nitritos	mg NO2 L ⁻¹	3,00 Exposición corta 0,20 Exposición larga
16	Plomo	mg Pb L ⁻¹	0,01
17	Selenio	mg Se L ⁻¹	0,01
18	Molibdeno	mg Mo L ⁻¹	0,07
19	Uranio	mg U L ⁻¹	0,015

Nota 1: En caso de los sistemas existentes se establecerá en los Planes de Adecuación Sanitaria el plazo para lograr el límite máximo permisible para el arsénico de 0,01 mgL⁻¹.

Nota 2: Para una desinfección eficaz en las redes de distribución la concentración residual libre de cloro no debe ser menor de 0,5 mgL⁻¹.

FUENTE: Decreto Supremo N° 031 (2010)

Mantener la calidad del agua potable depende mucho de la integralidad hidráulica de los sistemas de distribución, la adecuada presión del agua al interior de las tuberías y el tiempo del agua en el sistema de distribución. La pérdida de la presión de agua como resultado de rotura de tuberías, fugas significativas y fallos de las válvulas, podría incrementar el riesgo de contaminación del agua; así como los bajos flujos en las tuberías, crean largos tiempos de viaje, con la consiguiente pérdida del cloro residual (The National Academies Press 2005).

La presión promedio al interior de las tuberías es de: 22,22; 23,16 y 23,80 metro de columna de agua (mca), en Lima Metropolitana, Provincia Constitucional del Callao, Punta

Hermosa, Punta Negra, Pucusana y San Bartolo, durante los años 2010, 2011 y 2012, respectivamente (SUNASS 2016).

Se debe reducir al mínimo el crecimiento microbiano y el desarrollo de las biopelículas en los sistemas de distribución. A pesar de que las bacterias heterótrofas generalmente se encuentran en las biopelículas, es poco probable que sean de preocupación para la salud pública, su actividad puede promover la producción de sabores, olores, aumentar la demanda de desinfectante y pueden contribuir a la corrosión (The National Academies Press 2005).

La entrega de agua "más joven" es un objetivo operacional deseable para las empresas de agua. Sin embargo, el concepto de la edad del agua es complejo. La edad del agua en un tramo de la red de distribución, no es un valor único, sino más bien una distribución de diferentes valores (The National Academies Press 2005).

Estudios en los suministros de la ciudad de Campeche en México, determinaron niveles de bacterias aerobias mesófitas superiores a los límites permisibles para aguas de consumo humano. Demostrando la presencia de materia orgánica en esos suministros y en consecuencia, la existencia de factores que condicionan la exposición del agua a la contaminación por materia orgánica (Márquez *et al.* 1994).

Estudios realizados en los distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco de la ciudad de Lima, orientados a la Inspección Higiénico-Sanitaria de sistemas de almacenamiento y distribución de agua de inmuebles, establecieron las siguientes deficiencias: Agua turbia y/o sedimento (70,48 por ciento), tubería interna oxidada (53,33 por ciento), paredes internas sucias (40 por ciento), sin tapa (38,10 por ciento), ambientes sucios (8,57 por ciento), presencia de algas (6,67 por ciento), película superficial en el agua (6,67 por ciento), objetos extraños dentro de la cisterna (5,71 por ciento), vectores, principalmente cucarachas (3,81 por ciento) e inaccesibilidad (2,86 por ciento) (Marchand 2002).

El agua proveniente de la red pública de los distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco de la ciudad de Lima no presentó contaminación microbiológica, contaminándose en el sistema de abastecimiento y distribución de los inmuebles, en donde el 17,86 por ciento presentó contaminación microbiológica, principalmente por bacterias heterótrofas, coliformes Totales y coliformes fecales (Marchand 2002).

Con relación a la concentración de cloro residual libre en muestras proveniente de inmuebles de los distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco de la ciudad de Lima, el 38,84 por ciento de muestras tuvieron un rango entre 0,6 y 1,0 ppm de cloro residual libre, el 35,71 por ciento entre 0,1 y 0,5 ppm, el 24,11 por ciento carecía de cloro residual libre y el 1,34 por ciento presentó una concentración mayor a 1,0 ppm. Además, el mayor número de muestras inaptas (88,88 por ciento) fueron aquellas que carecían de cloro residual libre (0 ppm), seguidas de aquellas que tuvieron rangos entre 0,1-0,5 ppm (5,56 por ciento), 0,6-1,0 ppm (5,56 por ciento) y mayor de 1 ppm (0 por ciento) (Marchand 2002).

La Organización Mundial de la Salud recomienda un enfoque mucho más preventivo de solamente el control de la calidad del agua potable al final del tratamiento. Este enfoque llamado planes de seguridad del agua, tiene en cuenta todos los factores que ponen en peligro la calidad del agua potable, desde la fuente hasta el grifo en el domicilio del consumidor (World Health Organization 2008).

2.5. ECOLOGÍA MICROBIANA

La ecología microbiana del sistema de distribución es poco conocida. Hay muy poca información disponible sobre los tipos, actividades y distribución de microorganismos en los sistemas de distribución. Los datos de heterótrofos están disponibles para algunos sistemas, pero estos datos no se recogen rutinariamente, subestiman el número de organismos presentes e incluyen muchos organismos que no presentan necesariamente un riesgo para la salud. Para evaluar más adecuadamente el riesgo, se necesita más información sobre la ecología microbiana de los sistemas de distribución (The National Academies Press 2005).

Inicialmente se consideró a los microorganismos como organismos individuales incapaces de comunicarse con los demás microorganismos, en los años 1960 y 1970, se descubre que las bacterias producen señales difusibles, moléculas que desencadenan el comportamiento coordinado entre grupos microbianos, proporcionando la primera evidencia de que los microbios se comunican (Bassler y Losick 2006).

Los microorganismos que viven en comunidades, muestran comportamientos coordinados y sincronizados a pesar de no tener un sistema nervioso. Los microorganismos producen interacciones específicas entre sí y sus entornos. Al igual que los organismos superiores (Bonner 2010).

Las colonias organizadas e incluidas en el exopolímero de las biopelículas, forman una capa impermeable en donde solo los microorganismos de las capas más superficiales se ven afectados en condiciones desfavorables. Los microorganismos llegan a comunicarse unos con otros, a lo que se le ha denominado “quórum sensing” e involucra la regulación y expresión de genes específicos a través de moléculas de señalización que median la comunicación intercelular (Betancourth *et al.* 2004).

Las comunidades microbianas están inundadas de información química, no sólo de la que produce los propios microorganismos, sino también de los ambientes en los que habitan. Las investigaciones asocian señales químicas específicas y mecanismos de comunicación con una amplia variedad de comportamientos e interacciones entre los microorganismos (Bassler y Losick 2006).

La variación estacional es también una influencia, debido a que afectaron significativamente los crecimientos microbianos en los tanques, mostrando una clara disminución de bacterias heterótrofas en la temporada de invierno (Evison y Sunna 2001). Finalmente, un aspecto muy importante en el desarrollo de biopelículas en las tuberías de distribución de agua potable es la hidrodinámica, las biopelículas se desarrollan en una interface líquido - sólido, donde la velocidad del flujo que la atraviesa, ocasiona el desprendimiento físico de los microorganismos, favoreciendo la formación de nuevas biopelículas (Betancourth *et al.* 2004).

2.6. CONDICIONES QUE FAVORECEN EL CRECIMIENTO BACTERIANO EN EL SISTEMA DE DISTRIBUCIÓN DE AGUA POTABLE

La Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. evaluó la concentración de carbono orgánico total del agua potable en 80 puntos en los Estados Unidos, el carbono orgánico varió desde 0,05 hasta 12,2 mg/l, con una mediana de la concentración de 1,5 mg/l. Dado que las bacterias heterótrofas requieren de carbono, nitrógeno, y fósforo en una relación de aproximadamente 100:10:1 (C:N:P), el carbono orgánico puede ser un nutriente que limita el crecimiento de bacterias en el agua potable (LeChevallier *et al.* 1991).

Se identificó un recrecimiento bacteriano, debido a la disminución de residuos del desinfectante en una red de distribución de Bruselas, crecimiento que estuvo influenciado por las complejas interacciones entre los parámetros químicos y físicos, incluyendo la temperatura, alcalinidad, pH, materia orgánica, fosfato y materiales de tubería. (Niquette *et al.* 2001).

La calidad higiénica del agua potable se reduce si las condiciones en la red de distribución de agua permiten un alto nivel de crecimiento microbiano. La mayoría de los microbios en el agua potable son bacterias heterótrofas, es decir, que necesitan compuestos orgánicos y fuentes de energía (Miettinen *et al.* 1997).

2.7. BIOPELÍCULAS

Desde las notables descripciones del mundo lleno de microorganismos de Van Leeuwenhoek hace 300 años, las bacterias han sido consideradas como organismos que no se comunican. En la década de 1960 y 1970, con el descubrimiento de lo que ahora se llama «quorum sensing», se hizo evidente que las bacterias poseen sofisticados sistemas de comunicación que les permiten enviar y recibir mensajes químicos hacia otras bacterias (Bassler y Losick 2006).

Desde la primera descripción de biopelículas microbianas por Zobell en 1943, estas son motivo de preocupación en los sistemas de agua potable, debido a que las bacterias al formar biopelículas, son más resistentes a los procesos de desinfección (Lechevallier *et al.* 1988).

Las biopelículas pueden influir en la calidad del agua potable, estas estructuras permiten a las bacterias sobrevivir a los procesos de desinfección (Lechevallier *et al.* 1988).

Para formar biopelículas es necesario la agregación de microorganismos sobre una superficie, las biopelículas se componen principalmente de bacterias, proteínas y sustancias poliméricas extracelulares generada por los microorganismos (Hall *et al.* 2004).

El proceso de desarrollo de una biopelícula, consiste en una actividad coordinada de varios genomas, para producir una comunidad multicelular funcional, esta organización, demuestra un sofisticado sistema de señales de célula a célula y un grado de especialización celular (Stoodley *et al.* 2002).

Al monitorear la formación de biopelículas formadas por la Bacteria OUS82 (GF), mediante microscopía de barrido láser confocal (CSLM) en la Universidad Técnica de Munich, Alemania; se observó que inicialmente se forman pequeñas microcolonias de forma irregular, pero después de 3 días de crecimiento, se formaron estructuras sueltas que sobresalen de forma irregular. La inspección microscópica de la biopelícula mostró que la transición de microcolonias compactas a estructuras sueltas, es precedida por un movimiento acelerado de las bacterias dentro de las microcolonias, lo que finalmente conduce a su disolución (Tolker *et al.* 2000).

Estudios en biopelículas de bacterias marinas demuestran que las microcolonias se desarrollaron en todas las direcciones y no parece haber límites en el número de divisiones celulares en el desarrollo de las colonias (Dalton *et al.* 1996). De la misma forma investigaciones realizadas con células de *Pseudomona putida*, detallan que después de 3-4 días, se extienden filamentos largos y grupos de células alargadas, desde las más pequeñas microcolonias en el sustrato. Por último, después de 5-10 días, partes grandes de la biopelícula consistían en filamentos largos y grupos de células adjuntas. En los días 7 y 10, las biopelículas adquieren una forma filamentosa (Heydorn *et al.* 2000).

Estudios sobre el papel de los biofilms, en los sistemas de distribución en la calidad del agua de una compañía en New Jersey, establecieron un modelo donde determinaron que el

cloro residual total, el pH y la temperatura son predictores significativos de los niveles de bacterias heterótrofas. El modelo determinó que un cloro residual de 1,2 mg/l es necesario para mantener los niveles de bacterias heterótrofas menor a 100 UFC/ml a pH 8,0 y temperatura ambiente de 23 °C. Es preciso indicar que el modelo no consideró parámetros nutricionales como carbono orgánico total y carbono orgánico asimilable (LeChevallier *et al.* 1987).

Investigaciones en la que se logró la observación directa del desarrollo de las biopelículas, revelaron eventos transitorios cuantificables que indican episodios significativos en el desarrollo de una población de biopelículas bacterianas. Tomados en conjunto, estos fueron utilizados para el desarrollo de biopelículas, divididas convenientemente en cinco etapas distintas: (i) unión reversible, (ii) unión irreversible, (iii) la maduración-1, (iv) la maduración-2, y (v) la dispersión (Saue *et al.* 2002).

Las biopelículas microbianas pueden contener millones de células procariotas y algunas veces cierta cantidad de eucariotas, células que facilitan la yuxtaposición fisiológica estable de organismos de cooperación (Stoodley *et al.* 2002).

En los sistemas de agua potable, las biopelículas son responsables de la pérdida de residuos del desinfectante en las tuberías de distribución de agua, condición que ocasiona un mayor potencial para la supervivencia de patógenos, la reducción de oxígeno, sabor y olor, problemas en el color del agua, obstrucción, corrosión y reducción de la duración de materiales de tuberías (Keinänen *et al.* 2002)

La composición microbiana de las muestras de biopelículas, extraídas de un tanque de agua potable en Beijing, logro identificar bacterias dominantes entre todas las muestras, identificando bacterias del género *Sphingomonas* en mayor cantidad (Zhang *et al.* 2012)

Bacterias en grandes cantidades reaccionan a los gradientes de nutrientes. Este complejo patrón de comportamiento integrado se ve facilitado por la producción de tensioactivos y está controlado por señales de célula a célula, mediante la Acil-HomoserinaLactonas (AHL) (Kim *et al.* 1992).

Las superficies de la red de distribución de agua y partículas suspendidas de agua potable fueron examinadas mediante el uso de microscopía electrónica de barrido, para investigar la naturaleza y el grado de asociación de los microorganismos con estas superficies, aunque se distribuye escasamente y al azar a lo largo de la superficie de la tubería, se observó una variedad de estructuras y microcolonias morfológicamente distinguibles parecidos a bacterias. Las morfologías de las células individuales variaron entre cocos a tipos de células filamentosos. La unión de algunos microbios en la superficie de la tubería fue aparentemente mediada por apéndices fibrilares extracelulares (Ridgway y Olson 1981).

Los Biofilm son células microbianas inmovilizadas en la superficie de la tubería o en una partícula en suspensión (Figura 2). Las células son inmovilizadas 1) en una matriz de la sustancia polimérica extracelular (EPS), 2) en los tubérculos (depósitos minerales), 3) en depósitos de sedimentos, 4) una combinación de ambos, o 5) por algún mecanismo desconocido. La EPS son frecuentemente productos del metabolismo microbiano y pueden desempeñar un papel significativo en la ecología de la célula incluyendo la protección contra los efectos oxidativos del cloro. La EPS proporciona una superficie muy adsorbente para cationes (especialmente cationes multivalentes, tales como calcio, zinc, hierro) y para otras células microbianas. La EPS puede concentrar nutrientes de la fase acuosa. Las células y otros materiales asociados se separan de forma continua o episódica de la superficie y reingresan en el agua (Characklís 1988).

Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo (Lasa *et al.* 2005).

La etapa inicial del proceso de formación del biofilm es la adherencia sobre la superficie. En bacterias gram-negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*, se ha visto que los flagelos, las fimbrias de tipo I, IV y los curli son importantes para la etapa de adherencia primaria (Lasa *et al.* 2005).

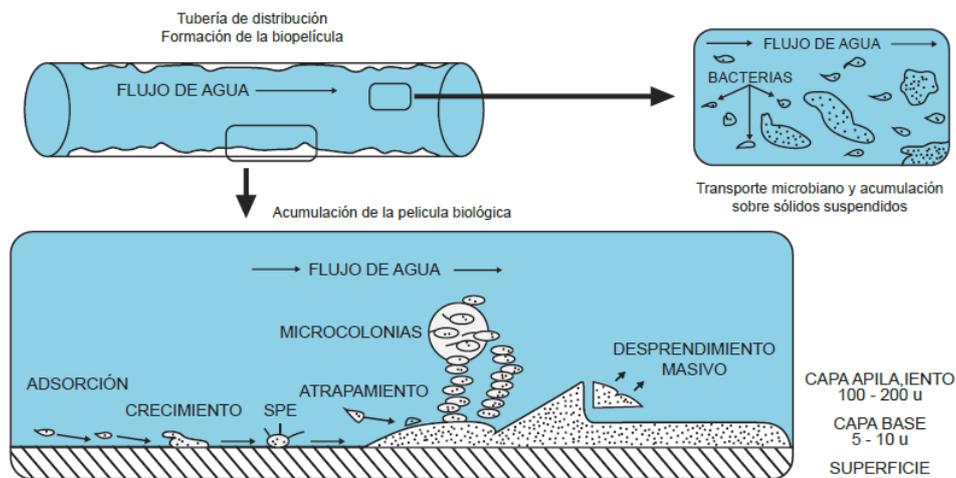


Figura 2: Proceso de crecimiento bacteriano sobre las paredes de las tuberías y las partículas suspendidas.

FUENTE: Adaptado por Miranda y Sahuquillo (1997)

Diversos autores recomiendan la implantación de un plan para controlar las biopelículas como estrategias para el control de la contaminación bacteriológica, el cual contempla un programa de mantenimiento, control de la corrosión, prácticas de desinfección, mantenimiento de los depósitos y el control de los niveles de los nutrientes. El programa de mantenimiento debería mantener una presión positiva en todo el sistema, evitar las conexiones cruzadas, realizar lavados sistemáticos de rutina e incluso limpiezas más profundas en las tuberías cuando éstas lo ameriten, realizar las pruebas de coliformes totales y bacterias heterotróficas, eliminar áreas con bajo flujo y extremos muertos, entre otros (De Sousa *et al.* 2008; World Health Organization 2008).

2.8. TANQUES DE ALMACENAMIENTO AGUA

El uso de la filtración y cloración en sistemas de agua para consumo humano, resultó en la disminución de enfermedades transmisibles a través del agua. En los Estados Unidos a pesar de los esfuerzos por proteger los servicios de agua de la contaminación, los brotes de enfermedades transmisibles relacionadas al agua suceden todos los años. Epidemiólogos señalan que los brotes antes mencionados son solo una fracción del total, porque muchos de ellos no están notificados (The National Academies Press 2004).

Por lo señalado anteriormente, desarrollaron talleres de expertos y partes interesadas en el 2003, con la finalidad de evaluar los niveles de degradación de la calidad de agua en

sistemas de distribución, obteniéndose nueve prioridades de investigación por la EPA, AWWA y el AWWSC: (1) Conexiones cruzadas y expulsión, (2) Intrusión de contaminantes de las oscilaciones de presión, (3) Nitrificación, (4) Impregnación y lixiviación, (5) Crecimiento microbiano – Biopelículas, (6) Cañerías de agua, (7) Acabado de instalaciones de almacenamiento de agua, (8) Agua y (9) Deterioro de infraestructura enterrada (The National Academies Press 2005).

Deficiencias en el diseño o mantenimiento de tanques de compensación promueven la inadecuada mezcla de agua en su interior y como consecuencia se incrementa la edad del agua, fomentándose la formación de subproductos de la desinfección y la pérdida del desinfectante residual, lo que favorece el crecimiento de microorganismos en el sistema (Lansey y Boulos 2005).

El almacenamiento del agua potable en tanques de compensación ocasiona un incremento de temperatura del agua, calentamiento que se debe a la transferencia de calor desde la cubierta y paredes hacia la masa de agua, identificándose estratificación térmica donde el agua que ingresa al tanque permanece en el fondo, mientras que la de mayor edad se ubica encima (Montoya *et al.* 2012).

Al presentarse diferencias entre la temperatura del agua que ingresa y la que esta almacenada, se genera otra fuente de movimiento por las diferencias de densidad. Bajo estas condiciones, se habla de chorro flotante y se considera flotabilidad positiva cuando el agua que ingresa es más caliente que la almacenada, provocando que esta última permanezca en el fondo del tanque por ser más densa y la más fresca se situó en la superficie. Cuando el agua que ingresa es más fría que la almacenada, sucede lo contrario (Nordblom y Bergdahl 2003).

Christensen *et al.* (2014) estudiaron dos tanques abastecidos con agua subterránea en Dinamarca, realizaron muestreos para investigar la calidad del agua microbiana antes, durante y después de la limpieza de los tanques. Los recuentos de bacterias heterótrofas en agar extracto de levadura, a 22 °C, aumentaron ligeramente después de la limpieza de los tanques, pero no excedieron los valores recomendados en ningún punto durante las

investigaciones. Inmediatamente después del inicio, se midió un máximo de 10 UFC/ml (Unidades Formadoras de Colonias) en ambos tanques, y después de menos de 24 horas las concentraciones fueron inferiores a 1 UFC/ml en ambos tanques. Las bajas concentraciones se mantuvieron los días siguientes (Figura 3). La evaluación del riesgo del sistema al que pertenecían los tanques se enfocaba en la metodología HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) y sigue los principios de la ISO 22000.

Con la finalidad de identificar las bacterias que normalmente no se cuantifican en los cultivos por métodos tradicionales, se incluyeron las mediciones de ATP (Adenosina-Tri-Fosfato) en el agua. El ATP está presente en todas las bacterias vivas. Las concentraciones de ATP en el agua, inmediatamente después de la limpieza fueron altas, en comparación con la concentración de bacterias cultivables, que pueden indicar que las bacterias que normalmente no crecen sobre el agar (Bacterias nitrificantes), estaban presentes en el agua (Figura 3) (Christensen *et al.* 2014).

El almacenamiento del agua potable en tanques de compensación de los sistemas de distribución, ocasiona una disminución significativa del cloro residual libre, principalmente en la salida de la estación de bombeo y no al interior del tanque (Montoya *et al.* 2012).

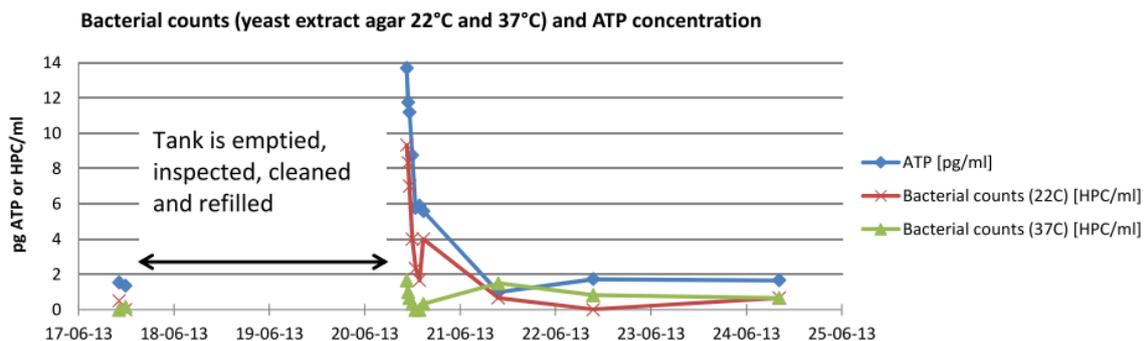


Figura 3: Concentración de ATP y recuentos bacterianos en agar extracto de levadura a 22 y 37°C, en agua saliendo del tanque.

FUENTE: Christensen *et al.* (2014)

El mantenimiento de la calidad del agua durante su uso en domicilio es responsabilidad de los propietarios de vivienda, es preciso aplicar prácticas de higiene correctas y fomentar la educación en materia de higiene (OMS 2006).

Para sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano, que involucren el almacenamiento en depósitos a nivel de domicilio, la OMS recomienda la aplicación de sistemas de vigilancia gestionados por las autoridades de salud pública (OMS 2006). Asimismo, países donde los tanques de almacenamiento de agua son de uso generalizado, deberían mejorar los sistemas de monitoreo de agua para involucrar la calidad después del almacenamiento para períodos sin flujo. Los consumidores deben ser conscientes de la "fecha de caducidad" del agua, de manera que puedan tomar medidas correctivas para minimizar cualquier riesgo potencial (Evison y Sunna 2001).

2.9. METODOLOGÍAS PARA EL RECUENTO DE BACTERIAS HETERÓTROFAS

Los resultados del conteo de colonias obtenidas con medios de cultivo PCA, m-SPC, R2A, y R3A indican que los resultados de la propagación en placa con Agar Plate Count obtuvieron los peores resultados de todos los medios ensayados, independientemente de la duración de la incubación (Reasoner y Geldreich 1985).

Se realizaron comparaciones entre los medios de cultivo R2A y Plate Count, en el recuento de bacterias heterótrofas en muestras de un sistema de distribución de agua potable de New Jersey. El medio de cultivo Agar R2A incubado a 22 °C durante 7 días, identificó cantidades que oscilan desde $3,2 \times 10^2$ a $1,3 \times 10^7$ bacterias heterótrofas por ml, mientras que en el medio de cultivo Plate Count se recuperó un promedio de 10 bacterias por ml. (LeChevallier *et al.* 1987).

Los motivos que llevaron al desarrollo de las formulaciones de los medios R2A y R3A surgieron de un intento de construir un perfil de la identidad de las bacterias presentes en el agua tratada en la red de distribución. Se encontró que cuando las colonias bacterianas que se desarrollaron en placas de PCA se recogieron para el subcultivo en placas de Agar Plate Count frescas, muchos no crecieron. En consecuencia, se solicitó un medio que permita el

subcultivo de aquellas bacterias para facilitar el estudio de sus características morfológicas y bioquímicas (Reasoner y Geldreich 1985).

El interés en el recuento de bacterias heterótrofas en placa para enumeración de bacterias en el agua potable ha crecido en los últimos años. El monitoreo de los niveles de bacterias heterótrofas en diversas etapas del tratamiento, en el agua potable final, y en todo el sistema de distribución, es cada vez más ampliamente aceptado como una herramienta para evaluar la eficacia del tratamiento y la limpieza general del sistema de distribución (Reasoner y Geldreich 1985).

Allen *et al.* (2004) indicaron que hay una falta de justificación para el establecimiento de un límite superior de bacterias heterótrofas en el agua potable. Varios países han establecido límites obligatorios para las bacterias heterótrofas en el agua potable. Los diferentes países utilizan una variedad de términos para describir su respectivo método de recuento de bacterias, especificar diferentes procedimientos analíticos (medios, temperaturas, tiempos) que se pueden utilizar, y establecer diferentes conteos máximos aceptables, que pueden variar de 20 a 1000 UFC/ml.

Los sistemas de agua para consumo humano con tratamiento convencional, son capaces de limitar las poblaciones de bacterias heterótrofas hasta por debajo de 100 UFC/ml en el sistema de distribución. Sin embargo, muchos sistemas experimentan aumento de las poblaciones de bacterias heterótrofas (500-1000 UFC/ml) durante los meses de verano (Allen *et al.* 2004).

El recuento de bacterias heterótrofas en un sistema de agua de New Jersey, demostró que *Flavobacterium spp.* y *Pseudomonas vesicularis* son los organismos predominantes en la columna de agua, estos organismos fueron encontrados en todas las muestras de agua potable (LeChevallier *et al.* 1987).

El propósito del tratamiento de agua es suministrar agua potable a través de la utilización de procesos unitarios que reducen la turbidez, sustancias químicas y contaminantes microbiológicos a los niveles deseados. Más allá de lograr la calidad del agua como

resultado del tratamiento, subsiste el reto de mantener la calidad del agua durante el almacenamiento y la distribución antes de alcanzar a los consumidores (Allen *et al.* 2004).

Cabral (2010) señaló que el control microbiológico del agua potable se debe desarrollar con mayor prioridad, los recursos financieros deben dedicarse a una mejor comprensión de la ecología y el comportamiento de las bacterias en los sistemas de agua potable.

2.10. SISTEMA DE AGUA POTABLE

El objetivo de un sistema de agua potable es proporcionar un servicio eficiente, considerando que el agua tenga calidad, cantidad y continuidad.

2.10.1 Captación

Las fuentes de abastecimiento seleccionadas deben ser capaces de proporcionar el gasto máximo diario requerido por la población, utilizando las aguas superficiales o subterráneas según sea el caso, previo análisis físico, químico y bacteriológico, para asegurar su calidad y poder seleccionar adecuadamente el material de la tubería (Jiménez 2013).

2.10.2 Línea de conducción

La “línea de conducción” es la parte del sistema de agua potable, que transporta el agua desde el sitio de la captación hasta un tanque de regularización o la planta potabilizadora. Su capacidad se calcula con el gasto máximo diario, o con el que se considere conveniente tomar de la fuente de abastecimiento, deberá ser de fácil inspección y estar localizada preferentemente al costado de un camino en el derecho de vía; en caso de que esto no sea posible, se deberá construir un camino paralelo a la línea con la finalidad de efectuar las operaciones de vigilancia y mantenimiento (Jiménez 2013).

2.10.3 Tanque superficial

Estos depósitos se construyen, enterrados, semienterrados o sobre la superficie del terreno y pueden ser de mampostería de piedra o concreto reforzado, revistiéndose en ambos casos

con un mortero impermeabilizante o adicionarle al concreto un aditivo impermeabilizante integral. Deberán ser techados para evitar la contaminación del agua con cuerpos extraños (Jiménez 2013).

2.10.4 Línea de alimentación

La “línea de alimentación” es el conjunto de tuberías por medio de las cuales se lleva el agua desde el tanque hasta la red de distribución. Como en algunas horas del día el consumo de agua adquiere valores mayores al de la aportación, el diámetro de esta línea se calcula utilizando el gasto máximo horario y su diseño es semejante al de la línea de conducción (Jiménez 2013).

2.10.5. Red de distribución

Este sistema de tuberías tiene la función de poner el agua a disposición de todos los habitantes de la población con las siguientes características: Agua en cantidad suficiente. El agua debe ser potable (calidad adecuada). Las presiones o cargas disponibles en cualquier punto de la red deben estar entre 1,5 y 5 kg/cm² (Jiménez 2013).

2.11. PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARAMÉTRICAS Y NO PARAMÉTRICAS

2.11.1 Distribuciones paramétricas

Suposiciones acerca de la naturaleza de la población en estudio, a través de muestras que permitan obtener valores o estimados, llámese media, proporción, varianza, coeficiente de correlación, entre otros. Dado que se trabaja con valores estadísticos de la población, conocidos como parámetros, las técnicas empleadas en estos casos reciben el nombre de paramétricas (Bencardino 2000).

2.11.2. Distribuciones no paramétricas

Cuando se carece del conocimiento acerca del comportamiento de los parámetros de la población, se puede concluir que en todos aquellos casos, donde sea imposible establecer

la forma de la distribución poblacional o cuando los datos están dados a escala ordinal, es decir, que pueden ordenarse por rangos, se hace indispensable la aplicación de métodos, denominados de diferentes maneras: no paramétricos, de distribución libre, de rango o de orden (Bencardino 2000).

Cuando no se da el supuesto de la normalidad se tienen dos alternativas: una de ellas es aproximar los valores de los datos a una distribución normal, para lo cual hay una serie de métodos; y la segunda alternativa es, emplear los métodos de las estadísticas no paramétricas, es decir, métodos que no suponen nada acerca de la distribución población muestreada, por eso también a los métodos de la estadística no paramétrica se les llama de distribución libre (Nolberto y Ponce 2008).

2.12. POBLACIONES INDEPENDIENTES

Cuando existe una variable factor que divide a la población en dos subpoblaciones diferentes (Díaz y Wärnberg 2015).

Son muestras que se extraen de dos o más poblaciones, cada una en forma independiente de la otra (Bencardino 2000).

2.13. PRUEBA DE KOLMOGROV-SMIRNOV PARA DOS MUESTRAS

Tiene como ventaja que mide las diferencias existentes entre las frecuencias relativas acumuladas de dos muestras, por lo que se detectan diferencias no solo en la tendencia central, sino también en la dispersión y simetría de las muestras (González y Felpeto 2013).

La eficacia de este test es alta con número de datos reducidos, pero esta tiende a decrecer cuando se aumenta el tamaño de la muestra. Esta prueba estadística es usada para contrastar la hipótesis de que las dos muestras proceden de una misma población, por tanto, exige comparar dos funciones de distribución muestral, observando la diferencia máxima entre ellas (González 2006).

2.14. PRUEBA DE T DE STUDENT PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES

La prueba estadística T de Student, se usa con el fin de poder evaluar si existen diferencias entre dos medias observadas, el estadístico T de Student para muestras independientes se utiliza cuando se quiera saber si hay diferencias entre dos grupos distintos en la media de una variable cuantitativa (Olmos y Perú 2001).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el distrito de Villa María del Triunfo, provincia de Lima, departamento de Lima. Se identificó una línea de conducción usando los planos facilitados por el Servicio de Agua Potable y Alcantarillado de Lima (SEDAPAL); en el ámbito de la línea de conducción se seleccionaron diez viviendas con tanques de almacenamiento de agua para consumo humano considerando los siguientes criterios:

- Tanques de polietileno con capacidad de 1100 litros.
- Tanques ubicados en la parte superior de las viviendas.
- Tanques en buen estado de funcionamiento, sin fisuras, sin fugas y tapa en óptimas condiciones.
- Accesible para el desarrollo de limpieza y desinfección.
- Tanques con flujo constante de agua.
- Tanque con instalación directa (Figura 4).
- Tubería de desfogue acondicionado para el muestreo de agua.

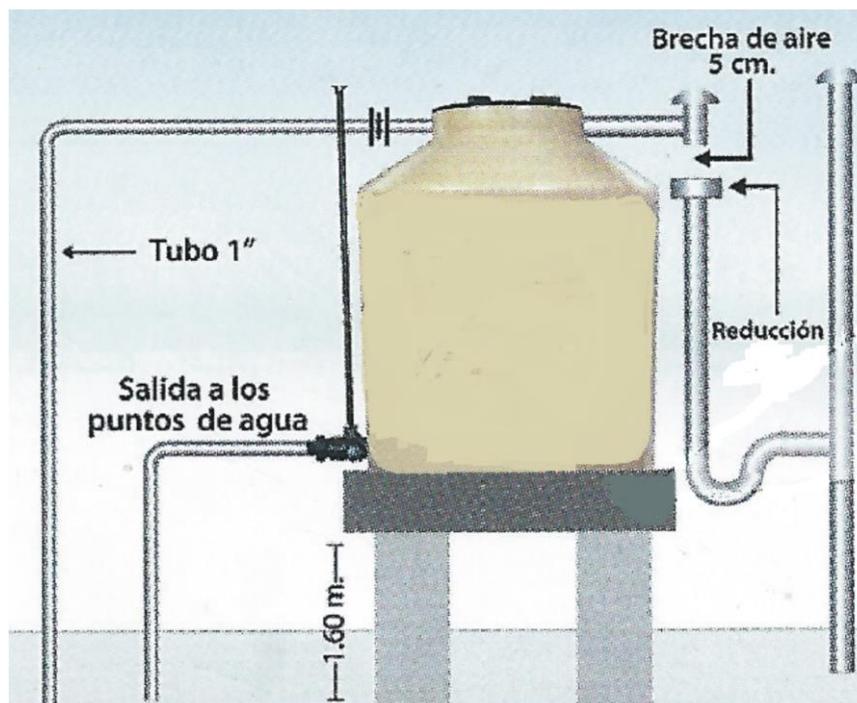


Figura 4: Instalación indirecta de tanque de almacenamiento de agua

En tres de las 10 viviendas seleccionadas se acondicionaron grifos abastecidos con agua de la red pública, con la finalidad de obtener muestras de agua que no fue almacenada en los tanques. En estas muestras se determinaron los siguientes parámetros: temperatura, pH, conductividad, sólidos totales disueltos, concentración de cloro residual libre, recuento de bacterias heterótrofas y determinación de coliformes totales.

Se instaló un grifo en la tubería de desfogue de cada tanque para obtener muestras de los tanques de almacenamiento y evitar posibles alteraciones por el estado de las tuberías posteriores al tanque de almacenamiento.

Los tanques usados en la investigación contaban con certificación ISO 14001, es preciso indicar que en los Estados Unidos, se exige que los equipos y accesorios que conforman el sistema de agua potable cuenten con la certificación NSF/ANSI 61, certificación que se obtiene facilitando a las autoridades información de la composición, toxicología y muestras de los equipos y accesorios (NSF y ANSI 2016)

3.1. ALTERACIONES DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA ALMACENADA EN TANQUES DE CONEXIONES DOMICILIARIAS

3.1.1. Mantenimiento de los 10 tanques de almacenamiento de agua

A fin de homogenizar las condiciones iniciales de investigación, se realizó el mantenimiento de los 10 tanques: se cambiaron los filtros, se limpiaron y desinfectaron.

Cinco tanques fueron sometidos a limpieza y desinfección cada 28 días, los cinco tanques restantes no fueron sometidos a ningún proceso de limpieza y desinfección, el periodo de experimentación comprendió de febrero de 2015 a marzo de 2016.

3.1.2. Procedimiento de limpieza y desinfección

El procedimiento consistió en cerrar la válvula de ingreso de agua aproximadamente seis horas antes del proceso de limpieza, se abrieron los grifos de la vivienda hasta dejar una

altura de agua en el tanque de 10 cm y se procedió a cerrar la válvula de salida del tanque. Usando el agua restante se limpió la base y las paredes del tanque refregando con una escoba de plástico, toda la suciedad y materia extraña acumulada en el proceso, se elimina mediante la válvula de desfogue del tanque.

Se espolvorearon 176 g de Hipoclorito de calcio granular (65 por ciento) por cada tanque y se dejó reposar durante dos horas. Posteriormente se eliminó el agua del tanque mediante la válvula de desfogue, se enjuagó dos veces, se llenó el tanque con agua de la red pública y se verificó que la concentración de cloro residual libre en el agua se aproxime a 0,5 ppm (World Health Organization 2005).

3.1.3. Muestreo

Se tomaron muestras cada 14 días desde el 14 de marzo del 2015 hasta el 26 de marzo del 2016; 140 muestras en los cinco tanques con mantenimiento, 140 muestras en los cinco tanques sin mantenimiento y 84 muestras en los tres grifos que proporcionaron agua directamente de la línea de conducción. El proceso de muestreo comprendió el siguiente proceso:

Se desinfectó el grifo en la parte interior y exterior, mediante la aplicación de una solución de hipoclorito de sodio (100 mg NaOCl/L) antes del muestreo; posteriormente se dejó correr el agua durante 2 a 3 minutos para eliminar el exceso de desinfectante (APHA 1995).

Se emplearon técnicas asépticas para evitar la contaminación de la muestra (uso de gorro, mascarilla y guantes).

Se usaron dos botellas de vidrio de 250 ml de capacidad, una botella estéril con cuatro gotas de tiosulfato de sodio al tres por ciento, para neutralizar el cloro residual libre al momento del muestreo y la otra botella sin aditivos para las determinaciones físico químicas.

Las botellas de muestreo estuvieron cerradas hasta momentos antes del llenado. Se quitó el tapón y la tapa como una unidad; teniendo cuidado de no contaminar la superficie interna del tapón o la tapa y el cuello de botella.

Se abrió el grifo y se dejó correr el agua durante 2 ó 3 minutos para permitir la limpieza de la línea de servicio. Se redujo el flujo de agua permitiendo el llenado de la botella sin salpicaduras y dejando un espacio de aire para facilitar la mezcla por agitación en laboratorio.

Finalmente se selló la tapa del frasco para análisis bacteriológico con parafilm y se ubicó en un envase con bloques de agua congelados para conservar la temperatura.

3.1.4. Metodología para la determinación de pH, Conductividad, Sólidos totales y Temperatura

Las determinaciones se realizaron usando un electrodo portátil con certificado de calibración CC-03488-15. Las especificaciones de medición del equipo fueron las siguientes:

pH	Intervalo 0,00 a 14,00 pH
	Resolución 0,01 pH
	Exactitud $\pm 0,05$ pH
Conductividad	Intervalo 0,00 a 20,00 mS/cm
	Resolución 0,01 mS/cm
	Exactitud $\pm 2\%$ F.S.
TDS	Intervalo 0,00 a 10,00 g/L (ppt)
	Resolución 0,01 g/L (ppt)
	Exactitud $\pm 2\%$ F.S.
Temperatura	Intervalo 0,0 a 60,0°C / 32,0 a 140,0°F
	Resolución 0,1°C / 0,1°F
	Exactitud $\pm 0,5^\circ\text{C}$ / $\pm 1^\circ\text{F}$

3.1.5. Metodología para la determinación de cloro residual libre

Las determinaciones de cloro residual libre se realizaron usando un fotómetro portátil con certificado de calibración CC-03382-15 (Anexo XVIII).

La metodología fue una adaptación del método 330.5 de USEPA y método 4500-CL G de Métodos Estándar. La reacción entre el cloro y el reactivo DPD originó una coloración rosa en la muestra. Las especificaciones de medición del equipo son las siguientes:

Determinación de cloro residual libre	Rango: 0,00 a 5,00 mg/l
	Precisión: +/- 0,02 mg/l

3.1.6. Recuento de bacterias heterótrofas

La determinación se desarrolló en el Laboratorio de Salud Ambiental de la Dirección de Salud IV Lima Este. Inicialmente se usó el medio de cultivo Plate count, al obtener escaso crecimiento de bacterias heterótrofas el medio fue cambiado por el medio de cultivo R2A.

Se agregó un mililitro de la muestra o de la dilución de la muestra a una placa Petri estéril, luego se agregó un volumen adecuado de agar R2A; a una temperatura de 45° a 46 °C, se realizó la homogenización, se dejó solidificar e incubó a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 14 días. El conteo de las colonias se expresó como UFC/ml.

El medio de cultivo y tiempo de incubación se fundamenta en los estudios realizados por Reasoner y Geldreich (1985), quienes realizaron el conteo en placa de bacterias heterótrofas usando diferentes medios de cultivo, logrando obtener mayores crecimientos en cultivos con el medio R2A a 35°C durante 14 días de incubación.

Se consideró en cada etapa analítica las respectivas placas Petri con los respectivos medios sin sembrar, como método de control negativo para todos los medios.

3.1.7. Determinación de coliformes totales

Usando la misma muestra se filtraron 100 ml de muestra, con ayuda de una bomba de vacío, a través de una membrana de nitrocelulosa de 47 mm de diámetro, con una porosidad de 0,45 μm ; membrana que luego se colocó en una placa Petri conteniendo el agar M-Endo, y se incubó a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Numeración de coliformes totales: método de filtración por membrana. El conteo de colonias confirmadas se expresó como UFC/100 ml.

3.2. EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE DOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN EN TANQUES DE ALMACENAMIENTO

Con la finalidad de determinar la eficacia de dos procedimientos de desinfección para tanques de almacenamiento de agua potable, se seleccionaron diez tanques más dentro del tramo de la línea de conducción, cinco tanques fueron desinfectados usando la metodología propuesta por el Ministerio de Salud (Resolución Ministerial N° 449-SA, 2001), y los cinco restantes usando la metodología de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization 2005).

3.2.1. Método 1: En contacto con solución hipoclorosa (104 ppm)

El procedimiento consistió en cerrar la válvula de ingreso de agua aproximadamente seis horas antes del proceso de limpieza, se abrieron los grifos de la vivienda hasta dejar una altura de agua en el tanque de 10 cm y se procedió a cerrar la válvula de salida del tanque. Usando el agua restante se limpió la base y las paredes del tanque refregando con una escoba de plástico, toda la suciedad y materia extraña acumulada en el proceso, se eliminó mediante la válvula de desfogue del tanque.

Se espolvorearon 176 gramos de Hipoclorito de calcio granular (65 por ciento) por 1100 litros de capacidad del tanque y se dejó reposar durante dos horas. Posteriormente se eliminó el agua del tanque mediante la válvula de desfogue, se enjuagó dos veces, se llenó el tanque con agua de la red pública y se verificó que la concentración de cloro residual libre en el agua se aproxime a 0,5 ppm (World Health Organization 2005).

3.2.2. Método 2: Refregado con cloro a una concentración de 50 ppm

Se cerró la llave de ingreso al tanque de agua seis horas antes del proceso de limpieza. Se abrieron los grifos de la vivienda y se redujo la cantidad de agua en el tanque hasta una altura de 10 cm aproximadamente; posteriormente se cerró la válvula de salida del tanque. Con el agua sobrante se limpiaron las paredes y el fondo del tanque, extrayendo todo el material sedimentado, posteriormente se enjuagó el tanque, vaciando el agua mediante la válvula de desfogue.

Se desinfectaron las paredes y el fondo del tanque refregando con una solución de cloro con 50 ppm de cloro libre; para ello se roció la superficie interna del tanque usando un aspersor de mano, luego se enjuagó el tanque y se vació el agua con exceso de cloro mediante la válvula de desfogue del tanque, metodología indicada en la Resolución Ministerial N° 449-2001-SA/DM, que aprueba la «Norma Sanitaria para trabajos de desinsectación, desratización, desinfección, limpieza y desinfección de reservorios de agua, limpieza de ambientes y de tanques sépticos» (Ministerio de Salud 2001).

3.2.3. Muestreo de las Superficies desinfectadas

Para la toma de muestras se usaron equipos de protección personal con la finalidad de garantizar la calidad de la muestra. Se ubicó una plantilla estéril de 10 cm x 10 cm sobre la pared del tanque y con un hisopo estéril inclinado en un ángulo de 30° se frotó cuatro veces la superficie delimitada por la plantilla, posteriormente se ubicó el hisopo en el interior del tubo de ensayo con el diluyente, el tubo de ensayo fue depositado en un contenedor con gel refrigerante. Se repitió el procedimiento cuatro veces en diferentes lugares de las paredes del tanque. La temperatura de la caja refrigerante durante el transporte no superó los 10 °C y el tiempo de transporte de la toma de muestra al laboratorio no superó las 24 horas (Ministerio de salud 2007).

El proceso de muestreo de superficies se fundamenta en la guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, aprobada por el Ministerio de Salud el 2007.

3.2.4. Determinación de coliformes totales

La determinación de coliformes totales se realizó por el método de filtro de membrana.

Se tomaron 10 ml de muestra que fueron diluidos en 90 ml de agua de dilución; luego se filtraron los 100 ml de muestra con ayuda de una bomba de vacío, a través de una membrana de nitrocelulosa de 47 mm de diámetro y una porosidad de 0,45 μm . La membrana se colocó luego en una placa Petri conteniendo el medio de cultivo agar M-Endo, y se incubó a una temperatura de $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

El número de colonias obtenidas (UFC) se multiplicó por el factor de dilución (10^1) y por el volumen de solución del diluyente que se utilizó en el muestreo (10 ml), y se dividió entre el área de la superficie hisopada (100 cm^2).

3.3. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS

Considerando los diferentes aspectos que facilitan el desarrollo de microorganismo en un tanque de almacenamiento como: incremento de la temperatura del agua con relación a la temperatura del agua en la red de distribución; disminución de la presión del agua en el tanque en comparación a la presión de la red de distribución; tiempo de almacenamiento del agua en el tanque; desarrollo de biopelículas; acumulación de sedimentos y escaso mantenimiento de tanques de almacenamiento, se propuso la siguiente hipótesis:

- El almacenamiento de agua potable en tanques conectados a instalaciones domiciliarias, altera la calidad bacteriológica del agua para consumo humano.

Al reaccionar el cloro con diferentes compuestos formados por las biopelículas pierde su eficacia como desinfectante por lo que el contacto por escaso periodo de tiempo no lograría una adecuada desinfección, en este sentido planteó la segunda hipótesis:

- El método de desinfección por contacto directo con solución hipoclorosa (104 ppm) durante 2 horas, logra mayor control sobre la flora bacteriana de los tanques de agua, en comparación con el método de refregado con solución hipoclorosa (50 ppm).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RECUENTO DE BACTERIAS HETERÓTROFAS, COLIFORMES TOTALES Y CONCENTRACIÓN DE CLORO RESIDUAL LIBRE EN TANQUES CON LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN PERIÓDICA

Cinco de los 10 tanques seleccionados fueron sometidos a limpieza y desinfección cada 28 días, se obtuvieron muestras cada dos semanas, desde el 14 de marzo de 2015 hasta el 26 de marzo de 2016, el Cuadro 4 muestra los promedios de los parámetros evaluados.

Cuadro 4: Promedio de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección

N°	Fecha	Promedio de bacterias heterótrofas (UFC/ml)	Promedio de coliformes totales (UFC/100 ml)	Promedio de cloro residual libre (mg/L)
1	14/03/2015	84,6	0	0,36
2	28/03/2015	85,6	0	0,49
3	11/04/2015	89,8	0	0,53
4	25/04/2015	89,2	0	0,50
5	09/05/2015	92	0	0,37
6	23/05/2015	87,4	0	0,59
7	06/06/2015	85	0	0,59
8	20/06/2015	68	0	0,67
9	04/07/2015	90,4	0	0,64
10	18/07/2015	79,6	0	0,54
11	01/08/2015	84,6	0	0,64
12	15/08/2015	85,4	0	0,72
13	29/08/2015	98,8	0	0,64
14	12/09/2015	84,6	0	0,55
15	26/09/2015	83,4	0	0,67
16	10/10/2015	101	0	0,44

«Continuación»

17	24/10/2015	98,8	0	0,38
18	07/11/2015	85,2	0	0,37
19	21/11/2015	86,6	0	0,49
20	05/12/2015	104,8	0	0,42
21	19/12/2015	102,4	0	0,44
22	02/01/2016	95,8	0	0,45
23	16/01/2016	93,8	0	0,36
24	30/01/2016	106,8	0	0,12
25	13/02/2016	95,6	0	0,14
26	27/02/2016	72,2	0	0,67
27	12/03/2016	78,4	0	1
28	26/03/2016	70,8	0	0,67

Total de muestras obtenidas	140	100%
Número de muestras que superan los límites establecidos para bacterias heterótrofas.	0	0%
Número de muestras que superan los límites establecidos para coliformes totales.	0	0%
Número de muestras con concentraciones inferiores a 0,5 ppm de cloro residual libre.	61	44%

El reglamento de la calidad del agua para consumo humano establece un límite inferior de 0,5 ppm de cloro residual libre; cero (0) UFC/100 ml y un límite máximo de 500 (UFC/ml) de bacterias heterótrofas, en las muestras de agua para consumo humano (Ministerio de Salud 2010).

La cantidad de bacterias heterótrofas en muestras de agua provenientes de tanques con mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento, no superaron los límites establecidos por las directivas. Sin embargo, 21 por ciento de las muestras de tanques sin mantenimiento, llegaron a superar los límites establecidos para bacterias heterótrofas.

El recuento de bacterias heterótrofas en tanques con mantenimiento periódico, reporta valores dentro de los rangos establecidos por las directivas para las 140 muestras obtenidas. Sin embargo, 61 de las 140 muestras (44 por ciento) contenían concentraciones

de cloro residual libre por debajo de lo indicado en el reglamento de la calidad del agua para consumo humano (Figura 5).

Es posible que la limpieza y desinfección periódica en los tanques de almacenamiento, no permitiera el incremento de heterótrofos, el proceso de desinfección eliminó las biopelículas que se formaban al interior de los tanques, logrando mantener un equilibrio de la población de bacterias heterótrofas. Al respecto, Keinänen *et al.* (2002) consideran que un proceso de importancia para la supervivencia de las bacterias en los sistemas de agua potable es la formación de biopelículas, estructuras responsables de la pérdida de residuos del desinfectante, la reducción de oxígeno, sabor, color, obstrucción y corrosión.

Los resultados obtenidos se aproximan a lo señalado por Allen *et al.* (2004), quienes indicaron que los sistemas públicos de agua con tratamiento convencional son capaces de limitar las poblaciones de bacterias heterótrofas hasta por debajo de 100 UFC/ml en un sistema de distribución de agua potable.



Figura 5: Promedio del recuento de bacterias heterótrofos y promedio de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección

En la determinación de coliformes totales en tanques con limpieza y desinfección, las 140 muestras de agua no presentaron crecimiento de bacterias coliformes totales. En la Figura 6 se muestra las variaciones en la concentración de cloro residual libre y la ausencia de

crecimiento de bacterias coliformes totales, en las muestras obtenidas durante la duración del estudio.

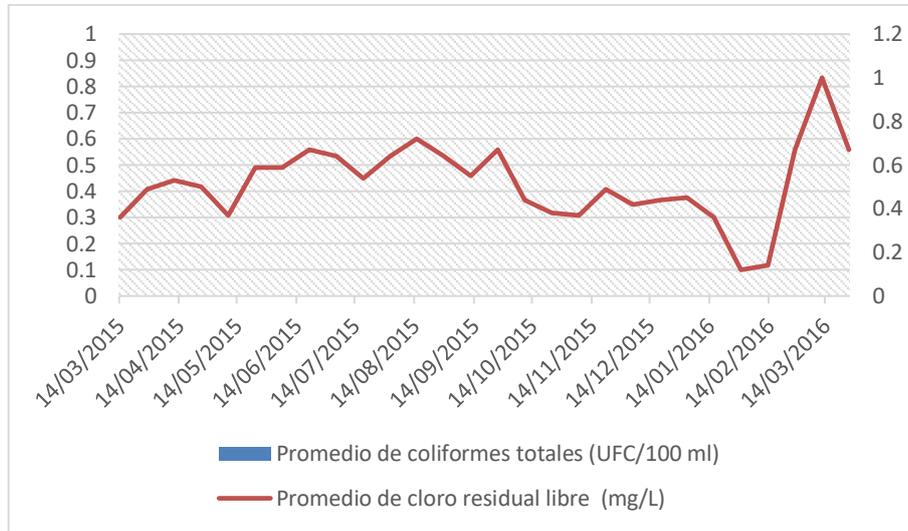


Figura 6: Promedio del recuento de coliformes totales y promedio de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección.

4.2. RECUENTO DE BACTERIAS HETERÓTROFAS, COLIFORMES TOTALES Y CONCENTRACIÓN DE CLORO RESIDUAL LIBRE EN TANQUES SIN LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

En el grupo de los cinco tanques sin limpieza y desinfección, se identificaron los mayores crecimientos para bacterias heterótrofas y coliformes totales (Cuadro 5). De la misma forma, en este grupo se identificó la mayor cantidad de muestras con concentraciones de cloro residual libre por debajo de los límites establecidos.

En el grupo de tanques sin limpieza y desinfección 30 de las 140 muestras obtenidas (21 por ciento) superaron los límites establecidos para bacterias heterótrofas, establecidos en el reglamento de la calidad del agua para consumo humano (Figura 7).

Noventa y cinco de las 140 muestras obtenidas (68 por ciento) presentaron concentraciones de cloro residual libre por debajo de lo establecido en el reglamento de la calidad del agua para consumo humano (Figura 7). Cantidad muy superior a los identificados en los tanques con mantenimiento, donde se evidenció un 44% de muestras con concentraciones por

debajo de 0,5 ppm, mientras que en muestras de agua que no atravesaron por tanques de almacenamiento, el ocho por ciento no cumplió con los límites establecidos para cloro residual libre.

Cuadro 5: Promedio de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección

N°	Fecha	Promedio de bacterias heterótrofas (UFC/ml)	Promedio de coliformes totales (UFC/100 ml)	Promedio de cloro residual libre (mg/L)
1	14/03/2015	89,6	0	0,25
2	28/03/2015	87,6	0	0,39
3	11/04/2015	111,2	0	0,42
4	25/04/2015	159,6	0	0,41
5	09/05/2015	181	0	0,28
6	23/05/2015	176,6	0	0,47
7	06/06/2015	244,2	0	0,47
8	20/06/2015	280,2	0	0,57
9	04/07/2015	298	0	0,55
10	18/07/2015	328,8	0	0,41
11	01/08/2015	299,2	0	0,52
12	15/08/2015	403,6	0	0,61
13	29/08/2015	452	0	0,54
14	12/09/2015	536	0	0,45
15	26/09/2015	320,2	0	0,56
16	10/10/2015	545,2	0	0,33
17	24/10/2015	614,8	0.4	0,27
18	07/11/2015	535,2	0	0,28
19	21/11/2015	398,8	0	0,37
20	05/12/2015	395	0	0,31
21	19/12/2015	384,6	0	0,34
22	02/01/2016	401,2	0	0,34
23	16/01/2016	606,4	0.2	0,25
24	30/01/2016	640,8	1.2	0,04

«Continuación»

25	13/02/2016	537,8	1	0,04
26	27/02/2016	318,6	0	0,56
27	12/03/2016	205	0	0,89
28	26/03/2016	372	0	0,57

Total de muestras obtenidas	140	100%
Número de muestras que superan los límites establecidos para bacterias heterótrofas.	30	21%
Número de muestras que superan los límites establecidos para coliformes totales.	7	5%
Número de muestras con concentraciones inferiores a 0.5 ppm de cloro residual libre.	95	68%

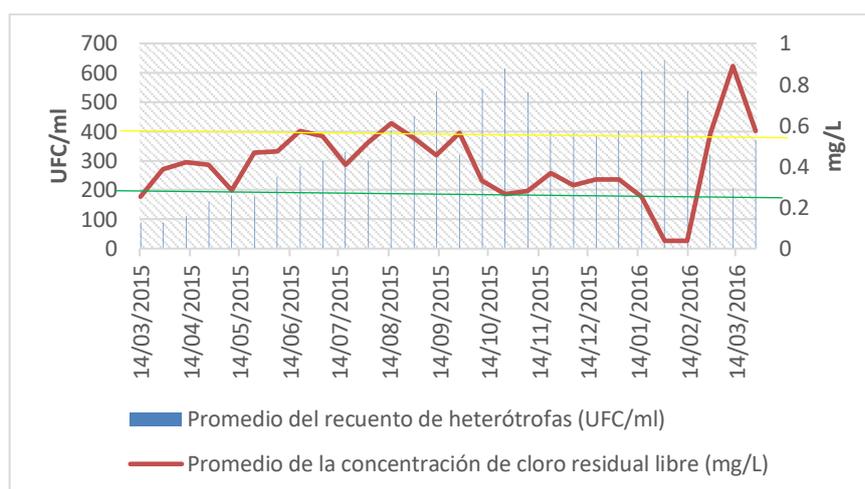


Figura 7: Promedio del recuento de heterótrofos y promedio de cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección

Es preciso indicar que el monitoreo de cloro residual libre es un indicador fundamental cuya presencia indica que no se ha introducido materia orgánica y microorganismos en las tuberías (Haro *et al.* 2012).

Grayman *et al.* (2004) indican que la mezcla y el envejecimiento son dos procesos que afectan a los cambios en la calidad del agua dentro de los tanques de almacenamiento.

Largos tiempos de almacenamiento disminuyen residuos del desinfectante y pueden promover el crecimiento bacteriano.

Estudios realizados en Jordania, donde reservorios fueron almacenados con agua potable por cuatro días, concluyeron que el agua almacenada presenta cambios significativos en sus propiedades físico-químicas y bacteriológicas, un incremento de bacterias heterótrofas estuvo acompañado de la pérdida de cloro residual (Evison y Sunna 2001).

Allen *et al.* (1980) señalan que el agua potable transportada a través de los sistemas de distribución estuvo sujeta a cambios en la calidad microbiológica y química, relacionado a actividades microbianas se pueden mencionar: el desarrollo de sabores, olores, aumento de la turbidez y el nuevo crecimiento de las bacterias que sobreviven a los procesos de tratamiento.

Un proceso de importancia para la supervivencia de las bacterias en los sistemas de agua potable es la formación de biopelículas, estructuras responsables de la pérdida de residuos del desinfectante, la reducción de oxígeno, sabor, color, obstrucción y corrosión (Keinänen *et al.* 2002).

Un aspecto muy importante para el desarrollo de bacterias, es la falta de flujo en los tanques de almacenamiento de agua potable, condición que incrementaría el riesgo de recontaminación del agua potable (Ecura *et al.* 2011).

Otro proceso favorable para la supervivencia de bacterias frente al cloro residual libre, es la encapsulación, la cubierta capsular recoge material útil e impide los efectos de iones y moléculas peligrosas. La densa capa polisacárida establece una barrera no sólo física sino también química, capaz de proteger a las bacterias de las moléculas e iones de cloro libre. Con la "neutralización" del cloro libre, el agua se convierte en un medio adecuado para supervivencia y crecimiento de microorganismos (Reilly y Kippin 1982).

Podría producirse agua de mejor calidad en una planta de tratamiento y usarse una alta concentración de cloro residual a lo largo del sistema de distribución, pero si éste tiene un

ecosistema microbiano a lo largo de su red, entonces no importa qué tan buena sea la calidad del agua clorada, los microorganismos de esa flora, incluyendo los coliformes, pueden subsistir en el sistema (Poitelon *et al.* 2010).

Los sistemas públicos de agua con tratamiento convencional son capaces de limitar las poblaciones de bacterias heterótrofas hasta por debajo de 100 UFC/ml en el sistema de distribución, aunque muchos sistemas experimentan aumento de las poblaciones de bacterias heterótrofas (500-1000 UFC/ml) durante los meses de verano (Allen *et al.* 2004).

Son diversos los parámetros más asociados con cambios bacterianos en el agua potable. Sin embargo, el estado del sistema de distribución sigue influyendo fuertemente en los cambios de la calidad microbiológica del agua tratada (Allen *et al.* 1980).

A partir de los 189 días de iniciado el experimento se identificaron las primeras muestras de agua que superaron los límites establecidos para bacterias heterótrofas (Figura 8).

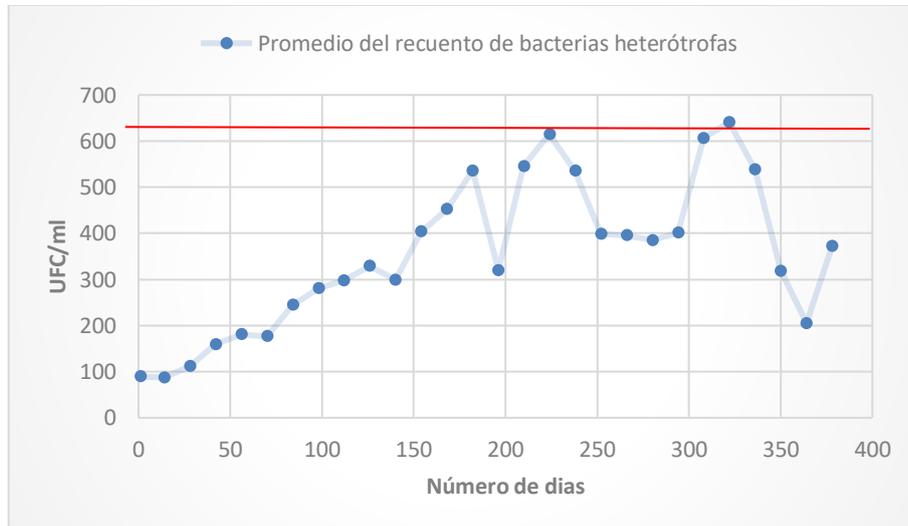


Figura 8: Promedio del recuento de heterótrofos en tanques sin limpieza y desinfección

Respecto a la determinación de coliformes totales en tanques sin limpieza y desinfección, ocho de las 140 muestras (5,71 por ciento) presentaron crecimiento favorable para

coliformes totales, superando los límites establecidos en el reglamento de la calidad del agua para consumo humano (Figura 9).

Las bacterias coliformes totales son comunes en el medio ambiente y generalmente son inofensivas. Si se detecta sólo las bacterias coliformes totales en el agua potable, la fuente es probablemente el medio ambiente y la contaminación fecal es poco probable (Washington state department of Health 2016).

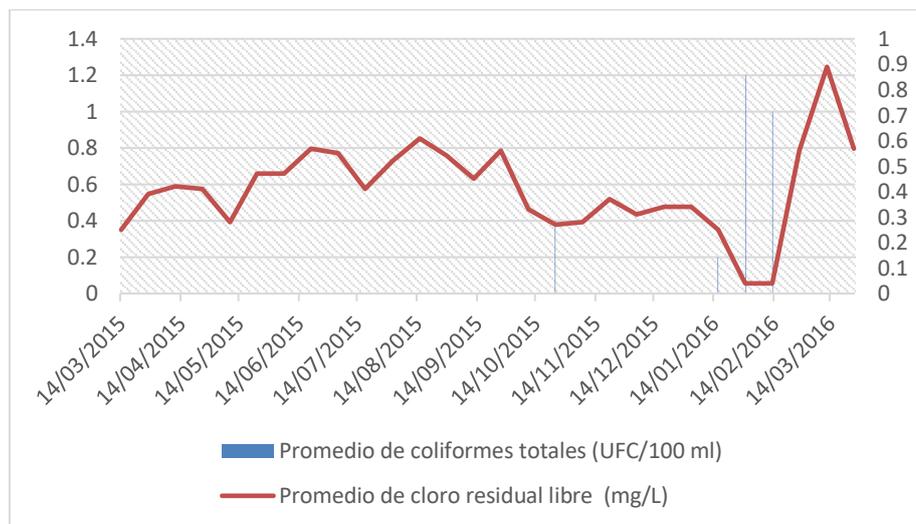


Figura 9: Promedio de coliformes totales y promedio de la concentración de cloro residual libre en muestras de agua provenientes de tanques sin limpieza y desinfección

La identificación de nuevos crecimientos de bacterias coliformes totales en el sistema de distribución, depende de una compleja interacción de los parámetros químicos, físicos, operativos y de ingeniería (The National Academies Press 1999).

Durante el estudio de los sistemas de distribución de Salem y Beverly en Massachusetts, se encontró que la frecuencia de aislamiento de coliformes era independiente de la concentración de cloro libre presente en la muestra al momento de realizarse la recolección (Reilly y Kippin 1982).

Las altas cargas bacterianas en las biopelículas, sugieren que hay zonas que contienen compuestos orgánicos suficientes y otros nutrientes para apoyar el desarrollo de diversos

tipos de microorganismos, pueden existir microcosmos en el que la relación simbiótica contribuyen a un alto número de diversos organismos (Tuovinen y Hsu 1982).

Los resultados de un programa de seguimiento mostraron un aumento de los niveles de coliformes en el agua del sistema de distribución de una planta en New Jersey, a pesar de no presentar crecimiento en las muestras de agua a nivel de la planta de tratamiento. La identificación de bacterias coliformes mostró que la diversidad de especies aumentó a medida que el agua recorrió a través de la red de distribución. Todos los materiales en el sistema de distribución tenían altas densidades de bacterias heterótrofas, mientras que los altos niveles de coliformes sólo se detectaron en biopelículas formadas sobre hierro (LeChevallier *et al.* 1987). En contraposición, se enumeraron microorganismos aerobios y anaerobios de biopelículas recolectadas a partir de secciones de la tubería de distribución de agua en Columbus y Ohio, donde no se llegaron a detectar coliformes en los tubérculos examinados (Tuovinen y Hsu 1982).

El análisis de muestras de agua en una planta de tratamiento de New Jersey, indicó que la planta de tratamiento de agua contiene niveles de bacterias coliformes conforme a las directrices federales para el agua potable. Sin embargo, las bacterias coliformes se detectaron en 193 de 500 muestras de las redes de distribución, recogidas entre mayo y agosto de 1986 (LeChevallier *et al.* 1987).

Se identificaron 235 bacterias coliformes en un sistema de distribución de New Jersey, aislados a partir de muestras de agua potable para determinar la diversidad de bacterias dentro del sistema de distribución, la diversidad de coliformes aumentó a medida que el agua recorrió desde la planta de tratamiento a través del sistema de distribución (LeChevallier *et al.* 1987).

Se necesita más investigación para identificar maneras de controlar el crecimiento de bacterias coliformes en los suministros de agua potable y para mejorar la desinfección de biofilms en las redes de distribución (LeChevallier *et al.* 1987).

4.3. RECUENTO DE BACTERIAS HETERÓTROFAS, COLIFORMES TOTALES Y CONCENTRACIÓN DE CLORO RESIDUAL LIBRE EN MUESTRAS DE AGUA QUE NO ATRAVIESAN POR UN TANQUE DE ALMACENAMIENTO

En el grupo de muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento de agua para consumo humano, se identificaron los menores crecimientos para bacterias heterótrofas (Cuadro 6), de la misma forma se identificó la menor cantidad de concentraciones de cloro residual libre por debajo de los límites establecidos en las directivas.

Cuadro 6: Promedio de bacterias heterótrofas, coliformes totales y concentración de cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por un tanque de almacenamiento

N°	Fecha	Promedio del recuento de bacterias heterótrofas (UFC/ml)	Promedio de coliformes totales (UFC/100 ml)	Promedio de cloro residual libre (mg/L)
1	14/03/2015	10,3	0	0,67
2	28/03/2015	11,3	0	0,67
3	11/04/2015	16,3	0	0,67
4	25/04/2015	14,3	0	0,68
5	09/05/2015	21	0	0,73
6	23/05/2015	15,3	0	0,75
7	06/06/2015	20,7	0	0,84
8	20/06/2015	15	0	0,64
9	04/07/2015	15,7	0	0,77
10	18/07/2015	12,7	0	0,64
11	01/08/2015	16,3	0	0,79
12	15/08/2015	16,3	0	0,81
13	29/08/2015	11	0	0,83
14	12/09/2015	9	0	0,65
15	26/09/2015	6,7	0	0,60
16	10/10/2015	9,7	0	0,62
17	24/10/2015	10,3	0	0,63
18	07/11/2015	11,3	0	0,80
19	21/11/2015	18,3	0	0,45
20	05/12/2015	24	0	0,54
21	19/12/2015	12	0	0,51

«Continuación»

22	02/01/2016	11,7	0	0,65
23	16/01/2016	11,7	0	0,68
24	30/01/2016	14	0	0,78
25	13/02/2016	18,3	0	0,34
26	27/02/2016	19,7	0	0,72
27	12/03/2016	17,3	0	1,24
28	26/03/2016	13	0	0,74

Total de muestras obtenidas	84	100%
Número de muestras que superan los límites establecidos para bacterias heterótrofas.	0	0%
Número de muestras que superan los límites establecidos para coliformes totales.	0	0%
Número de muestras con concentraciones inferiores a 0,5 ppm de cloro residual libre.	7	8,33%

En las muestras de agua que no atraviesan por los tanques de almacenamiento de agua, siete de las 84 muestras obtenidas (8 por ciento) no cumplieron con los límites establecidos para cloro residual libre (Figura 10).

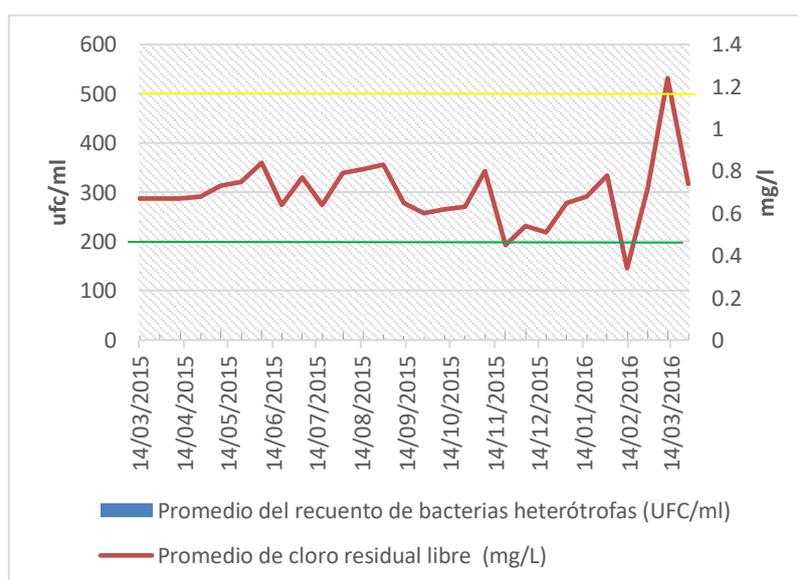


Figura 10: Promedio del recuento de heterótrofos y concentración de cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento

Las 84 muestras que no atravesaron por tanques de almacenamiento de agua, presentaron recuentos de bacterias heterótrofas por debajo de los límites exigidos en las directivas, se identificó un máximo de 36 UFC y un mínimo de 2 UFC/ml de bacterias heterótrofas en las muestras recolectadas (Anexo XIV).

Usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes, se determinó que existen diferencias significativas entre los promedios de bacterias heterótrofas de los tres grupos evaluados (heterótrofos en tanques con mantenimiento, heterótrofos en tanques sin mantenimiento y heterótrofos en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento de agua).

No se encontró coliformes totales en las muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento y muestras provenientes de tanques con mantenimiento. Cinco por ciento de las muestras provenientes de tanques sin mantenimiento, llegaron a presentar coliformes totales.

Los resultados de las determinaciones de cloro residual libre y bacterias heterótrofos en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento, permiten establecer que el uso de tanques de almacenamiento a nivel domiciliario disminuye la concentración de cloro residual libre y favorece el incremento de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección.

Los resultados reflejan la calidad del agua en las tuberías de la línea de conducción y coinciden con lo señalado por Allen *et al.* (2004), indican que los sistemas públicos de agua con tratamiento convencional son capaces de limitar las poblaciones de bacterias heterótrofas hasta por debajo de 100 UFC/ml, en el sistema de distribución.

Son diversos los parámetros asociados con cambios bacterianos en el agua potable: la calidad química, calidad biológica, concentración de desinfectantes residuales, la integridad física de la red de distribución, la temperatura del agua y el tiempo de residencia del agua. Si bien la mejora de procesos de tratamiento del agua como la eliminación de sustancias orgánicas o la aplicación eficaz de desinfectantes minimiza las actividades

microbianas, el estado del sistema de distribución sigue influyendo en los cambios de la calidad microbiológica del agua tratada (Allen *et al.* 1980).

Realizando una comparación de promedios para muestras independientes, usando la prueba T-Student, se determinó que existen diferencias en el recuento de bacterias heterótrofas entre los tres grupos evaluados, siendo mayor el número de bacterias heterótrofas en muestras de tanques sin limpieza y desinfección, seguido de muestras de tanques con mantenimiento y finalmente las muestras que no atravesaron por tanques de almacenamiento de agua.

En la determinación de coliformes totales de muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento de agua potable, las 84 muestras obtenidas, no presentaron crecimiento para bacterias coliformes totales (Anexo XVII), cumpliendo con los límites establecidos por el reglamento de calidad del agua para consumo humano. Sin embargo, siete de las 84 muestras obtenidas (8,33 por ciento) no cumplieron con los límites establecidos para cloro residual libre (Figura 11).

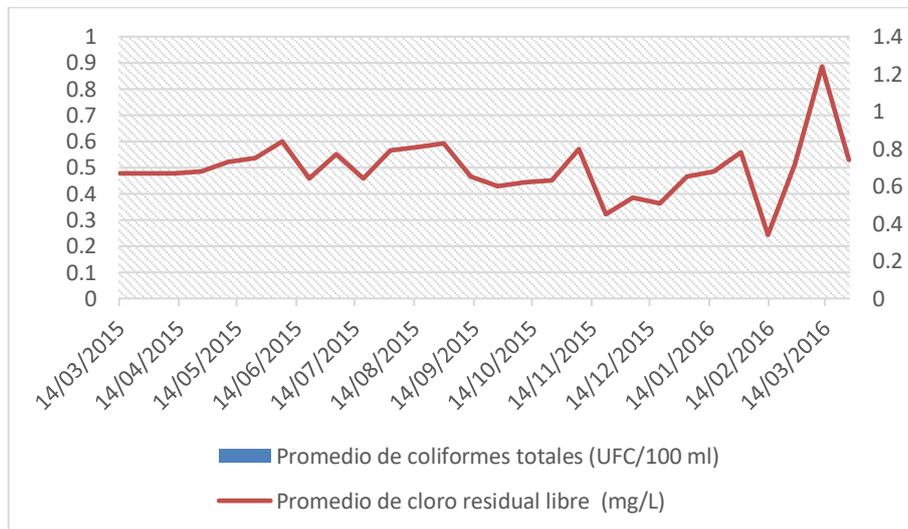


Figura 11: Promedio del recuento de coliformes totales y concentración de cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento

4.4. NÚMERO DE COLIFORMES TOTALES EN TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE AGUA POTABLE, SOMETIDOS A DOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN

Se evidenció diferencias entre los dos métodos de desinfección, el método de contacto directo con solución hipoclorosa a 104 ppm por 2 horas eliminó el total de coliformes totales. Mientras que el método de refregado usando una concentración de cloro con 50 ppm, no eliminó el total de coliformes totales (Cuadro 7), encontrándose promedios entre de 0 y 1 UFC/100cm² muestreados de superficie interna del tanque de almacenamiento.

Considerando que el cloro pierde su concentración y eficacia como desinfectante al entrar en contacto con la materia orgánica de las biopelículas; por otra parte, cortos periodos de exposición entre desinfectante y material a desinfectar son afectados por la temperatura ambiental y alta volatilidad del cloro. Estos aspectos podrían haber afectado la concentración y eficacia del método de desinfección por refregado con solución hipoclorosa a 50 ppm.

Cuadro 7: Número de coliformes totales (UFC/100cm²), en tanques sometidos a dos métodos de desinfección

Método de tratamiento	N° de tanques por tratamiento	Coliformes totales por 100 cm ² de superficie muestreada					Promedio de Coliformes Totales /100 cm ²	Total de área muestreada en el interior del tanque (cm ²)
		Coliformes Totales /100 cm ²	Coliformes Totales /100 cm ²	Coliformes Totales /100 cm ²	Coliformes Totales /100 cm ²	Coliformes Totales /100 cm ²		
Método de contacto con solución hipoclorosa 104 ppm (06/02/2016)	Tanque 1	0	0	0	0	0	0	500
	Tanque 2	0	0	0	0	0	0	500
	Tanque 3	0	0	0	0	0	0	500
	Tanque 4	0	0	0	0	0	0	500
	Tanque 5	0	0	0	0	0	0	500

«Continuación»

Método de refregado usando solución de cloro con 50 ppm (05/03/2016)	Tanque A	0	0	1	0	1	0,4	500
	Tanque B	1	0	3	0	0	0,8	500
	Tanque C	0	0	0	0	0	0	500
	Tanque D	1	0	2	0	2	1	500
	Tanque E	3	0	1	1	0	1	500

Christensen *et al.* (2014) estudiaron dos tanques abastecidos con agua subterránea en Dinamarca, realizaron muestreos para investigar la calidad del agua microbiana antes, durante y después de la limpieza de los tanques. Los recuentos de bacterias heterótrofas en agar extracto de levadura, a 22 °C aumentaron ligeramente después de la limpieza de los tanques, pero no excedieron los valores recomendados en ningún punto durante las investigaciones. Inmediatamente después del inicio, se midió un máximo de 10 UFC/ml en ambos tanques, y después de menos de 24 horas las concentraciones fueron inferiores a 1 UFC/ml en ambos tanques. Las bajas concentraciones se mantuvieron los días siguientes. La evaluación del riesgo del sistema al que pertenecían los tanques se enfocaba en la metodología HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) y sigue los principios de la ISO 22000. LeChevallier *et al.* (1987) identificaron un aumento de coliformes totales en el agua del sistema de distribución procedente de la planta de tratamiento de Nueva Jersey, como efecto de las biopelículas en las redes de distribución del agua potable.

4.5. RESULTADOS DE LAS MEDICIONES FISICOQUÍMICAS

Los valores de pH, conductividad y sólidos totales disueltos en las muestras de agua provenientes de tanques sin mantenimiento, con mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento, se encuentran dentro de los valores establecidos en el reglamento de la calidad del agua para consumo humano (Cuadros 8 y 9).

Usando la prueba estadística de Kolmogórov-Smirnov para dos muestras no paramétricas e independientes, se identificó que la significación asintótica es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias significativas entre los promedios de conductividad, sólidos totales

disueltos, pH y temperatura, en las muestras de agua provenientes de tanques con mantenimiento, sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento de agua potable (Figuras 12, 13, 14 y 15).

Se identificó un ligero incremento de la temperatura en las muestras de agua en tanques de almacenamiento de agua durante los meses de verano (Figura 15), concordante con Montoya *et al.* (2012) quienes señalaron que el almacenamiento del agua potable en tanques de compensación ocasiona un incremento de temperatura del agua, calentamiento debido a la transferencia de calor desde la cubierta y paredes hacia la masa de agua, identificándose estratificación térmica donde el agua que ingresa al tanque permanece en el fondo mientras que la de mayor edad se ubica encima.

Cuadro 8: Promedio de pH, conductividad, sólidos totales disueltos y temperatura en tanques sin limpieza y desinfección

Fecha	Promedio de pH	Promedio de conductividad (uS/cm)	Promedio de Sólidos Totales Disueltos (ppm)	Promedio de temperatura (°C)
14/03/2015	8,17	403	201	26,2
28/03/2015	8	335	167	25,3
11/04/2015	8,2	415	208	23,1
25/04/2015	8,2	415	208	23,1
09/05/2015	8,43	509	255	22,8
23/05/2015	8,37	537	268	20
06/06/2015	8,37	558	279	20
20/06/2015	8,08	546	273	19,3
04/07/2015	8,06	539	270	19,2
18/07/2015	8,14	544	273	17,9
01/08/2015	8,11	531	265	17,5
15/08/2015	8,07	519	260	16,9
29/08/2015	8,26	516	258	18
12/09/2015	8,32	517	259	17,5
26/09/2015	8,39	491	246	17,6

«Continuación»

10/10/2015	8,18	508	254	19,5
24/10/2015	8,42	509	254	18,9
07/11/2015	8,27	548	274	19,6
21/11/2015	8,39	571	292	19,6
05/12/2015	8,37	526	263	19,5
19/12/2015	8,38	534	267	19,8
02/01/2016	8,4	494	247	18,9
16/01/2016	8,45	653	326	24,4
30/01/2016	8,4	535	270	26,3
13/02/2016	8,21	446	223	25,2
27/02/2016	8,41	413	207	26,2

Cuadro 9: Promedio de pH, conductividad, sólidos totales disueltos y temperatura en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento

Fecha	Promedio de pH en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento	Promedio de conductividad en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento (uS/cm)	Promedio de Sólidos Totales Disueltos en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento (ppm)	Promedio de temperatura en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento (°C)
14/03/2015	8,05	419	210	23,7
28/03/2015	7,97	358	182	23,9
11/04/2015	8,14	435	217	22,9
25/04/2015	8,14	435	217	22,9
09/05/2015	8,45	538	270	21,6
23/05/2015	8,28	522	261	20,1
06/06/2015	8,2	548	274	19,8
20/06/2015	8,29	538	270	20,3
04/07/2015	8,14	546	273	19,2
18/07/2015	8,1	506	254	17,7
01/08/2015	8,19	537	269	17,9
15/08/2015	8,19	519	260	17,6
29/08/2015	8,46	540	270	18,3
12/09/2015	8,05	498	249	17,9
26/09/2015	8,42	531	266	18,2

«Continuación»

10/10/2015	8,26	513	256	19,2
24/10/2015	8,42	542	271	19,4
07/11/2015	8,22	539	269	19,6
21/11/2015	8,31	520	260	19,2
05/12/2015	8,38	560	279	19,9
19/12/2015	8,38	543	272	20,5
02/01/2016	8,43	529	265	19,3
16/01/2016	8,29	574	284	22,6
30/01/2016	8,36	535	268	24,5
13/02/2016	8,33	426	214	24,3
27/02/2016	8,15	394	197	24,5
12/03/2016	8,35	356	178	23,4
26/03/2016	8,32	461	231	24,7

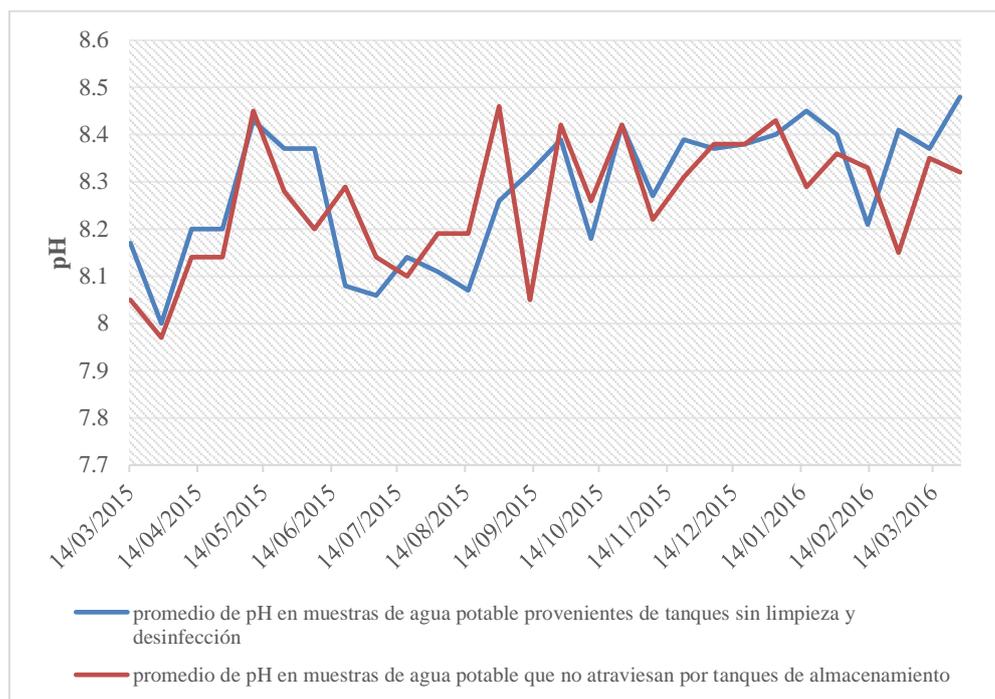


Figura 12: Promedio del pH de muestras provenientes de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento

Las Figuras 13 y 14, muestran que los valores de conductividad y sólidos totales disueltos en los grupos evaluados son similares, por lo que se puede establecer que estos valores no

son alterados como consecuencia del almacenamiento de agua potable en tanques de almacenamiento a nivel domiciliario.

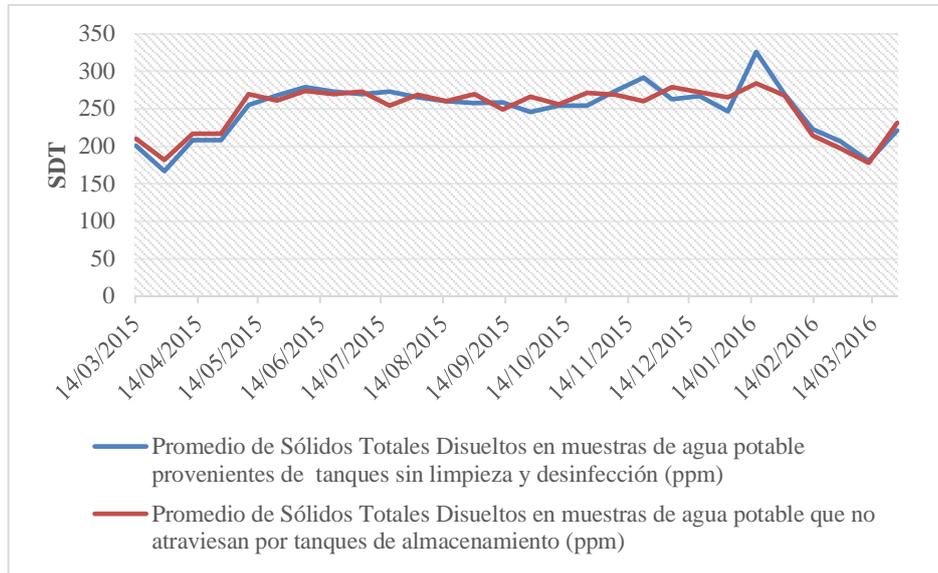


Figura 13: Promedio de Sólidos Totales Disueltos de muestras provenientes de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento

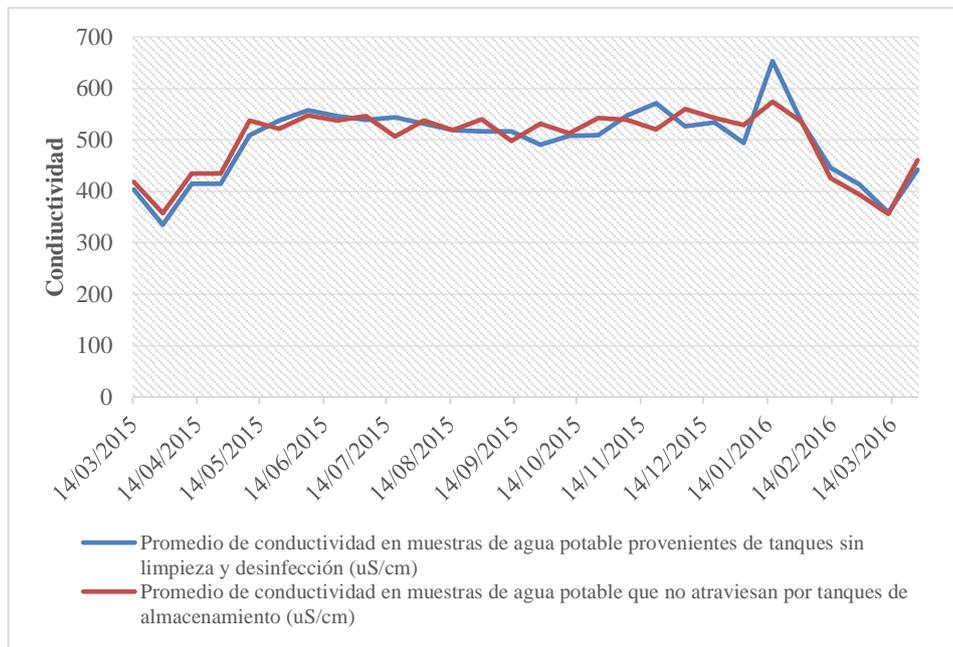


Figura 14: Promedio de conductividad de muestras de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento

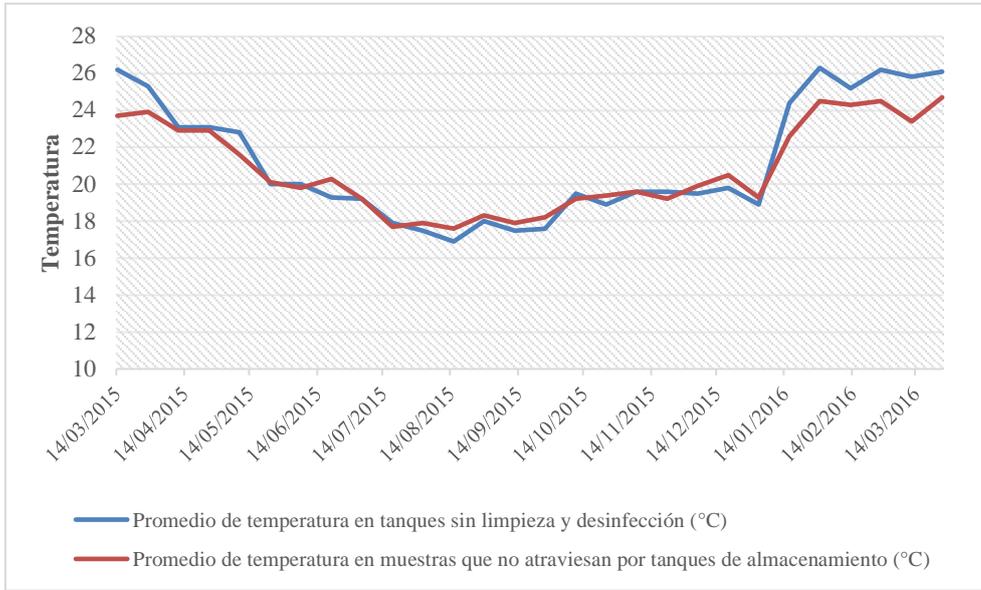


Figura 15: Promedio de la temperatura en muestras provenientes de tanques sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento

V. CONCLUSIONES

1. Al comparar el porcentaje de muestras que no cumplieron con las directivas para cloro residual libre en muestras de tanques sin limpieza y desinfección (68 por ciento), muestras de tanques con limpieza y desinfección (44 por ciento) y muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento (8 por ciento), se identificó que la mayor cantidad de muestras con concentraciones de cloro residual libre por debajo de lo indicado en el reglamento, provienen de los tanques sin mantenimiento.
2. La primera muestra en superar los límites para bacterias heterótrofas (500 UFC/ml) en un tanque sin limpieza y desinfección se presentó a los 189 días (6 meses aproximadamente).
3. El promedio de bacterias heterótrofas es significativamente mayor en el agua de tanques sin limpieza y desinfección (354,4 UFC/ml), en comparación con el promedio de heterótrofas del agua proveniente de tanques con limpieza y desinfección (88,59 UFC/ml). La significancia fue determinada usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes.
4. El promedio de bacterias heterótrofas es significativamente mayor en el agua de tanques con limpieza y desinfección (85,59 UFC/ml), en comparación con el promedio de heterótrofas de muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento (14,53 UFC/ml). La significancia fue determinada usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes.
5. El promedio de la concentración de cloro residual libre es significativamente mayor en el agua de los tanques con limpieza y desinfección (0,52 mg/L), en comparación con el promedio de las concentraciones de cloro residual libre del agua de tanques

sin limpieza y desinfección (0,41 mg/L). La significancia fue determinada usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes.

6. Se evidencia diferencias entre los dos métodos de desinfección para tanques de almacenamiento de agua potable, la desinfección con solución hipoclorosa a 104 ppm, logró eliminar el total de coliformes totales de las superficies internas del tanque, mientras que el método de refregado con solución de cloro a 50 ppm, permitió recuperar coliformes totales de 0 a 1 UFC por 100 cm² de la superficie interna del tanque.
7. Los valores de temperatura, sólidos totales disueltos, pH y conductividad no presentaron distribución normal; se usó la prueba estadística de Kolmogórov-Smirnov para muestras no paramétricas, determinándose que no existen diferencias significativas entre los promedios de conductividad, sólidos totales disueltos, pH y temperatura entre las muestras de tanques con mantenimiento, sin mantenimiento y muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento.
8. Las pruebas estadísticas T de Student para muestras independientes y Kolmogórov-Smirnov para muestras no paramétricas, resultaron útiles en la determinación de los niveles de significancia entre las diferentes muestras de agua.
9. La empresa SEDAPAL entrega el agua conforme a lo exigido en las normativas para los parámetros evaluados, no obstante, la falta de limpieza y desinfección de los tanques de almacenamiento en el interior de las viviendas altera la calidad del agua potable.

VI. RECOMENDACIONES

Al culminar el trabajo de investigación se llegó a las siguientes recomendaciones:

- Las autoridades de salud deben elaborar protocolos de monitoreo de cloro residual libre en el agua de los inmuebles, a fin de evitar la ausencia del desinfectante y mantener una adecuada calidad del agua para consumo humano.
- Realizar la limpieza y desinfección en los tanques con una frecuencia inferior o igual a los seis meses para evitar que las bacterias heterótrofas superen el límite máximo permitido (500 UFC/ml) en los mismos.
- Se recomienda que los sectores involucrados (DIGESA, SEDAPAL, Ministerio de Vivienda Construcción y Saneamiento) garanticen la calidad del agua para consumo al interior de las viviendas.
- Realizar estudios con la finalidad de identificar las diferentes especies de bacterias que habitan en los tanques de almacenamiento de agua a nivel domiciliario.
- Habiendo observado manchas amarillas por encima del nivel de agua en el interior de los tanques, recomendamos realizar estudios de la composición química de las paredes internas de los tanques de polietileno y sus posibles alteraciones en función al cloro.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albrich, J. M., & Hurst, J. K. 1982. Oxidative inactivation of *Escherichia coli* by hypochlorous acid. *FEBS letters*, 144(1), 157-161.

Allen, M. J.; Edberg, S. C. & Reasoner, D. J. 2004. Heterotrophic plate count bacteria—what is their significance in drinking water?. *International journal of food microbiology*, 92(3), 265-274.

Allen, M. J.; Taylor, R. H.; & Geldreich, E. E. 1980. The occurrence of microorganisms in water main encrustations. *Journal (American Water Works Association)*, 614-625.

American Water Works Association (AWWA). 1974. Water distribution research and applied development needs. *J. Amer. Water Works Assoc.* 6:385–390.

APHA, AWWA. WEF, 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association. Inc., Baltimore, MD USA, 1995.

Bassler, B. L. & Losick, R. 2006. Bacterially speaking. *Cell*, 125(2), 237-246.

Bencardino, C. M. 2000. *Estadística y muestreo*. Décima edición. Bogotá, Colombia, Ecoe Ediciones. 784 p.

Betancourth, M.; Botero, J. E. & Rivera, S. P. 2004. Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. *Colombia Médica*, 35(3 Supl 1), 34-39.

Bonner, J. T. 2010. Brainless behavior: a myxomycete chooses a balanced diet. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(12), 5267-5268.

Brown, T. L.; LeMay Jr, H. E.; Bursten, B. E. & Burdge, J. R. 2004. Química. Pearson educación, Novena edición, México, 1152 páginas

Cabral, J. P. 2010. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. International journal of environmental research and public health, 7(10), 3657-3703.

Characklis, W. G. 1988. Bacterial regrowth in distribution systems. American Water Works Association.

Christensen S., C. B.; Esbjørn, A. & Albrechtsen, H. J. 2014. Microbial water quality in clean water tanks following inspection and cleaning. In 2014 IWA World Water Congress & Exhibition.

Comisión Económica para América Latina de Las Naciones Unidas. 2018. Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe.

Dalton, H. M.; Goodman, A. E. & Marshall, K. C. 1996. Diversity in surface colonization behavior in marine bacteria. Journal of industrial microbiology, 17(3-4), 228-234.

De Sousa, C.; Colmenares, M. C. & Correia, A. 2008. Contaminación bacteriológica en los sistemas de distribución de agua potable: Revisión de las estrategias de control. Bol. Mal. Salud Amb, 48, 17-26.

Díaz, F. R., & Wärnberg, J. 2015. Bioestadística 2ªed. Madrid: Ed Paraninfo.

Dukan, S.; Dadon, S.; Smulski, D. R. & Belkin, S. 1996. Hypochlorous acid activates the heat shock and soxRS systems of Escherichia coli. Applied and environmental microbiology, 62(11), 4003-4008

Ecura, J.; Okot-Okumu, J. & Okurut, T. O. 2011. Monitoring residual chlorine decay and coliform contamination in water distribution network of Kampala, Uganda. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 15(1).

Evison, L. & Sunna, N. 2001. Microbial regrowth in household water storage tanks. *American Water Works Association. Journal*, 93(9), 85.

González, C. G. 2006. Tratamiento de datos. Ediciones Díaz de Santos, Universidad de Vigo, España.

González, C. G.; Lise, A. V. & Felpeto, A. B. 2013. Tratamiento de datos con R, Statistica y SPSS. Ediciones Díaz de Santos

Grayman, W. M.; Rossman, L. A.; Deininger, R. A.; Smith, C. D.; Arnold, C. N. & Smith, J. F. 2004. Mixing and aging of water in distribution system storage facilities. *Journal (American Water Works Association)*, 96(9), 70-80.

Guiracocha U., Andrea D. & Estefanía A., H. V. 2016. Evaluación de la calidad microbiológica del agua en la Planta de Potabilización EMAPAL-EP en la comunidad de Zhindilig (Bachelor's thesis).

Hall-Stoodley, L.; Costerton, J. W. & Stoodley, P. 2004. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 95-108.

Haro, J. A.; Nubes, G. & Calderón O., J. R. 2012. Riesgos sanitarios en calidad bacteriológica del agua: Una evaluación en diez estados de la República Mexicana. *Región y Sociedad*, 24(SPE. 3), 257-288.

Heydorn, A.; Nielsen, A. T.; Hentzer, M.; Sternberg, C.; Givskov, M.; Ersbøll, B. K. & Molin, S. 2000. Quantification of biofilm structures by the novel computer program COMSTAT. *Microbiology*, 146(10), 2395-2407.

Hwang, C.; Ling, F.; Andersen, G. L.; LeChevallier, M. W. & Liu, W. T. 2012. Microbial community dynamics of an urban drinking water distribution system subjected to phases of chloramination and chlorination treatments. *Applied and environmental microbiology*, 78(22), 7856-7865.

Jiménez, J. 2013. Manual para el diseño de sistemas de agua potable y alcantarillado sanitario. Facultad de Ingeniería Civil, Universidad Veracruzana. México-2010.

Keinänen, M. M.; Korhonen, L. K.; Lehtola, M. J.; Miettinen, I. T.; Martikainen, P. J.; Vartiainen, T. & Suutari, M. H. 2002. The microbial community structure of drinking water biofilms can be affected by phosphorus availability. *Applied and environmental microbiology*, 68(1), 434-439.

Kim, S. K.; Kaiser, D. & Kuspa, A. 1992. Control of cell density and pattern by intercellular signaling in *Myxococcus* development. *Annual Reviews in Microbiology*, 46(1), 117-139.

Lansley, K. and P. Boulos. 2005. *Comprehensive Handbook on Water Quality Analysis for Distribution Systems*, MW Soft, Inc.

Lasa, I.; Del Pozo, J. L.; Penades, J. R. & Leiva, J. 2005. Biofilms bacterianos e infección. In *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* (Vol. 28, No. 2, pp. 163-175). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.

LeChevallier, M. W.; Babcock, T. M. & Lee, R. G. 1987. Examination and characterization of distribution system biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(12), 2714-2724.

LeChevallier, M. W.; Cawthon, C. D. & Lee, R. G. 1988. Inactivation of biofilm bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(10), 2492-2499.

LeChevallier, M. W.; Schulz, W. & Lee, R. G. 1991. Bacterial nutrients in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(3), 857-862.

LeChevallier, M. W.; Seidler, R. J. & Evans, T. M. 1980. Enumeration and characterization of standard plate count bacteria in chlorinated and raw water supplies. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(5), 922-930.

Lentini, E. 2011. Servicios de agua potable y saneamiento: Lecciones de experiencias relevantes, Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), Serie Documentos de Proyectos, LC/W.392, Santiago de Chile.

Marchand P., E. O. 2002. Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana.

Márquez A., P. I.; Dávila C., M. L.; Ku-Pech, P. & Segovia, P. T. 1994. Calidad sanitaria de los suministros de agua para consumo humano en Campeche. Salud pública de México, 36(6), 655-661.

Méndez, J. P. & Solsona, F. 2002. Desinfección del agua. CEPIS, OPS.

Miettinen, I. T.; Vartiainen, T. & Martikainen, P. J. 1997. Phosphorus and bacterial growth in drinking water. Applied and environmental microbiology, 63(8), 3242-3245.

Ministerio de Salud. 2001. Resolución Ministerial N° 449-2001-SA-DM, Norma Sanitaria Para Trabajos de Desinsectación, Desratización, Desinfección, Limpieza y Desinfección de Reservorios de Agua, Limpieza de Ambientes y de Tanques Sépticos.

Ministerio de Salud. 2007. Resolución Ministerial MINSA N° 461. 2007. Guía Técnica Para El Análisis Microbiológico De Superficie en Contactos Con Alimentos y Bebidas.

Ministerio de Salud. 2010. Decreto Supremo N° 031, 2010. Aprueban reglamento de la calidad del agua para consumo humano.

Miranda, J. K. & Sahuquillo, R. M. 1997. Crecimiento bacteriano en las redes de distribución de agua potable: una revisión bibliográfica. Ingeniería del agua, 4(2).

Montoya, C.; Cruz, C. H.; Torres, P.; Laín, S. & Escobar, J. C. 2012. Evaluación de las condiciones de mezcla y su influencia sobre el cloro residual en tanques de compensación de un sistema de distribución de agua potable. Ingeniería y Ciencia, 8(15), 9-30.

Niquette, P.; Servais, P. & Savoie, R. 2001. Bacterial dynamics in the drinking water distribution system of Brussels. *Waterresearch*, 35(3), 675-682.

Nolberto S., V. y Ponce A., M. 2008 Estadística inferencial aplicada, Unidad de Post Grado de la Facultad de Educación de la Universidad Mayor de San Marcos.

Nordblom, O. & Bergdahl, L. 2003. Initiation of stagnation in drinking water storage tanks. *Journal of hydraulicengineering*, 130(1), 49-57.

NSF (The Public Health and Safety Organization, USA) y ANSI (American National Standards Institute, USA). 2016. NSF/ANSI 61, Overview. (en línea, sitio web). Consultado 03 nov 2016. Disponible en <http://www.nsf.org/services/by-industry/water-wastewater/municipal-water-treatment/nsf-ansi-standard-61-USA>.

Olmos, J. G. & Peró, M. 2001. Esquemas de estadística: aplicaciones en intervención ambiental (Vol. 20). Edicions Universitat Barcelona.

OMS (Organización Mundial de la Salud) 2006. Guía para la calidad del agua potable: Primer apéndice a la tercera edición. Volumen I. Ginebra. Suiza.

Poitelon, J. B.; Joyeux, M.; Welté, B.; Duguet, J. P.; Prestel, E. & DuBow, M. S. 2010. Variations of bacterial 16S rDNA phylotypes prior to and after chlorination for drinking water production from two surface water treatment plants. *Journal of industrial microbiology&biotechnology*, 37(2), 117-128.

Propato, M. & Uber, J. G. 2004. Vulnerability of water distribution systems to pathogen intrusion: How effective is a disinfectant residual?. *Environmental science & technology*, 38(13), 3713-3722.

Reasoner, D. J. & Geldreich, E. E. 1985. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(1), 1-7

Reilly, J. K. & Kippin, J. S. 1982. Relación entre el contaje bacteriológico y otros parámetros de calidad del agua tratada en sistemas de distribución. Hojas de divulgación técnica CEPIS, (8), 1-7.

Resolución de Consejo Directivo SEDAPAL N° 011. 2007. Aprueban reglamento de calidad de la prestación de servicios de saneamiento SEDAPAL. Diario Oficial El Peruano. Perú. 5 feb.

Ridgway, H. F. & Olson, B. H. 1981. Scanning electron microscope evidence for bacterial colonization of a drinking-water distribution system. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(1), 274-287.

Rogers, J.; Dowsett, A. B.; Dennis, P. J.; Lee, J. V. & Keevil, C. W. 1994. Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water systems. *Applied and environmental microbiology*, 60(6), 1842-1851.

Saue, K.; Camper, A. K.; Ehrlich, G. D.; Costerton, J. W. & Davies, D. G. 2002. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of bacteriology*, 184(4), 1140-1154.

Severiche, C.; Castillo, M. & Acevedo, R. 2013. Manual de métodos analíticos para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en aguas. Eumed.net.

Stoodley, P.; Sauer, K.; Davies, D. G. & Costerton, J. W. 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 187-209.

SUNASS (Superintendencia Nacional de Agua y Saneamiento, Perú). 2016. SUNASS: SEDAPAL S.A., Indicador de Calidad de la prestación de servicios, continuidad promedio horas/día. (en línea, sitio web). Consultado 29 oct 2016. Disponible en <http://www.sunass.gob.pe/websunassi/index.php/es/component/content/article/148-sunass/sunass2/indicadores-eps/628-lima>

SUNASS (Superintendencia Nacional de Agua y Saneamiento, Perú). 2016. SUNASS: SEDAPAL S.A., Indicador de Calidad de la prestación de servicios, Presión promedio.

(en línea, sitio web). Consultado 29 oct 2016. Disponible en <http://www.sunass.gob.pe/websunassi/index.php/es/component/content/article/148-sunass/sunass2/indicadores-eps/628-lima>

The National Academies Press, Safe Drinking Water Committee; United States of America. 1980. Drinking Water and Health, Volume 2.

The National Academies Press, United States of America; Committee on Indicators for Water borne Pathogens. 2004. Indicators for Waterborne Pathogens 332 pages.

The National Academies Press, United States of America; Committee on Public Water Supply Distribution Systems. 2005. Drinking Water Distribution Systems: Assessing and Reducing Risks

The National Academies Press, United States of America; Workshop on Emerging Drinking Water Contaminants. 1999. Identifying Future Drinking Water Contaminants, United States of America, 276 pages.

Thomas, E. L.; Grisham, M. B. & Jefferson, M. M. 1986. [40] Preparation and characterization of chloramines. *Methods in enzymology*, 132, 569-585.

Tolker-Nielsen, T.; Brinch, U. C.; Ragas, P. C.; Andersen, J. B.; Jacobsen, C. S., & Molin, S. 2000. Development and dynamics of *Pseudomonas* sp. biofilms. *Journal of Bacteriology*, 182(22), 6482-6489.

Tuovinen, O. H. & Hsu, J. C. 1982. Aerobic and anaerobic microorganisms in tubercles of the Columbus, Ohio, water distribution system. *Applied and environmental microbiology*, 44(3), 761-764.

Washington state department of Health, Division of Environmental Health office of Drinking Water. 2016. Questions & Answers Coliform Bacteria and Drinking Water, April 2016 DOH 331-181 Revised, <https://fortress.wa.gov/doh/odwpubs/>.

World Health Organization (WHO). 2005. Cleaning and disinfecting water storage tanks and tankers. Technical Notes for Emergencies, Technical Note, (3).

World Health Organization. 2003. Total Dissolved Solids in Drinking-water. Background Document for preparation of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/16)

World Health Organization. 2008. Guidelines for Drinking-water Quality 3rd Ed. Incorporating the First and Second Addenda Volume 1, Recommendations. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Available from: www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/index.html.

Zhang, M.; Liu, W.; Nie, X.; Li, C.; Gu, J. & Zhang, C. 2012. Molecular Analysis of Bacterial Communities in Biofilms of a Drinking Water Clearwell. *Microbes and Environments*, 27(4), 443-448.

Zobell, C. E. 1943. The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of bacteriology*, 46(1), 39.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Análisis de normalidad de las variables

- Las variables recuento de heterótrofos en tanques con limpieza y desinfección, recuento de heterótrofos en tanque sin limpieza y desinfección, recuento de heterótrofos en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento, cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección, cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección presentan distribución normal.

- La variable cloro residual libre en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento no tiene distribución normal.

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogórov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Recuento de bacterias heterótrofas en tanques con limpieza y desinfección	,128	28	,200*	,971	28	,599
Cloro residual en tanques con limpieza y desinfección	,117	28	,200*	,953	28	,239
Recuento de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección	,116	28	,200*	,960	28	,347
Cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección	,110	28	,200*	,953	28	,236
Recuento de bacterias heterótrofas en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento	,113	28	,200*	,977	28	,772
Cloro residual en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento de agua	,157	28	,076	,888	28	,006

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Anexo 2: Comparación de medias según el recuento de bacterias heterótrofas usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes

A continuación, se muestra las tablas de los resultados del análisis de la comparación de medias de los siguientes parámetros:

1. Recuento de bacterias heterótrofas en tanques con limpieza y desinfección
2. Recuento de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección

Prueba para una muestra

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Recuento de bacterias heterótrofas en tanques con limpieza y desinfección	47,681	27	,000	88,59286	84,7805	92,4052
Recuento de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección	11,505	27	,000	354,40000	291,1935	417,6065

H_0 = No existen diferencias entre los promedios.

H_A = Si existen diferencias entre los promedios.

Se rechaza la hipótesis nula debido que la significancia es menor a 0.05 y se concluye que la diferencia de medias es distinta a cero. Por lo tanto, existe diferencia de los valores promedios entre el recuento de bacterias heterótrofas de los dos grupos evaluados.

Anexo 3: Comparación de medias según el recuento de bacterias heterótrofas usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes

A continuación, se muestra las tablas de los resultados del análisis de las medias de las variables:

- Recuento de bacterias heterótrofas en tanques con limpieza y desinfección
- Recuento de bacterias heterótrofas en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento

Prueba para una muestra

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Recuento de bacterias heterótrofas en tanques con limpieza y desinfección	47,681	27	,000	88,59286	84,7805	92,4052
Recuento de bacterias heterótrofas en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento	18,528	27	,000	14,40476	12,8095	16,0000

H_0 = No existen diferencias entre los promedios.

H_A = Si existen diferencias entre los promedios.

Se rechaza la hipótesis nula debido que la significancia es menor a 0.05 y se concluye que la diferencia de medias es distinta a cero. Por lo tanto, existe diferencia de los valores promedios entre el recuento de bacterias heterótrofas en los dos grupos evaluados.

Anexo 4: Comparación de medias según el recuento de bacterias heterótrofas usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes

A continuación, se muestra las tablas de los resultados del análisis de las medias de las variables:

1. Recuento de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección
2. Recuento de bacterias heterótrofas en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento

Prueba para una muestra						
Valor de prueba = 0						
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Recuento de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección	11,505	27	,000	354,40000	291,1935	417,6065
Recuento de bacterias heterótrofas en muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento	18,528	27	,000	14,40476	12,8095	16,0000

H_0 = No existen diferencias entre los promedios.

H_A = Si existen diferencias entre los promedios.

Se rechaza la hipótesis nula debido que la significancia es menor a 0.05 y se concluye que la diferencia de medias es distinta a cero. Por lo tanto, existe diferencia de los valores promedios en el recuento de bacterias heterótrofas en los dos grupos evaluados.

Anexo 5: Prueba de comparación de medias según la concentración de cloro residual libre, usando la prueba estadística T de Student para muestras independientes

A continuación, se muestra las tablas de los resultados del análisis de las medias de las variables:

1. Cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección
2. Cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección

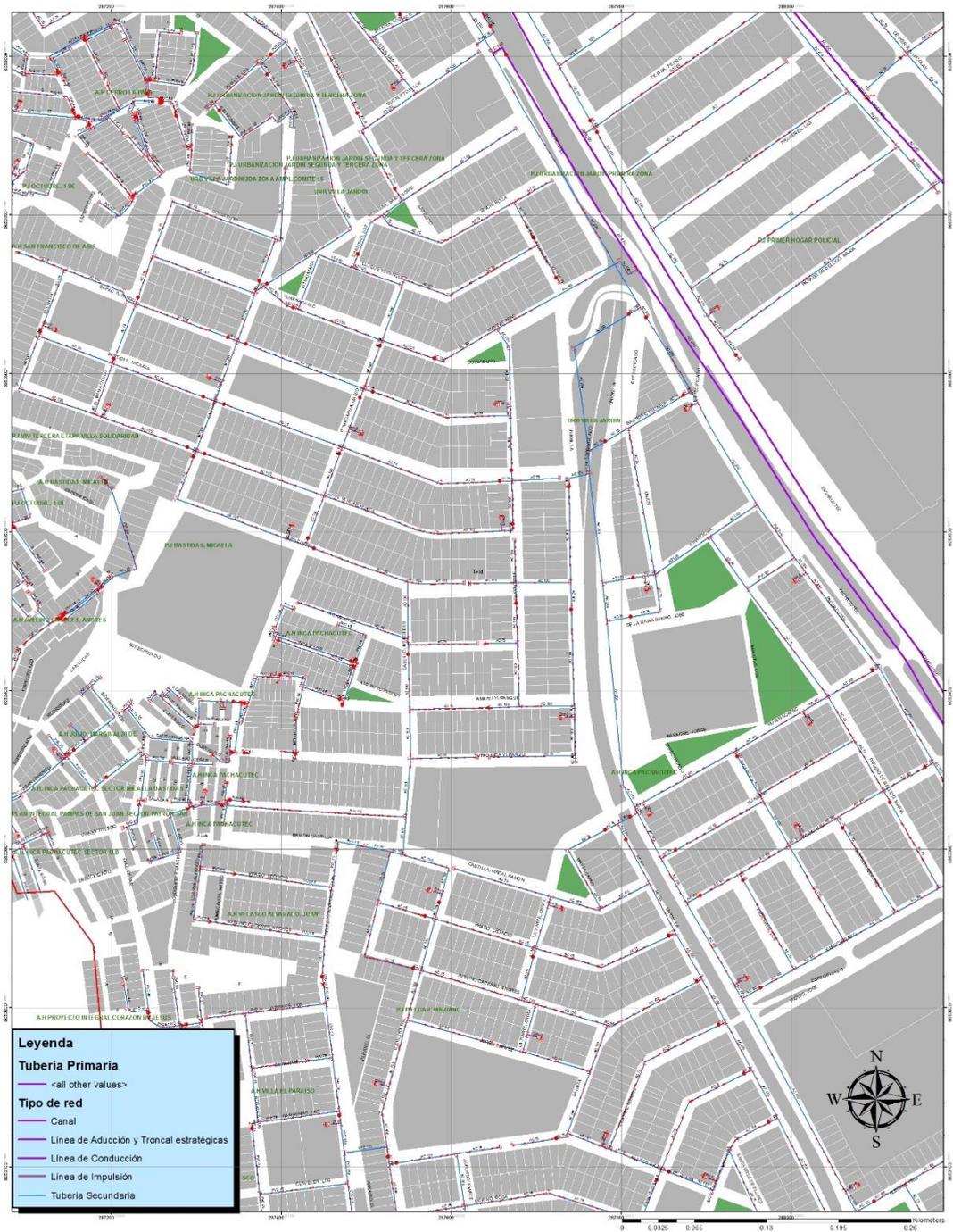
Prueba para una muestra						
Valor de prueba = 0						
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección	15,288	27	,000	,51593	,4467	,5852
Cloro residual libre en tanques sin limpieza y desinfección	12,379	27	,000	,41036	,3423	,4784

H_0 = No existen diferencias entre los promedios.

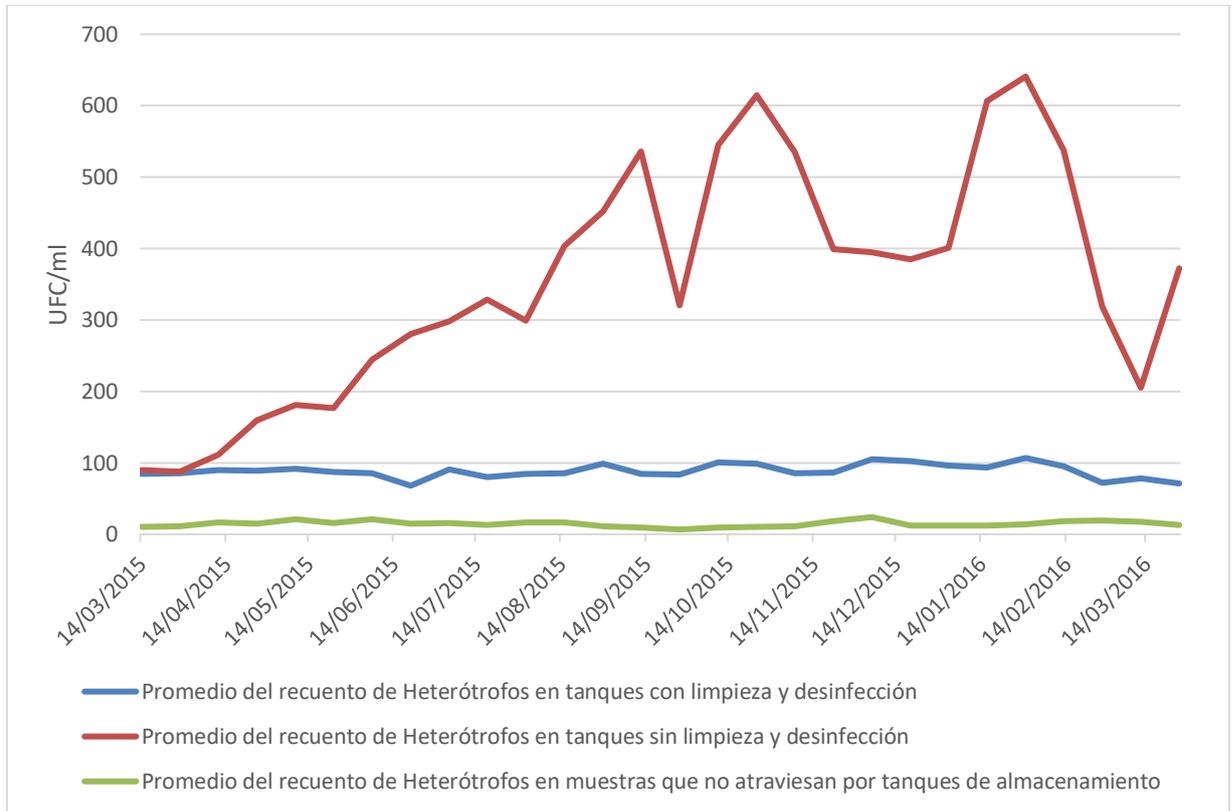
H_A = Si existen diferencias entre los promedios.

Se rechaza la hipótesis nula debido que la significancia es menor a 0.05 y se concluye que la diferencia de medias es distinta a cero. Por lo tanto, existe diferencia de los valores promedios en la concentración de cloro residual libre en tanques con mantenimiento y tanques sin mantenimiento.

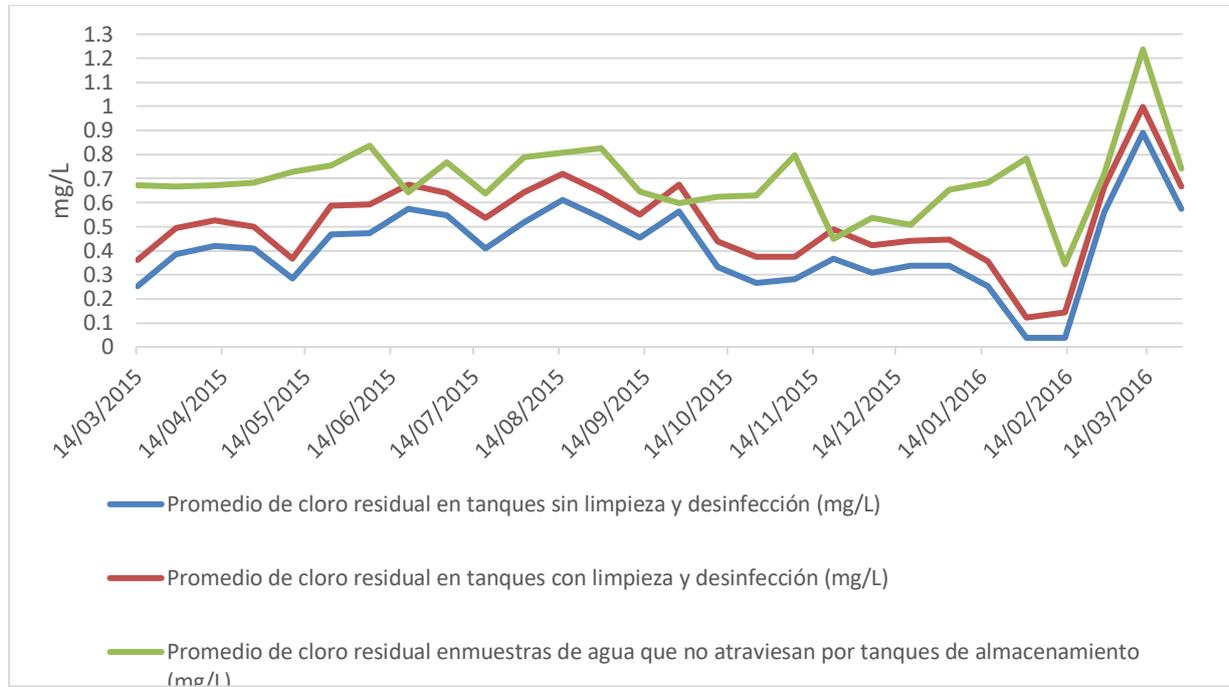
Anexo 6: Localización de la línea de conducción de agua potable donde se desarrolló el estudio



Anexo 7: Promedio del recuento de heterótrofos en tanques con limpieza y desinfección, sin limpieza y desinfección y muestras de agua que no atraviesan por tanques de agua del 14 de marzo del 2015 al 26 de marzo del 2016



Anexo 8: Promedio de la concentración de cloro residual libre en tanques con limpieza y desinfección, sin limpieza y desinfección y muestras de agua que no atraviesan por tanques de agua del 14 de marzo del 2015 al 26 de marzo del 2016



Anexo 9: Informe de ensayo de muestras de agua provenientes de tanques sin limpieza y desinfección al inicio del experimento usando Agar Plate Count

Informe de Ensayo N° 96110

DATOS DEL CLIENTE

Solicitante HERRERA MANRIQUE ALEXANDER JACINTO
 Domicilio legal JR. PACHACUTEC 256 URB. MICAELA BASTIDAS, VILLA MARIA DEL TRIUNFO
 Contacto Sr. Alexander Jacinto Herrera Manrique
 Dirección de entrega JR. PACHACUTEC 256 URB. MICAELA BASTIDAS, VILLA MARIA DEL TRIUNFO

DATOS DEL PRODUCTO

Producto AGUA PARA CONSUMO HUMANO
 Ensayos realizados en Av. La Marina 3035 San Miguel - Lima
 Fecha de recepción 2015.02.21 Fecha de inicio de análisis 2015.02.21
 Referencia COT 53958 Fecha de término de análisis 2015.02.28
 Procedencia Muestra proporcionada por el Cliente
 Validez del documento 7 días Custodia dirimencia Muestra no sujeta a dirimencia por su perecibilidad y/o muestra única

DATOS DE LA MUESTRA: M - 142351

Identificación	Cantidad	Descripción / Presentación	Precinto	FV	FP
#1 FM:21.02.2015 / HM:06:00	500mL aprox.	01 Frasco de vidrio graduado e identificado	--	--	--
#2 FM:21.02.2015 / HM:06:30	500mL aprox.	01 Frasco de vidrio graduado e identificado	--	--	--
#3 FM:21.02.2015 / HM:07:00	500mL aprox.	01 Frasco de vidrio graduado e identificado	--	--	--
#4 FM:21.02.2015 / HM:07:15	500mL aprox.	01 Frasco de vidrio graduado e identificado	--	--	--

DATOS DEL SERVICIO

Identificación	Análisis	Unidad	Resultado
#1	Coliformes Totales (Numeración)	NMP/100mL	<1.1
#1	Heterótrofos (Recuento)	UFC/mL	<1
#2	Coliformes Totales (Numeración)	NMP/100mL	<1.1
#2	Heterótrofos (Recuento)	UFC/mL	<1
#3	Coliformes Totales (Numeración)	NMP/100mL	<1.1
#3	Heterótrofos (Recuento)	UFC/mL	<1
#4	Coliformes Totales (Numeración)	NMP/100mL	<1.1
#4	Heterótrofos (Recuento)	UFC/mL	<1

Métodos

Coliformes totales (Numeración) : SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221 B, 22nd Ed.2012. Multiple-Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Standard Total Coliform Fermentation Technique.
Heterótrofos (Recuento). : SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9215-B, 22nd Ed. 2012. Heterotrophic Plate Count - Pour Plate Method.

NSF INASSA S.A.C

Sara Gonzales Carrasco
 Jefe del Laboratorio de Microbiología
 C.B.P. N° 2534

Emma Aguinaga Malca
 Jefe de División de Laboratorios
 C.I.P. N° 29217

Lima, 2 de marzo de 2015

Anexo 10: Número de bacterias heterótrofas y concentración de cloro residual libre, en tanques con limpieza y desinfección del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016

Fecha	Tanques con mantenimiento									
	Tanque1		Tanque2		Tanque3		Tanque4		Tanque5	
	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual Libre (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual Libre (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual Libre (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual Libre (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual Libre (mg/L)
14/03/2015	96	0.35	92	0.37	79	0.34	79	0.38	77	0.37
28/03/2015	68	0.48	86	0.5	86	0.48	82	0.5	106	0.51
11/04/2015	58	0.51	93	0.54	80	0.55	109	0.51	109	0.52
25/04/2015	72	0.50	120	0.5	89	0.52	82	0.5	83	0.48
09/05/2015	108	0.37	96	0.35	69	0.4	115	0.35	72	0.36
23/05/2015	66	0.58	70	0.54	106	0.58	75	0.63	120	0.6
06/06/2015	64	0.58	97	0.56	84	0.61	104	0.62	76	0.59
20/06/2015	42	0.67	70	0.71	72	0.69	72	0.65	84	0.65
04/07/2015	90	0.65	97	0.63	86	0.64	96	0.63	83	0.65
18/07/2015	62	0.52	78	0.53	68	0.57	72	0.55	118	0.52
01/08/2015	46	0.63	109	0.66	90	0.64	89	0.67	89	0.61
15/08/2015	54	0.71	79	0.74	120	0.7	84	0.75	90	0.7
29/08/2015	62	0.64	113	0.68	119	0.63	90	0.65	110	0.62
12/09/2015	52	0.54	89	0.56	73	0.55	119	0.53	90	0.57
26/09/2015	68	0.66	97	0.68	72	0.7	90	0.64	90	0.69
10/10/2015	104	0.44	81	0.43	108	0.42	107	0.47	105	0.43
24/10/2015	96	0.37	102	0.42	77	0.35	118	0.36	101	0.38
07/11/2015	76	0.36	101	0.39	73	0.37	99	0.34	77	0.41
21/11/2015	98	0.46	83	0.5	95	0.51	84	0.49	73	0.48
05/12/2015	94	0.41	108	0.4	93	0.43	112	0.41	117	0.46
19/12/2015	86	0.43	107	0.45	92	0.48	108	0.41	119	0.44
02/01/2016	80	0.48	82	0.43	94	0.42	118	0.43	105	0.47
16/01/2016	96	0.34	106	0.35	106	0.38	69	0.33	92	0.38
30/01/2016	112	0.12	109	0.14	93	0.12	111	0.12	109	0.11
13/02/2016	118	0.14	87	0.12	99	0.15	71	0.16	103	0.15
27/02/2016	52	0.64	73	0.69	87	0.65	75	0.66	74	0.69
12/03/2016	26	0.99	80	1.01	98	0.98	85	1.03	103	0.98
26/03/2016	38	0.67	77	0.68	70	0.67	79	0.65	90	0.66

Anexo 11: Número de bacterias heterótrofas en tanques sin limpieza y desinfección del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016

Fecha	Tanques sin limpieza y desinfección									
	Tanque6		Tanque7		Tanque8		Tanque9		Tanque10	
	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)
14/03/2015	94	0.26	86	0.21	86	0.24	106	0.27	76	0.28
28/03/2015	66	0.40	112	0.42	94	0.35	68	0.37	98	0.39
11/04/2015	122	0.44	116	0.42	104	0.45	98	0.40	116	0.39
25/04/2015	136	0.41	164	0.43	158	0.42	166	0.39	174	0.40
09/05/2015	180	0.29	118	0.31	204	0.28	185	0.30	218	0.24
23/05/2015	186	0.49	194	0.47	168	0.44	191	0.45	144	0.49
06/06/2015	128	0.49	207	0.49	381	0.44	256	0.50	249	0.45
20/06/2015	158	0.59	397	0.55	284	0.59	424	0.58	138	0.56
04/07/2015	140	0.57	326	0.52	208	0.55	384	0.58	432	0.52
18/07/2015	318	0.43	282	0.41	269	0.39	427	0.42	348	0.40
01/08/2015	180	0.54	216	0.52	320	0.49	364	0.50	416	0.54
15/08/2015	434	0.63	384	0.60	426	0.61	412	0.59	362	0.62
29/08/2015	432	0.55	452	0.54	466	0.51	484	0.57	426	0.52
12/09/2015	594	0.46	522	0.46	486	0.48	564	0.41	514	0.46
26/09/2015	240	0.58	413	0.54	326	0.56	238	0.55	384	0.59
10/10/2015	534	0.35	452	0.34	546	0.33	610	0.30	584	0.34
24/10/2015	546	0.28	632	0.26	584	0.24	684	0.27	628	0.28
07/11/2015	474	0.29	558	0.29	618	0.27	486	0.29	540	0.27
21/11/2015	320	0.38	446	0.37	448	0.36	426	0.39	354	0.34
05/12/2015	344	0.32	345	0.30	422	0.33	394	0.31	470	0.28
19/12/2015	394	0.34	414	0.34	328	0.32	416	0.35	371	0.34
02/01/2016	316	0.36	428	0.37	360	0.31	528	0.34	374	0.31
16/01/2016	612	0.25	552	0.22	496	0.27	724	0.26	648	0.27
30/01/2016	684	0.04	568	0.02	674	0.06	584	0.02	694	0.05
13/02/2016	620	0.05	533	0.04	464	0.05	586	0.01	486	0.04
27/02/2016	416	0.57	200	0.57	272	0.56	186	0.57	519	0.53
12/03/2016	90	0.90	132	0.86	183	0.90	284	0.92	336	0.87
26/03/2016	368	0.59	382	0.61	452	0.56	199	0.55	459	0.56

Anexo 12: Número de bacterias heterótrofas, en muestras de agua que no atraviesan por un tanque de almacenamiento, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016

Fecha	Muestras que no atraviesan por tanques de almacenamiento					
	Vivienda 1		Vivienda 2		Vivienda 3	
	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)	Recuento de Heterótrofas (UFC/ml)	Cloro Residual (mg/L)
14/03/2015	8	0.68	9	0.65	14	0.69
28/03/2015	15	0.68	4	0.67	15	0.65
11/04/2015	4	0.68	32	0.64	13	0.70
25/04/2015	2	0.66	23	0.68	18	0.71
09/05/2015	13	0.74	29	0.69	21	0.75
23/05/2015	14	0.76	29	0.73	3	0.77
06/06/2015	12	0.86	30	0.83	20	0.82
20/06/2015	16	0.67	9	0.61	20	0.65
04/07/2015	19	0.79	5	0.79	23	0.72
18/07/2015	16	0.64	5	0.61	17	0.66
01/08/2015	9	0.79	28	0.81	12	0.77
15/08/2015	4	0.81	25	0.82	20	0.79
29/08/2015	2	0.85	9	0.78	22	0.85
12/09/2015	5	0.66	18	0.65	4	0.63
26/09/2015	4	0.61	13	0.62	3	0.56
10/10/2015	7	0.63	7	0.59	15	0.65
24/10/2015	13	0.64	16	0.66	2	0.59
07/11/2015	17	0.81	4	0.81	13	0.77
21/11/2015	34	0.46	19	0.48	2	0.41
05/12/2015	12	0.52	36	0.55	24	0.54
19/12/2015	15	0.53	7	0.48	14	0.51
02/01/2016	8	0.67	14	0.62	13	0.67
16/01/2016	5	0.69	16	0.65	14	0.71
30/01/2016	13	0.79	16	0.75	13	0.81
13/02/2016	17	0.34	33	0.31	5	0.38
27/02/2016	22	0.73	15	0.75	22	0.68
12/03/2016	15	1.23	12	1.16	25	1.32
26/03/2016	9	0.75	21	0.72	9	0.75

Anexo 13: Número de coliformes totales, en muestras de agua provenientes de tanques de almacenamiento con limpieza y desinfección periódica, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016

Fecha	Tanques con mantenimiento				
	Tanque1	Tanque2	Tanque3	Tanque4	Tanque5
	Coliformes Totales (UFC/100 ml)				
14/03/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
28/03/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
11/04/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
25/04/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
09/05/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
23/05/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
06/06/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
20/06/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
04/07/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
18/07/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
01/08/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
15/08/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
29/08/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
12/09/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
26/09/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
10/10/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
24/10/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
07/11/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
21/11/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
05/12/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
19/12/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
02/01/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
16/01/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
30/01/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
13/02/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
27/02/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
12/03/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
26/03/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

Anexo 14: Número de coliformes totales, en muestras de agua provenientes de tanques de almacenamiento sin limpieza y desinfección, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016

Fecha	Tanques sin mantenimiento				
	Tanque6	Tanque7	Tanque8	Tanque9	Tanque10
	Coliformes Totales (UFC/100 ml)				
14/03/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
28/03/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
11/04/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
25/04/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
09/05/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
23/05/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
06/06/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
20/06/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
04/07/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
18/07/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
01/08/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
15/08/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
29/08/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
12/09/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
26/09/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
10/10/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
24/10/2015	< 1	2	< 1	< 1	< 1
07/11/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
21/11/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
05/12/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
19/12/2015	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
02/01/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
16/01/2016	< 1	< 1	< 1	1	< 1
30/01/2016	3	1	< 1	< 1	2
13/02/2016	< 1	< 1	2	3	< 1
27/02/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
12/03/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
26/03/2016	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

Anexo 15: Número de bacterias coliformes totales, en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento de agua, del 14 de marzo de 2015 al 26 de marzo de 2016

Fecha	Coliformes totales en muestras de agua que no atraviesan por tanques de almacenamiento.		
	Vivienda 1	Vivienda 2	Vivienda 3
	Coliformes Totales (UFC/100 ml)	Coliformes Totales (UFC/100 ml)	Coliformes Totales (UFC/100 ml)
14/03/2015	< 1	< 1	< 1
28/03/2015	< 1	< 1	< 1
11/04/2015	< 1	< 1	< 1
25/04/2015	< 1	< 1	< 1
09/05/2015	< 1	< 1	< 1
23/05/2015	< 1	< 1	< 1
06/06/2015	< 1	< 1	< 1
20/06/2015	< 1	< 1	< 1
04/07/2015	< 1	< 1	< 1
18/07/2015	< 1	< 1	< 1
01/08/2015	< 1	< 1	< 1
15/08/2015	< 1	< 1	< 1
29/08/2015	< 1	< 1	< 1
12/09/2015	< 1	< 1	< 1
26/09/2015	< 1	< 1	< 1
10/10/2015	< 1	< 1	< 1
24/10/2015	< 1	< 1	< 1
07/11/2015	< 1	< 1	< 1
21/11/2015	< 1	< 1	< 1
05/12/2015	< 1	< 1	< 1
19/12/2015	< 1	< 1	< 1
02/01/2016	< 1	< 1	< 1
16/01/2016	< 1	< 1	< 1
30/01/2016	< 1	< 1	< 1
13/02/2016	< 1	< 1	< 1
27/02/2016	< 1	< 1	< 1
12/03/2016	< 1	< 1	< 1
26/03/2016	< 1	< 1	< 1

Anexo 16: Certificado de calibración del equipo medidor de cloro libre



INVERSIONES HUALIX

Av. Mariano Carranza No. 648 Of 101 - Lima 01
 265-0920 / 265-3673 Web: www.hualix.com.pe
 info@hualix.com.pe ventas@hualix.com.pe

Laboratorio de Calibración

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Número: CC-03382-15

Fecha: 07 de Enero del 2015

Página 1 de 1

SOLICITANTE : ALEXANDER JACINTO HERRERA MANRIQUE
 Dirección : Jr. Pachacutec # 256 – Urb. Micaela Bastidas – Villa Maria del Triunfo - Lima

EQUIPO : MEDIDOR DE CLORO LIBRE Y TOTAL CON INDICACIÓN DIGITAL
 Fabricante : Hanna Instruments Número de serie : H020793I
 Procedencia : Hungría Rango de medición : 0.0 a 5.00mg/L
 Modelo : HI95711 Resolución : 0.01 / 0.10mg/L
 Código de Ident. : C.I. 6048

FECHA Y LUGAR DE CALIBRACIÓN:

Calibrado el 07 de Enero del 2015 en el Laboratorio de INVERSIONES HUALIX E.I.R.L.

PROXIMA CALIBRACION RECOMENDADA:

Enero del 2016.

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACION

La calibración se efectuó estrictamente según lo estipulado por el manual del fabricante.

TRAZABILIDAD

Se utilizó estándares certificados "CAL CHECK" de 0.00 y 1.00mg/L, de Cloro Libre y Cloro Total marca Hanna Instruments HI96701-11, HI96711-11 lotes 1300/1312/1301, con convencimiento en Mayo del 2016 y un termohigrómetro digital serie 101412014 con Certificado de Calibración 4087-1231591.

CONDICIONES DE CALIBRACIÓN

Temperatura ambiental: 23.4°C

Humedad relativa: 80%

OBSERVACIONES

- Con fines de identificación se ha colocado una etiqueta autoadhesiva de color verde con la indicación CALIBRADO.
- La periodicidad de calibración está en función del uso, conservación y mantenimiento del equipo.
- La incertidumbre ha sido calculada con un factor de cobertura $k = 2$ para un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS DE MEDICIÓN

CLORO LIBRE

SOLUCIÓN PATRÓN (mg/L)	LECTURA OBTENIDA (mg/L)	DESVIACIÓN (mg/L)	INCERTIDUMBRE ±(mg/L)
0.00	0.00	0.00	0.005
1.00	0.98	0.02	0.012

CLORO TOTAL

SOLUCIÓN PATRÓN (mg/L)	LECTURA OBTENIDA (mg/L)	DESVIACIÓN (mg/L)	INCERTIDUMBRE ±(mg/L)
0.00	0.00	0.00	0.005
1.00	0.98	0.02	0.013

Mario Antonio Pils
 Dpto. de Metrología



Este certificado no podrá ser reproducido parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio que lo emite

Anexo 17: Certificado de calibración de medidor de PH/CE/TEMP/SDT


INVERSIONES HUALIX

Av. Mariano Carranza No. 648 Of 101 - Lima 01
☎ 265-0920 / 265-3673 Web: www.hualix.com.pe
✉ info@hualix.com.pe ventas@hualix.com.pe

Laboratorio de Calibración

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Número: CC-03488-15 Fecha: 13 de Febrero del 2015
Página 1 de 2

SOLICITANTE: ALEXANDER JACINTO HERRERA MANRIQUE
Dirección: Jr. Pachacutec # 256 – Urb. Micaela Bastidas – V.M.T. - Lima

INSTRUMENTO : MEDIDOR DE PH/CE/TEMP
Fabricante : Hanna Instruments Rango de medición : 0.00 a 14.00pH
Procedencia : Mauritius 0 a 3999µS/cm
Modelo : HI98129 0 a 2000ppm
Código de ident. : Comb-389 0.0 a 60.0°C
Número de serie : No indica

FECHA Y LUGAR DE CALIBRACIÓN:
Calibrado el 13 de Febrero del 2015 en el Laboratorio de INVERSIONES HUALIX E.I.R.L.

PROXIMA CALIBRACION RECOMENDADA:
Febrero del 2016.

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACION
La calibración se efectuó estrictamente según lo estipulado por el manual del fabricante.

TRAZABILIDAD
Se utilizó una solución de calibración de pH 4.01 lote 3523 con vencimiento en Agosto del 2016; una solución de calibración de pH 7.01 lote 3381 con vencimiento en Junio del 2016; una solución de calibración de pH 10.01 lote 2451 con vencimiento en Junio del 2015 y un termohigrómetro digital serie 101412014 con Certificado de Calibración 4087-1231591.

CONDICIONES DE CALIBRACIÓN
Temperatura ambiental: 26.3°C
Humedad relativa: 74%

OBSERVACIONES
- Con fines de identificación se ha colocado una etiqueta autoadhesiva de color verde con la indicación "CALIBRADO".
- La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento.
- La incertidumbre de la medición se determinó con un factor de cobertura $k=2$, para un nivel de confianza de 95%.

RESULTADOS DE MEDICIÓN
Los resultados de calibración se muestran en la página siguiente del presente documento.


Maria Antonia Felix
Dpto. de Metrología



Este certificado no podrá ser reproducido parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio que lo emite



INVERSIONES HUALIX

Av. Mariano Carranza No. 648 Of 101 - Lima 01
☎ 265-0920 / 265-3673 Web: www.hualix.com.pe
✉ info@hualix.com.pe ventas@hualix.com.pe

Laboratorio de Calibración

Número: CC-03488-15

Fecha: 13 de Febrero del 2015

Página 2 de 2

RESULTADOS DE CALIBRACIÓN

pH

BUFFER PATRÓN DE pH	LECTURA OBTENIDA (pH)	DESVIACIÓN (pH)	INCERTIDUMBRE (pH)
4.01	4.00	0.01	±0.25
7.01	7.01	0.00	±0.25
10.01	10.00	0.01	±0.25

CONDUCTIVIDAD

SOLUCIÓN PATRÓN DE CONDUCTIVIDAD	LECTURA OBTENIDA (uS/cm)	DESVIACIÓN (uS/cm)	INCERTIDUMBRE (uS/cm)
1413	1413	0.00	±0.02




Marco Antonio Felix
Dpto. de Metrología
NACIONAL

Este certificado no podrá ser reproducido parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio que lo emite

Anexo 18: Certificado de calibración del equipo medidor de cloro libre



INVERSIONES HUALIX

Av. Mariano Carranza No. 648 Of 101 - Lima 01
 ☎ 265-0920 / 265-3673 Web: www.hualix.com.pe
 ✉ info@hualix.com.pe ventas@hualix.com.pe

Laboratorio de Calibración

CERTIFICADO DE CALIBRACION

Número: CC-04352-16

Fecha: 11 de Enero del 2016

Página 1 de 1

SOLICITANTE : ALEXANDER JACINTO HERRERA MANRIQUE
 Dirección : Jr. Pachacutec # 256 – Urb. Micaela Bastidas – Villa María del Triunfo - Lima

EQUIPO : MEDIDOR DE CLORO LIBRE Y TOTAL CON INDICACIÓN DIGITAL
 Fabricante : Hanna Instruments Número de serie : H020793I
 Procedencia : Hungría Rango de medición : 0.0 a 5.00mg/L
 Modelo : HI95711 Resolución : 0.01 / 0.10mg/L
 Código de ident. : C.I. 6048

FECHA Y LUGAR DE CALIBRACIÓN:
 Calibrado el 11 de Enero del 2016 en el Laboratorio de INVERSIONES HUALIX E.I.R.L.

PROXIMA CALIBRACION RECOMENDADA:
 Enero del 2017.

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACION
 La calibración se efectuó estrictamente según lo estipulado por el manual del fabricante.

TRAZABILIDAD
 Se utilizó estándares certificados "CAL CHECK" de 0.00 y 1.00mg/L, marca Hanna Instruments HI96701-11, lote 2066/2062/2063, con convencimiento en Noviembre del 2017 y un termohigrómetro digital serie 101412014 con Certificado de Calibración 4085-3595115.

CONDICIONES DE CALIBRACIÓN
 Temperatura ambiental: 24.8°C
 Humedad relativa: 82%

OBSERVACIONES

- Con fines de identificación se ha colocado una etiqueta autoadhesiva de color verde con la indicación CALIBRADO.
- La periodicidad de calibración está en función del uso, conservación y mantenimiento del equipo.
- La incertidumbre ha sido calculada con un factor de cobertura $k = 2$ para un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS DE MEDICIÓN

CLORO LIBRE

SOLUCIÓN PATRÓN (mg/L)	LECTURA OBTENIDA (mg/L)	DESVIACIÓN (mg/L)	INCERTIDUMBRE ±(mg/L)
0.00	0.00	0.00	0.007
1.00	0.99	0.01	0.015

CLORO TOTAL

SOLUCIÓN PATRÓN (mg/L)	LECTURA OBTENIDA (mg/L)	DESVIACIÓN (mg/L)	INCERTIDUMBRE ±(mg/L)
0.00	0.00	0.00	0.007
1.00	0.99	0.01	0.014

Marcos Antonio Felix
 Depto. de Metrología



Este certificado no podrá ser reproducido parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio que lo emite

Anexo 19: Imágenes de diferentes procesos del desarrollo de la investigación



Figura 16: Placa con crecimiento de heterótrofos en medio de cultivo R2A, procedente de tanques sin tratamiento

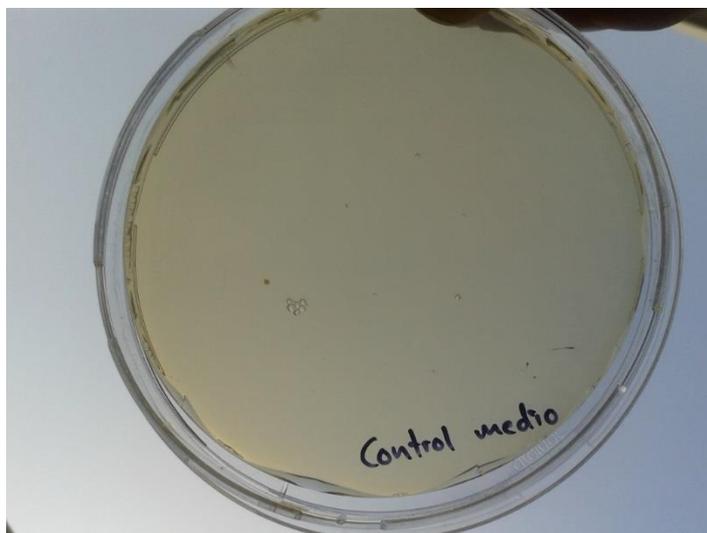


Figura 17: Placa control con medio de cultivo R2A, procedente de tanques sin tratamiento



Figura 18: Recuento de heterótrofos usando el medio de cultivo R2A en laboratorio



Figura 19: Tanque de almacenamiento de agua domiciliario, previo al proceso de limpieza y desinfección



Figura 20: Tanque de almacenamiento de agua domiciliario, previo al proceso de limpieza y desinfección



Figura 21: Tanque de almacenamiento de agua domiciliario, previo al proceso de limpieza y desinfección



Figura 22: Interior del tanque de almacenamiento en proceso de limpieza y desinfección



Figura 23: Determinación de cloro residual libre en muestras de agua