

Deterioro de la calidad del agua por el posible desprendimiento de las biopelículas en las redes de distribución de agua potable.

M. F. Gelves

Universidad de los Andes Bogota Colombia

RESUMEN: En este artículo se presenta el impacto de las biopelículas existentes en los sistemas de distribución sobre la calidad microbiológica y físico química del agua potable. Los temas cubiertos incluyen la colonización de las tuberías, propiedades del material extracelular polimérico, mecanismos de desprendimiento, el efecto sobre la calidad del agua desde el punto de vista bacteriológico; organismos presentes y sus problemas, calidad físico química, la influencia de los desinfectantes residuales sobre el desarrollo y control de las biopelículas.

ABSTRACT: This article present the impact of biofilms existing in the distribution systems on the microbiological quality and physical chemistry of the potable water. The covered subjects include the colonization of the pipes, properties of the extracellular polymeric material, mechanisms of loosening, the effect on the quality of the water from the bacteriological point of view; present organisms and their problems, chemical physical quality, the influence of residual disinfectants on the development and control of biofilms.

1 INTRODUCCION

En los últimos años se ha empezado a reconocer el papel que juegan las biopelículas en las redes de distribución de agua potable, pues se pensaba que al tener tan pocos nutrientes en las aguas era casi imposible que los microorganismos se pudieran desarrollar en tales condiciones. Los últimos estudios desarrollados demuestran la viabilidad que tienen muchos microorganismos de sobrevivir los procesos de tratamiento y lograr colonizar la red de distribución.

Ha sido demostrado claramente que estos organismos una vez dentro de los sistemas de distribución son capaces de desarrollarse de tal manera que pueden asociarse para su propio beneficio, como es el caso de una biopelícula, dentro de la cual ellos encuentran protección y condiciones más apropiadas para su desarrollo.

Muchos de los organismos detectados en estas biopelículas no representan peligro para el ser humano. El problema radica en que al servir estas biopelículas como medio de protección, este puede ser utili-

zado por microorganismos patógenos oportunistas, que logren entrar al sistema y encontrar allí el medio óptimo para su crecimiento y desarrollo.

Estos organismos pueden entrar a los sistemas de distribución a través de varias vías; estas pueden ser asociadas a partículas de turbiedad que logren pasar la barrera de la filtración en la planta de tratamiento, también pueden penetrar coligadas a partículas de los finos del carbón activado utilizado en la filtración, también por uniones, tuberías rotas o deficientes, durante episodios de trascientes de presiones (presiones negativas) donde pueda haber intrusión de aguas contaminadas.

Otro tipo de problemas asociados a estas biopelículas son los procesos de corrosión que generan sobre los elementos metálicos que puedan existir en la red, como lo son válvulas o accesorios; estos organismos favorecen la corrosión, al utilizar el metal como fuente de aceptor de electrones en sus procesos metabólicos, esta se conoce como corrosión microbiológicamente mediada. En sistemas de distribución constituidos por tuberías y hierro fundido, como

es el caso de países como Estados Unidos o muchos países europeos donde este fue el primer material usado, el problema de la corrosión es de gran importancia y de gran impacto sobre el consumidor final, el cual se ve afectado por los problemas estéticos que trae la corrosión más especialmente los eventos de coloración de las aguas, por el desprendimiento de las capas de corrosión que se forman sobre las paredes internas de las tuberías.

Entre los organismos que se han detectado que se asocian a las biopelículas se encuentran los hongos; el problema que generan estos organismos, es el deterioro en la calidad del olor y el sabor en el agua tratada, en general muchos de los productos y subproductos de el metabolismo de estos organismos, generan este tipo de problemas, estos tienen la capacidad de infundir al agua sabor y olor a pantano o tierra, lo cual afecta directamente al consumidor final.

Las biopelículas sirven como medio de protección a los organismos que estén presentes en estas y su efecto más notorio se ve presente en la resistencia que ofrece esta biopelícula a la acción de los desinfectantes residuales que se pretenden mantener en la red con el fin de buscar desinfección (teoría clásica de la desinfección en las redes de distribución), esta protección, "la biopelícula", presenta gran resistencia al efecto oxidante de los desinfectantes.

Estos atacan directamente la estructura polimétrica de la que está compuesta la biopelícula; si la cloración es a bajas concentraciones pero permanente, que es como se hace regularmente en los sistemas de distribución, las células de las biopelículas pueden regenerar la estructura polimétrica de la biopelícula con más rapidez de la que el desinfectante es adsorbido por la biopelícula, por esto algunos investigadores plantean el uso de una desinfección de impacto por periodos cortos, con altas concentraciones de cloro, con lo cual se pueda atacar la biopelícula, y así lograr grandes niveles de destrucción de esta. Este tipo de desinfección debe estar acompañado por procesos de lavado de las tuberías donde se ejerza un alto esfuerzo cortante en las paredes internas de las tuberías, con lo cual se busca obtener una remoción más efectiva, sin embargo cabe anotar que no se ha comprobado que estos tratamientos sean 100% efectivos, ya que existe evidencia de que a pesar de ser llevados a cabo, la biopelícula tiene la capacidad de regenerarse.

2 BIOPELICULAS

Mantener la calidad del agua tratada durante el transporte, el almacenaje y la distribución es un obje-

tivo principal en términos del abastecimiento de agua. La formación de Biopelículas en sistemas de distribución del agua, puede causar un deterioro de la calidad microbiológica del agua usada para el consumo y otros propósitos domésticos. La multiplicación de microorganismos en estos sistemas depende de una combinación de condiciones (factores de riesgo) tales como: i. La concentración de componentes biodegradables. ii. Temperatura elevada. iii. Tiempo de residencia.

2.1 *Colonización de las tuberías.*

La colonización de las tuberías puede ocurrir por diferentes situaciones; cuando una bacteria logra pasar a través del sistema de desinfección y una vez en la red de distribución logra colonizar y empezar su proceso de reproducción, o por una falla técnica como una ruptura de la red o un evento de presión en el que ocurra un fenómeno de succión, en la cual se puedan incorporar diferentes tipos de microorganismos, entre ellos pueden estar los patógenos (Momba, MNB. 2000), (Morin, P. 1996) evidenció que en partículas finas provenientes del carbón activado existente en el filtro, se pueden alojar los microorganismos, a su vez estas partículas le sirven de barrera contra la desinfección.

La edad de las tuberías tampoco ha demostrado ser una variable significativa en el proceso de establecimiento de las biopelículas en los sistemas de distribución, en (Wingender, J. 2004) se estudiaron 18 tuberías provenientes de diferentes sistemas de distribución en Alemania, las edades de las tuberías estaban entre 2 a 99 años. La tendencia de colonización de estas 18 tuberías según el tipo de material; cemento, PVC, hierro; la baja colonización presentada en las tuberías de concreto se debe a los altos niveles de pH, a niveles de pH mayores de 7.5 se presenta un decrecimiento en el conteo de células totales y viables.

2.2 *Desprendimiento de las biopelículas*

2.2.1 *Mecanismos de desprendimiento.*

2.2.2 *Resistencia de la biopelícula y propiedades del material*

Por medio de análisis de esfuerzo de formación, se encontró que para una biopelícula desarrollada a partir de *P. aureoginosa*, esta podía acumular esfuerzos hasta del 20% antes de fallar. La resistencia de la ma-

triz juega un papel importante en el fenómeno de desprendimiento y en el mismo estudio se encontró que las biopelículas que se desarrollan en presencia de grandes esfuerzos cortantes tienen una alta resistencia a los esfuerzos y viceversa.

La composición de la matriz polimérica varía según la fisico-química de los polímeros; no está claro aún si la resistencia de la biopelícula está regulada genéticamente o si está controlada por el ambiente físico. (Stoodley, P. 2001).

La resistencia del material de la biopelícula ha sido estudiada (Lewandowski, Z. 2003), allí se encontró que para biopelículas cultivadas en condiciones de flujo turbulento (Velocidad $v = 1$ m/s, $Re = 3600$ y $\tau = 5$ N/m²), cuando se aumentaba el esfuerzo hasta un valor de $\tau = 10$ N/m², la biopelícula sufría una disminución en su espesor hasta de un 25%, el módulo cortante encontrado para la biopelícula fue de 27 N/m². En este estudio las biopelículas se comportaron como sólidos elásticos y viscoelásticos para bajos valores de esfuerzo y se comportaron como fluidos viscoelásticos en altos valores del esfuerzo. Estas características de comportamiento son similares a los fluidos Bingham y no a los fluidos clásicos Newtonianos. Este particular comportamiento es utilizado para explicar las pérdidas de presión en tuberías con presencia de biopelículas, ya que el comportamiento viscoelástico de la biopelícula puede ayudar a disipar la energía cinética del fluido en movimiento (Lewandowski, Z. 2003).

2.2.3 *Desprendimiento espontáneo*

Las biopelículas continuamente están liberando células de su superficie, además de que se presenta un desprendimiento inducido por el esfuerzo cortante que genera el agua sobre su superficie, el desprendimiento aumenta con el incremento en la fuerza cortante, y este esfuerzo cortante no solo influye la fuerza de cohesión de la biopelícula si no también la de adhesión. (Stoodley, P. 2001).

Eventos transitorios de tipo hidráulico, como un golpe de ariete inducido por operaciones en la red, pueden generar altas intensidades en el esfuerzo cortante del fluido y provocar el desprendimiento de la biopelícula (Karney, B. 2002).

Básicamente este desprendimiento se puede a su vez clasificar en cuatro tipos: Erosión: pequeñas partes de la biopelícula se desprenden dentro de la masa de agua; “Barrido” ó (Sloughing): en el cual grandes partes de la biopelícula se desprenden de la parte o

de la base de esta; Abrasión: desprendimiento por colisión; Depredación: consumo de la biopelícula por parte de un macroinvertebrado.

La erosión es causada por el esfuerzo cortante generado por el fluido en movimiento en contacto con la superficie de la biopelícula. Por el contrario el “barrido” se refiere a la remoción de grandes porciones de biopelícula, pero no sobre toda la biopelícula (Choi, Y.C. 2003)

2.2.4 *Dispersión*

Las células contenidas en la biopelícula pueden ser dispersas por: la emisión de las células hijas producto de la actividad celular de crecimiento, migración por limitación de nutrientes o por competencia de espacio. (Donlan R. 2002)

El desprendimiento que se da en las biopelículas debido a las limitaciones o por variaciones de los nutrientes, este tipo de desprendimiento fue documentado en (Sawyer, L.K. 2000), en este se relacionó la tasa de decaimiento de los nutrientes con la tasa de desprendimiento de las células, sin embargo ya que el parámetro de decaimiento utilizado asume una tasa de promedio para todas las tasas de crecimiento, en situaciones donde las tasas de crecimiento varían ampliamente de unas células a otras esto no es válido. Es claro por lo tanto que se puede relacionar la tasa de agotamiento de nutrientes con la tasa de desprendimiento de las células en las biopelículas.

2.2.5 *Efectos de la velocidad del flujo*

En teoría la velocidad del flujo inmediatamente adyacente a la interfaz sólido líquido es insignificante. Esta zona de flujo insignificante esta condicionada por la capa límite hidrodinámica. Este espesor es dependiente de la velocidad lineal; los incrementos en las velocidades generan una disminución en el espesor de la capa límite. La región fuera de la capa límite es caracterizada por turbulencias. Para regímenes de flujo laminar o de poca turbulencia la capa límite hidrodinámica puede afectar substancialmente las interacciones célula sustrato. Las células se comportan como partículas en un líquido, y la tasa de sedimentación y asociación en la capa sumergida puede depender mayormente de la velocidad del flujo. Con el incremento de la velocidad, se disminuye el espesor de la capa y las células pueden ser cada vez más controladas por la turbulencia y mezcla. La figura 1 ilustra el comportamiento de la biopelícula ante flujo turbulento.

Por lo tanto las altas velocidades podrían igualar la rápida asociación de las células a la superficie, por lo menos hasta velocidades que ejerzan una significativa fuerza cortante sobre las células fijadas en la biopelícula, lo cual resulta en el desprendimiento de estas. (Donlan, R. 2002)

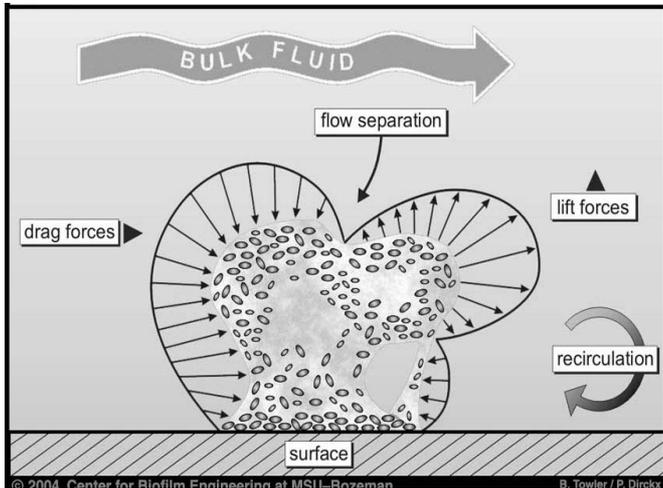


Figura 1. Fuerzas hidrodinámicas sobre la estructura de la biopelícula bajo flujo turbulento. Fuente www.erc.montana.edu.

El desprendimiento de biopelículas por fuerzas físicas ha sido descrito en (Donlan, R. 2002) y se han encontrado tres principales procesos en este fenómeno de desprendimiento: erosión de la biopelícula por el esfuerzo cortante del fluido, lo cual provoca el desprendimiento de pequeños fragmentos de biopelícula, por remoción rápida y masiva, y por abrasión, debido a la colisión de partículas contenidas en la masa de agua. La tasa de erosión de las biopelículas se incrementa con el espesor de esta y con el esfuerzo cortante del fluido en la interfaz biopelícula – líquido.

Con el incremento en la velocidad del flujo, la capa límite hidrodinámica decrece, resultando en una zona de turbulencia y mezcla muy cerca de la superficie de la biopelícula. Los desprendimientos rápidos y masivos son más aleatorios que la erosión y en la mayoría de ocasiones se deben al decaimiento de oxígeno o nutrientes dentro de la estructura de la biopelícula. La abrasión se presenta particularmente en los lechos fluidizados de los filtros en las plantas de tratamiento. (Donlan, R. 2002)

Estudios realizados en sistemas piloto de distribución de agua presurizada (Soini, S.M. 2002), en los que se manejaron velocidades de flujo de 1.5 a 5.2 m/s los que generan esfuerzos de $9.1-84 \text{ N/m}^2$, se encontró que la velocidad del flujo tenía un efecto in-

significante sobre el número total de bacterias y el número de bacterias heterotróficas viables. La fijación de biopelículas se presentó aún bajo altas condiciones de esfuerzo cortante.

Las figuras 2 y 3, han sido realizadas con la ayuda de resonancia magnética, para determinar cómo es el efecto del esfuerzo cortante, sobre el espesor de la biopelícula, en la figura 2. Se puede apreciar cómo con el incremento del número de Reynolds, disminuye el espesor de la biopelícula. En la figura 3 se observan los incrementos en el esfuerzo cortante sobre las paredes de la tubería, las zonas más claras representan esfuerzos altos.

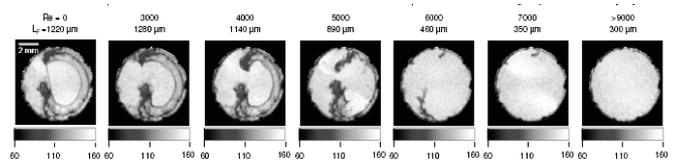


Figura 2. Velocidad y Espesores de Biopelícula Fuente: Fraunhofer Institut. IBMT. Germany.

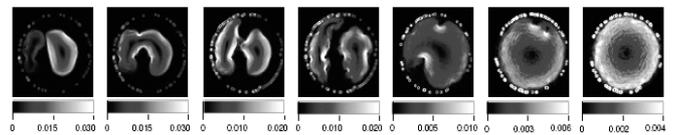


Figura 3. Esfuerzo cortante Fuente: Fraunhofer Institut. IBMT. Germany.

Los incrementos en la velocidad del flujo, produjeron disminución en las densidades de bacterias sobre las superficies de las tuberías, lo que indica que el desarrollo de las biopelículas es más favorable en zonas de baja velocidad. En este estudio se concluye que el desarrollo de las biopelículas no puede ser controlado únicamente por la velocidad del flujo. (Soini, S.M. 2002). Resultados similares fueron reportados en (Cloete, T.E. 2003) donde aumentos en la velocidad del flujo mostraron una clara disminución en el número de bacterias viables en la biopelícula, e incrementos en la velocidad del flujo resultaron en velocidades específicas de desprendimiento, así, el rango de velocidades de desprendimiento encontrado fue de 3 – 4 m/s. De esta manera se puede considerar, que en la red de distribución, las zonas de bajas velocidades de flujo son más propensas a la formación de biopelículas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la velocidad no es el único factor que interviene en la potenciación del crecimiento. Se ha es-

tudiado el efecto del cambio en el esfuerzo cortante, sobre el desprendimiento de las biopelículas, y se encontró que la tasa de desprendimiento se incrementaba rápidamente con el aumento en el esfuerzo cortante y luego retornó a su nivel previo (Choi, Y.C. 2003). Cuando el sistema se encontraba en estado estable, el fenómeno de desprendimiento dominante fue la erosión, mientras que después de cambios súbitos en el esfuerzo se presentó el desprendimiento de la biopelícula. Además se observó cómo la biopelícula tenía la capacidad de ajustarse a las condiciones físicas reinantes en el momento (altos o bajos esfuerzos cortantes).

Cuando se realizan cambios súbitos en el esfuerzo rápidamente se presenta aumento en el número de partículas detectadas en el sistema, e igualmente aumenta el rango del tamaño de partículas detectadas (Choi, Y.C. 2003).

3 BIOPELÍCULAS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DEL AGUA

3.1 Calidad microbiológica

La calidad microbiológica del agua puede cambiar en el tiempo durante su estadía en el interior de la red, el cual es suficiente para que su calidad pueda verse alterada ante la presencia de biopelículas, y más explícitamente ante el desprendimiento de microorganismos dentro de la masa de agua.

3.2 Factores que pueden contribuir al deterioro del agua.

Los factores que contribuyen al deterioro de la calidad microbiana pueden estar asociados a la calidad de la fuente de agua, los procesos de tratamiento o las operaciones de la red de distribución y con el mantenimiento.

3.2.1 Proceso de tratamiento

En sistemas de tratamiento que solo usan desinfección para el tratamiento de agua no se puede evitar que una amplia variedad de organismos tales como algas, protozoos y gusanos multicelulares, así como larvas de insectos logren entrar al sistema de distribución. El proceso de desinfección es también menos efectivo sobre ciertos organismos como los formadores de esporas (Clostridia), organismos gram-positivos, bacterias pigmentadas, hongos, levaduras y quistes de protozoarios. (EPA, 2002). En los siste-

mas de tratamiento con filtración, este representa una barrera importante para los quistes de ciertos protozoarios como lo son: *Entamoeba*, *Giardia*, *Cryptosporidium*; en este caso la filtración resulta ser más eficaz que los desinfectantes aplicados en el procesamiento de aguas.

3.2.2 Manipulación de la red de distribución

En episodios de reparación o ampliación de la red se debe controlar la calidad del agua en la sección reparada o instalada. El control de los niveles de bacterias heterotróficas y de coliformes se debe realizar para comprobar la limpieza de la tubería. Los niveles de bacterias heterotróficas HPC en esta situación reflejan la cantidad de organismos, que pueden haberse introducido en las tuberías durante su construcción o reparación. Los depósitos de tierra en las nuevas secciones de tubería pueden introducir gran variedad de bacterias heterotróficas en la red de distribución y proporcionar en alguna medida protección a las bacterias. (EPA. 2002)

Se recomienda que después de instalada una nueva tubería o después de hacer reparaciones lavar con agua las tuberías a una velocidad mínima 3 m/s, con el fin de remover las partículas de tierra que hayan podido quedar en el proceso. Después se debe adicionar un desinfectante en las nuevas secciones de tubería y mantener el agua durante 24 a 48 horas para optimizar el estado sanitario de la línea. Las pruebas bacteriológicas para coliformes y los niveles de HPC deben efectuarse para su control. Los niveles aceptables que se deben encontrar son (<1 coliforme/100 ml; <500 HPC/ml). Si los niveles no son aceptables, la línea deberá lavarse con agua y rellenarse de nuevo con agua dosificada con 50 mg/l de cloro libre disponible. Los niveles de cloro no deberían bajar de 25 mg/L durante un período de 24 horas antes de repetir el lavado de la línea y las pruebas bacteriológicas. (Geldreich, E.E. 2000).

3.3 Organismos presentes en las biopelículas de los sistemas de distribución

Esencialmente los organismos que predominan las biopelículas son bacterias gram-negativas, particularmente especies de patógenos oportunistas tales como *Pseudomonas* y *Flavobacterium*.

Los hongos también forman parte de las biopelículas y han sido detectados hongos filamentosos como *Fusarium* y *Exophiala*. (Flemming, H.C. 2002).

La tabla 1 muestra la variedad de organismos que pueden encontrarse en una biopelícula.

Tabla 1. Organismos detectados en biopelículas.

Patógenos oportunistas	Efectos sobre la salud	Información en		
		Presencia SD	Enfermedad	Presencia biopelículas
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Neumonía, meningitis, infecciones del tracto urinario, septicemia	Geldreich, 1990	LeChevallier, 1987 ; Geldreich, 1990	Davis, 1973, Horan, 1988
<i>Aeromonas hydrophila</i>	sepsis, enfermedades gastrointestinales, infecciones del tracto respiratorio	Geldreich, 1990	Reasoner, 1991, van der Kooij, Hijnen, 1988	Davis, 1973
<i>Citrobacter spp.*</i>	septicemia, neumonía	Geldreich, 1990	Geldreich, 1990	Keusch and Acheson, 1998
<i>Enterobacter spp.*</i>	septicemia, neumonía	Geldreich, 1990	Geldreich, 1990	Keusch and Acheson, 1998
<i>Flavobacterium spp.</i>	septicemia, meningitis	Geldreich, 1990	Geldreich, 1990	Davis et al., 1973
<i>Klebsiella pneumoniae*</i>	septicemia, neumonía	Geldreich, 1990	Geldreich, 1990	Keusch y Acheson, 1998
<i>Moraxella spp.</i>	neumonía, conjuntivitis, septicemia, otitis, uretritis, meningitis, bronquitis, sinusitis	LeChevallier, 1987	LeChevallier, 1987	Benenson, 1995, Davis., 1973, Walker, 1998
<i>M. avium complex</i>	Diarrea crónica, enfermedad crónica pulmón	Geldreich, 1990	Norton et al., 2000	Schaechter et al. 1998
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Infecciones en los pies	Geldreich, 1990	LeChevallier, 1987	Tally, 1998
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infecciones con severas quemaduras, pulmones en la fibrosis sistémica, neumonía, meningitis	Geldreich, 1990	Geldreich, 1990	Toder, 1998
<i>Serratia marcescens*</i>	Septicemia y neumonía	Geldreich, 1990		Schaechter et al. 1998

*Algunas especies son coliformes

Fuente: EPA; Junio 17, 2002. Health Risks From Microbial Growth and Biofilms in Drinking Water Distribution Systems

Gran parte de las biopelículas está formada por flora menos peligrosa, pero dentro de estas también pueden estar organismos patogénicos o potencialmente patógenos como es el caso de la Legionella, la cual puede generar serios problemas cuando es dispersa en aerosol; este caso particular de dispersión se da en

los grifos o en las duchas donde estos organismos pueden ser liberados al medio en forma de aerosoles y ser ingeridos vía aérea.

Coliformes: Este tipo de bacterias gram-negativas se encuentran en algunas ocasiones en los suministros de agua. Las bacterias coliformes son susceptibles a la acción oxidante del cloro, pero estas pueden protegerse de la inactivación por asociación a partículas como pueden ser, finos de carbón activado y sedimentos orgánicos (Flemming, H.C. 2002).

De las bacterias coliformes, la *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii* son las colonizadoras de más éxito. Una vez que están establecidos en un hábitat dentro de la red, pueden desarrollarse libremente. Esta condición puede persistir hasta que los efectos de erosión por la hidráulica del flujo, limiten el crecimiento de la colonia, o sean afectados por el desinfectante utilizado en el sistema. (Geldreich, E.E. 2000).

Los coliformes y los coliformes fecales, presentan problemas de crecimiento en la red debido a su asociación con las biopelículas. Se han identificado varios factores que muestran el crecimiento de coliformes en el sistema de distribución como resultado del crecimiento de biopelículas (Flemming, H.C. 2002):

- No existe evidencia de presencia de coliformes a la salida de la planta de tratamiento, lo cual indica que la planta no es la fuente de contaminación.
- Altas densidades de coliformes son detectadas en la red a pesar de tener bajas concentraciones de bacterias a la salida de la planta.
- La recurrencia de coliformes en la red por largos periodos de tiempo, puede ser atribuido a la inefectividad en la inactivación de la biopelícula.

Los estudios sugieren que los coliformes en los sistemas de distribución se originan en las biopelículas. Es claro entonces que las biopelículas sirven no solo como medio de desarrollo, si no como medio de protección para patógenos oportunistas, proveyéndoles un nicho apropiado donde protegerse del ambiente agresivo. En contraste también se ha determinado que la depredación de la biopelícula por macroorganismos puede dar lugar a la disminución de los conteos de (Flemming, H.C. 2002).

La presencia de coliformes en ciertos accesorios de la red como válvulas recubiertas en goma ha sido demostrado en (Kilb, B. 2003), donde una serie de 21 válvulas recubiertas fueron analizadas, estas pro-

venían de 6 sistemas de distribución diferentes en Alemania. De las 21 válvulas analizadas, 15 tenían recubrimiento en EPDM (Ethylene propylene diene monomer) y 6 válvulas tenían recubrimientos en NBR (Nitrile butadiene). En 14 de las 21 válvulas positivas se encontró bacterias coliformes *Citrobacter* como la especie común.

Estas biopelículas no atacan directamente el material de recubrimiento, si no que este material tiene la capacidad de liberar compuestos orgánicos que facilitan el desarrollo de las biopelículas como compuestos de carbono, por ejemplo aditivos con bajos pesos moleculares.

Más claramente se pueden apreciar los microorganismos formados en superficies con recubrimientos poliméricos como se muestra en la figura 4.

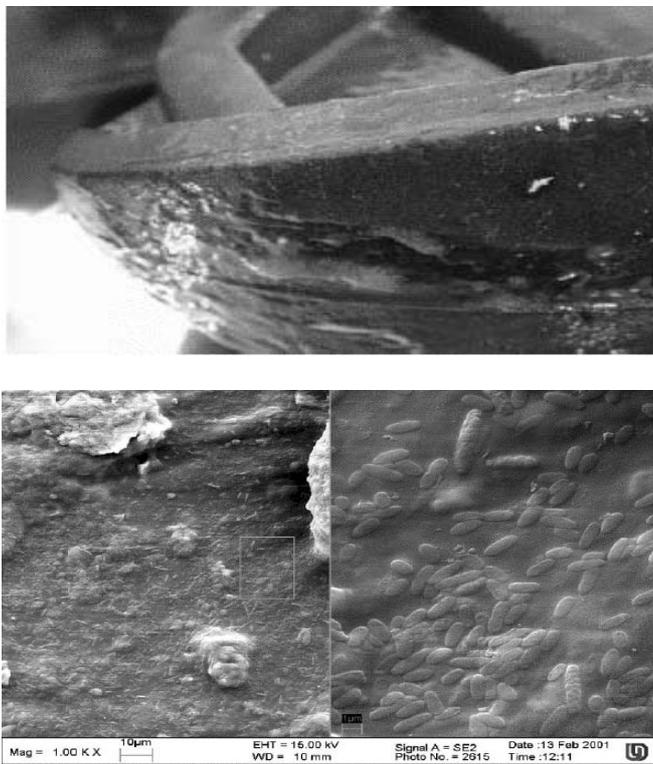


Figura 4. Vista de la superficie de una válvula recubierta con biopelícula. La válvula ha sido usada por 7 meses. Fuente: B. Kilb et al., 2003.

Bacterias: El grupo primario de bacterias patógenas responsable de enfermedades intestinales de origen hídrico son; *Shigella*, *Salmonella*, *Yersenia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* y *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*.

Los seres humanos necesitan una dosis de exposición a patógenos en un número de ($10^6 - 10^{10}$ células) para causar infección o enfermedad en los humanos y animales sanos, ya sea por vía oral o intranasal. Se ha podido detectar en la capa superficial de una

tubería en concreto a la bacteria *Acinetobacter* en niveles superiores a $10^9 / \text{cm}^2$, cantidad mas que suficiente para causar enfermedad en cualquier ser humano y/o animal. (EPA. 2002)

La incidencia más clara de estos organismos es a nivel de los pacientes inmunocomprometidos, y pacientes de clínicas u hospitales (Infecciones Nosocomiales).

- **Micobacterias.** Las micobacterias en los sistemas de distribución pueden ser originadas en la fuente, sea superficial o subterránea, o por contaminación en procesos de reparaciones o construcción de nuevas redes en el sistema de distribución. Este tipo de bacteria tiene gran importancia en la salud, las especies *Mycobacterium avium*, *M. gordonae*, *M. flavescens*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. phlei*, pueden colonizar a los seres humanos, especialmente a los susceptibles como pueden ser pacientes con algún tipo de inmunodeficiencia, en pacientes convalecientes de cirugía, o individuos en diálisis de riñón, la colonización se puede dar por varias rutas, incluyendo el suministro de agua.

La capacidad de la micobacteria para sobrevivir en los sistemas de distribución puede estar influenciada por la naturaleza cerúlea de la pared celular la cual puede ayudar a estos organismos a resistir hasta 1,5 mg de cloro residual durante un tiempo de contacto de 30 minutos. Se han registrado incrementos en las cantidades de estas bacterias en zonas finales de las tuberías de distribución, donde el cloro residual disminuye, y donde se incrementan las concentraciones totales de carbono orgánico, el cual sirve como suministro de nutrientes. Las micobacterias han sido detectadas en las biopelículas desde los años 90's, el primer reporte mostró que *M. kansasii* y *M. Flavescens*, pueden contaminar las biopelículas, los niveles detectados de esta bacterias después de 10 meses fueron de 10^5 u.f.c / cm^2 . Años después (1992) se muestrearon varios sistemas de distribución en Francia y Alemania, en estos se encontró que las especies micobacteriales fueron positivos para el 90% de las muestras (50 muestras). A nivel de ensayos de laboratorio se ha logrado inocular *M. chelonae* en tuberías de PVC. En (Hall, L. 1999) se analizó el potencial de estos organismos de desarrollarse en condiciones variables de disponibilidad de nutrientes, y en diferentes tipos de materiales. Los resultados mostraron que las especies *M. fortuitum*, *M. chelonae*, se desarrollan en el mismo grado en diferentes condiciones de disponibilidad de nutrientes (Alta y baja), además en este estudio se probaron dos materiales, Polietileno de alta densidad (HDPE) y "Caucho silástico", en los cuales se desarrollaron de igual manera las dos

especies analizadas. El rápido desarrollo de estos organismos puede ser explicado por la naturaleza hidrofóbica de la pared celular, la cual facilita la adherencia a las superficies. (Hall, L. 1999).

- Bacterias pigmentadas. Una característica de algunas bacterias que pueden estar presentes en la distribución de agua es su capacidad para formar pigmentos coloreados brillantes.

Se ha encontrado que las bacterias pigmentadas pueden ser resistentes a 0,75 mg/L de cloro libre durante 30 a 60 minutos, pero sensibles a 1,0 mg/l de cloramina durante 60 minutos. El análisis por ácidos grasos ha demostrado que muchas de las bacterias pigmentadas pertenecen al género *Rhodococcus* y poseen lípidos que las hacen resistentes a la desinfección (Flemming, H.C. 2002).

- Bacterias resistentes a los desinfectantes. La cloración del agua en los sistemas de tratamiento genera una fuerte presión selectora sobre las poblaciones. Se ha encontrado que las bacterias aisladas de la distribución de agua superficial clorada fueron más resistentes a ambas formas, libres y combinadas del cloro que los miembros de los mismos géneros aislados de un sistema de aguas subterráneas no cloradas, los diferentes tipos de microorganismos aislados más resistentes de uno u otro sistema de agua como los gram-positivos, formadores de esporas.

Actinomicetos y algunos micrococos, fueron capaces de sobrevivir a exposiciones de hasta 10 mg/l de cloro residual por periodos de 2 minutos. Las bacterias aisladas más sensibles al cloro de estos dos sistemas de distribución de agua fueron *Corynebacterium/Arthrobacter*, *Pseudomonas/Alcaligenes*, *flavobacterium/Moraxella*, *Acinetobacter* y micrococos gram-positivos, los cuales fueron destruidos por una concentración de cloro de 1,0 mg/l o menos. Estas variaciones en la resistencia según el género muestran las diferencias de especies entre género y la resistencia obtenida por asociación en los sistemas de distribución.

- Actinomicetos y otros organismos. Estos pueden llegar a generar problemas de sabores y olores desagradables en los sistemas de distribución. Las especies *Nocardia* fueron predominantes en el agua tratada de sistemas de tratamiento consistentes en aireación y filtración, o aireación y filtración en arena, ozonización y adsorción en carbón activo. Las concentraciones de Micromonosporas aumentaron en el agua tratada por tratamiento consistente en floculación, sedimentación y filtrado en arena o aireación y

lecho filtrante. Algunas crecieron también en depósitos de agua tratada con paredes revestidas de PVC y en las tuberías de distribución donde tuvieron acumulaciones de material orgánico en forma de sedimentos o en las biopelículas. En (Norton, D. 2000) *Thermoactinomyces vulgaris* fue el actinomiceto predominante hallado en 11 de 15 sistemas de distribución de agua muestreados.

Las densidades encontradas fueron de 2 org/100 ml de agua distribuida. Las quejas de olor y sabor que involucraron al Actinomiceto fueron de muestras que tenían cantidades de Streptomicetos o *Nocardia* mayores de 10 organismos /100 ml. (Geldreich, E.E. 2000)

- Virus. La mayoría de virus encontrados en los sistemas de distribución de agua potable y que tienen incidencia sobre la salud son llamados virus entéricos, que son conocidos por causar enfermedades gastrointestinales. Los virus necesitan un huésped específico para proliferar (como los humanos). En una biopelícula los virus pueden acumularse, mas no reproducirse. Un estudio demostró que se encuentran más poliovirus en una biopelícula que en la masa de agua. Hay diez veces más virus en una biopelícula que en el flujo de agua en presencia de cloro, y en ausencia de este, hay 20 veces más virus en la biopelícula que en el flujo de agua. Más específicamente ha sido detectado Coxsackievirus B, en biopelículas ubicadas en redes principales a la salida de la planta de tratamiento (EPA. 2002). La biopelícula protege a los virus de los desinfectantes, lo que les permite vivir por más tiempo.

- Protozoos. Pocos estudios han examinado la presencia de Protozoos (animales unicelulares) en la red de acueducto o en las biopelículas. Una diversa flora de organismos acuáticos libres pueden asociarse a la biopelícula. Ciliados, amebas y flagelados han sido detectados en biopelículas de sistemas de distribución piloto. Se ha encontrado un promedio de 103 células / cm² en la biopelícula. Muchos protozoos se alimentan de bacterias, de esta forma la población de estos se co-relaciona con la densidad bacteriana (EPA. 2002).

En experimentos de laboratorio se colocaron oocitos *Cryptosporidium* en tubos de PVC, y se encontró luego que un tamaño considerable de oocitos se vieron asociados a la biopelícula adherida a la tubería. A pesar de los protozoos citos/oocitos pueden acumularse en los sedimentos y en las biopelículas, estos organismos no proliferan adecuadamente en estos ambientes, ellos necesitan un huésped de sangre caliente para su proliferación. (EPA. 2002)

- Invertebrados. Cierta número de invertebrados colonizan los sistemas de distribución, incluyendo delgados nemátodos (gusanos), ácaros, larvas y pequeños crustáceos. Estos organismos entran en la red de distribución a través de la planta de tratamiento, rotura de tuberías y succiones por presiones negativas; muchos sobreviven alimentándose de bacterias como fuente de energía. Estos invertebrados no están involucrados como causa alguna de las enfermedades hídricas, varias bacterias acuáticas han sido encontradas dentro de intestinos de nemátodos recogidos en su hábitat natural. Los nemátodos pueden ingerir bacterias patógenas y de esta forma los protegen de desinfectantes, mejorando su supervivencia en las biopelículas de los sistemas de distribución. El problema más reconocido es que los macro invertebrados se encuentran ocasionalmente en los grifos, causando quejas frecuentes en los consumidores. (EPA. 2002)

- Algas y sus toxinas. Unas pocas especies de algas, primordialmente cianobacterias o algas verdes – azules, producen floración en aguas frescas lo que resulta en niveles elevados de toxinas. Los cuales incluyen hepatoxinas y neurotoxinas (Codony, F. 2003), tienen el suficiente poder de matar a un animal en cuestión de minutos. Numerosos reportes mostraron que floraciones de cianobacterias pueden matar animales grandes como los del ganado, ovejas, caballos, cerdos y perros en pocos minutos u horas después de ingerir agua o algo con algas en floración. (EPA. 2002). Estudios más agudos han mostrado que las toxinas producidas por las cianobacterias son mutagénicas, causan mutaciones en el DNA y estudios epidemiológicos sugieren una relación entre la hepatoxina y el cáncer de hígado. Adicionalmente, las toxinas de las algas son relativamente estables en la oscuridad y puede durar como mínimo una semana en el agua. (EPA. 2002)

Hongos: Los hongos se encuentran en todo el ambiente (ubíquos) y se ha encontrado un diverso grupo de ellos en las redes de acueducto. Varias investigaciones reportaron que los hongos filiformes y las levaduras son comunes en los tubos de la red, aún en presencia de cloro residual, tanque e hidrantes pueden ser fuentes significantes de hongos. (EPA. 2002)

(Dogget, M. 2000) realiza una caracterización de las especies de hongos encontradas en un sistema de distribución, en el cual se encontró que las especies más abundantes fueron las de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucorrasemosis* y *Stysanus stemonites*. Las especies más comunes de levaduras identificadas fueron *Au-*

reobasidium pullulans, *Candida* spp, *Cryptococcus* spp, *Rhodotorula* spp.

Particularmente en este estudio se detectaron altas cantidades de esporas de hongos embebidas en la biopelícula, cuyo tamaño era de 5 – 10 µm de diámetro. Pocos hongos son conocidos como causantes de enfermedades y se muestran en la tabla 1. Las especies que se han observado en los sistemas de distribución son principalmente el *Aspergillus flavus*, *Stachybotrys chartarum*, *Pseudallescheria boydii*.

Las especies *A. flavus* y varias clases de *Aspergillus* detectado en los sistemas de distribución producen toxinas fuertes (micotoxinas), incluyendo las aflotoxinas, las cuales pueden provocar daño severo al hígado y al riñón. La *Candida albicans*, la cual es una levadura, puede establecerse en el tracto gastrointestinal y de esta forma se esparce por la ruta oral y fecal. (EPA. 2002)

Tabla 2. Hongos Patogénicos Identificados en Biopelículas.

Nombre	Enfermedad / síntoma	Presencia en Biopelículas
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Alergias, enfermedad pulmonar	Rosenzweig et al., 1983; 1986
<i>Aspergillus flavus</i>	Alergias, enfermedad pulmonar	Doggett, 2000; Rosenzweig et al. 1986
<i>Aspergillus niger</i>	Infección oído	Rosenzweig et al., 1983; 1986
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Meningitis, infección de lengua	Dogget 2000; Rosenzweig
<i>Candida albicans</i>	Infecciones de tipo vaginal, urinario y del esófago	Rosenzweig & pipes, 1988, 1989; Doggett 2000; Nagy & Olson, 1986
<i>Mucor</i>	Trombosis, infarto, infecciones nasal, paranasal	Roesch y leong, 1983
<i>Petriellidium boydii</i>	Infecciones extracutáneas, infecciones sistema nervioso central	Roesch y Leong, 1983
<i>Sporothrix schenkii</i>	Infecciones de la piel	Doggett, 2000
<i>Stachybotrys chartarum</i>	Infecciones pulmonares en infantes	Doggett, 2000
<i>Trichophyton</i>	Infecciones cuero cabelludo	Frankova y Horecka, 1995

Fuente: Dogget et al. 2000

3.4 Calidad físico química.

3.4.1 Problemas en la calidad físico química debido a la presencia de biopelículas en las redes de distribución.

- **Olor y sabor:** Se ha encontrado que las algas, pueden deteriorar las características organolépticas del agua, en (Codony, F. 2003) encontró que estos organismos tienen la capacidad de crecer en los sistemas de distribución en ausencia de luz y alojados en las biopelículas. Estas algas pueden proliferar en la oscuridad debido a su capacidad de desarrollar metabolismos heterotróficos, utilizar el carbono como fuente de energía y desarrollarse en las biopelículas. Ciertos productos del metabolismo de los hongos como geosmin y 2-metilisborneol han sido asociados a la presencia de sabores y/o olores (Env. Agency. UK. 1998), la familia de los actinomicetos es la más notable (*streptomyces*, *nocardia*, *microbispora*). También otra variedad de organismos puede producir estos metabolitos, por ejemplo las algas como los miembros de la familia *Chlorophyceae* y *Bacillariophyceae* y algunos tipos de bacterias, como las cianobacterias también llamadas algas verde-azules (*Oscillatoria*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*). Estos metabolitos son producidos en los procesos de crecimiento y en los procesos de muerte y descomposición. El umbral de tolerancia para olor de estos metabolitos es: para geosmin $0.015 \mu\text{g/l}$ y 0.02 $0.015 \mu\text{g/l}$ para 2-metilisborneol (Env. Agency. UK. 1998). Otro tipo de olores y sabores son también asociados con metabolitos originados en procesos de descomposición de compuestos sulfurados mediados por algas y hongos (Actinomicetos), estos olores / sabores pueden ser a; pescado, hierba, madera. Sabores sulfurados pueden ser también liberados por la reducción de sulfatos bajo condiciones anaerobias. (Env. Agency. UK. 1998)

Ciertos compuestos orgánicos volátiles (VOC) tienen la capacidad de infundir sabores indeseados al agua, estos VOC han sido identificados en las biopelículas establecidas en las tuberías plásticas usadas para la distribución de agua. Potentes VOC generadores de olores tales como ectocarpene, dictyopterene A y C', geosmin, beta - ionone, 6 - methyl - 5 - hepten - 2 - one, menthol y menthone. Esta diversidad de compuestos fueron identificados en las biopelículas formada en la red de distribución (L. Skjevrak. 2004). Generalmente estos compuestos se encuentran asociados con algas y cianobacterias. El compuesto 2,4 - Decadienal y 2, 4 heptadienal son producidos por *Chrysophyceae* spp. Por reacciones enzimáticas inducidas. Cuando estos compuestos son producidos

en la fuente las biopelículas sirven como retenedor de estos compuestos. (Skjevrak, L. 2004).

3.4.2 Metabolitos producidos por actividad bacteriana.

Los metabolitos más comunes son geosmin y 2-metilisborneol, estos son producidos por Actinomicetos, Cianobacterias, Algas verde-azules, los cuales generan olor / sabor a tierra en el agua. Estos metabolitos son formados a partir del crecimiento de Actinomicetos en las biopelículas. Otro tipo de metabolito que pueden producir estos organismos son; cadin-4-ene1 (olor a tierra-madera) y 2 isopropil-3-methoxypirazine (olor a moho/limo). (Env. Agency. UK. 1998). Otro tipo de sustancia producida por las algas que es relacionado con problemas de olores y sabores son; terpeno, compuestos aromáticos y ésteres. Se ha encontrado otro tipo de organismos que pueden aportar sustancias generadoras de sabores y olores como zooplancton, Nemátodos y amebas (Env. Agency. UK. 1998).

Muchos de los problemas de olores en los sistemas de distribución han sido relacionados con la presencia de ciertas sustancias, como el dimetilpolisulfuro o polisulfuros inorgánicos, los cuales causan problemas de olor a pantano del agua potable (Heitz, A. 2000). Este problema se presenta especialmente en sistemas de distribución alimentados por aguas subterráneas, o en suministros de agua superficial ricos en sulfuros, el método tradicional que se utiliza es la reducción de este sulfuro a formas más estables, para esto se usa algún tipo de oxidante como puede ser el mismo desinfectante. (Heitz, A. 2000)

Los mecanismos microbiales de reducción de sulfuros y sulfatos, ocurre dentro de las biopelículas, estas proveen un banco de reductores de estos compuestos, los cuales son formadores potenciales de dimetilpolisulfuro. Las biopelículas adsorben polisulfuros orgánicos e inorgánicos, y estas pueden actuar como protectores contra la acción oxidante del desinfectante, y del propio oxígeno contenido en la masa de agua (Heitz, A. 2000).

3.4.3 Toxinas microbianas

Un número de patógenos entéricos producen toxinas para facilitar su entrada y proliferación en sus huéspedes humanos, muchos microbios se adaptan a un medio acuoso liberando toxinas como mecanismo de supervivencia. Las endotoxinas, son un grupo de toxinas que se han encontrado en el agua potable de las redes del acueducto, y en grandes cantidades causan una respuesta no específica en los humanos.

3.4.4 *Productos de descomposición bacterial.*

Un producto de la descomposición bacterial son los compuestos que contienen sulfuros. Algunos compuestos como dimetil-sulfitos, o polisulfitos son generados a partir de la putrefacción de material rico en proteínas como el encontrado en las matrices de las biopelículas (Env. Agency. UK. 1998), también la descomposición de algas puede producir este tipo de compuestos. Algunos tipos de bacterias (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, flavobacterias) han demostrado la capacidad de producir compuestos sulfurosos volátiles como dimetil-polisulfitos, los que resultan en problemas de olor a pantano. Algunos tipos de bacterias especializadas (*Desulfovibrio*, *Desulfuricans* y *Desulfotomaculum orientis*) pueden reducir sulfato a sulfito y luego a sulfuro de hidrógeno, el cual genera el olor a huevo podrido. (Env. Agency. UK. 1998)

- Color: Los eventos de color están básicamente mediados por 2 factores: por la presencia en las biopelículas de bacterias reductoras de hierro, o por la corrosión de materiales inducida por la actividad de las bacterias reductoras de hierro y potenciado por la presencia de las biopelículas (Env. Agency. UK. 1998). Las bacterias del género *Hyphomicrobium*, cuando se desprenden de la biopelícula, afectan el color del agua oscureciéndola. (EPA. 2002)

Coloración del agua debido a sales de hierro: Este fenómeno se presenta particularmente en tuberías de hierro, donde las bacterias inducen corrosión a las paredes internas de la tubería. Este tipo de bacterias en presencia del hierro reducen el sulfato a sulfuro de hierro. Lo cual resulta en altos niveles de hierro en el agua generando problemas de coloración de la ropa en el lavado o en eventos de agua roja (Env. Agency. UK. 1998). Las bacterias reductoras de hierro (presentes en las biopelículas) tiene la capacidad de transformar el hierro soluble (Fe^{2+}) y en algunas ocasiones el manganeso, en formas insolubles (Fe^{3+}), este hierro insoluble puede ser depositado en el interior o el exterior de la célula. Algunos tipos de bacterias reductoras (*Leptothrix*, *clonothrix*) acumulan el hierro insoluble en forma de flóculos. Estas bacterias reductoras de hierro dan lugar a problemas de coloración y generación de espumas además de aumentar la demanda de desinfectante residual, es de anotar que al estar estas bacterias alojadas en la biopelícula se potencializa su acción. (Env. Agency. UK. 1998).

Corrosión microbiológicamente inducida: Las bacterias reductoras de sulfatos también tienen la capacidad de generar procesos de corrosión (en tuberías de hierro o accesorios) con el posterior fenómeno de

coloración y falla de estos materiales. Como se mencionó anteriormente estas bacterias pueden generar sulfuro de hidrógeno, el cual puede disparar el proceso de corrosión electrolytica (Env. Agency. UK. 1998) en la superficie de los metales. También se ha encontrado que los microorganismos dentro de la biopelícula generan ácidos orgánicos corrosivos.

4 RELACIÓN ENTRE EL CLORO RESIDUAL Y LA PRESENCIA DE BIOPELÍCULAS.

El cloro libre sigue tres pasos básicos:

- Las “especies de cloro” entran en el segmento de tubería reaccionando con los componentes demandantes de cloro (Células viables y componentes químicos).
- Las “especies de cloro” son transportadas por la masa de agua hasta llegar a la interfaz agua Biopelícula.
- Una vez en la interfaz, el cloro se difunde y reacciona con la biopelícula, liberando material soluble y particulado.

4.1 *Transporte del cloro.*

4.1.1 *Agua*

La tasa a la cual se transporta el cloro en la biopelícula depende de la concentración de cloro y en la intensidad de la turbulencia. La concentración en la masa de agua está relacionada con la tasa de dosificación o aplicación. Si la concentración de cloro en la interfaz agua biopelícula es la misma que la concentración en la masa de agua, entonces la concentración en el agua conduce a reacciones del cloro en la biopelícula. Si el cloro reacciona demasiado rápido con la biopelícula, la concentración en la interfase podría ser menor y el transporte físico del cloro limitaría la tasa de reacción dentro de la biopelícula.

Por el incremento en la intensidad de la turbulencia a través del aumento del caudal, las tasas de transporte en el agua y la concentración en la interfase pueden aumentar. En el agua el cloro es transportado primariamente por la difusión de EDDY.

4.1.2 *Biopelícula.*

El transporte de cloro en la biopelícula ocurre primariamente por difusión molecular. Ya que la composición de las biopelículas es de aproximadamente 96 a 99% de agua, la difusividad del cloro en la biopelícula es probablemente similar a la difusividad en el

agua. En biopelículas más densas o asociadas a tubérculos o sedimentos, la difusividad del cloro es relativamente más lenta. El cloro en la biopelícula reacciona con varios componentes orgánicos y reduce los componentes inorgánicos, además el cloro altera el material celular e inactiva las células en la biopelícula hasta cierto punto. Este gran efecto aparente es la reacción con los polímeros extrapoliméricos (básicamente polisacáridos), los cuales son los responsables por la integridad física de la biopelícula.

Las biopelículas o los floculos bacteriales son altamente ricos en material polisacárido y son altamente demandantes de cloro. Una posible explicación para esto es que el Ion hipoclorito ataca los polisacáridos de glucosa por medio de oxidación a las posiciones C₂ y C₃ de la unidad D-Glucosa. El efecto de esta oxidación es la partición del enlace C₂ - C₃. Esta depolimerización puede resultar de los efectos inductivos de esta oxidación, de la partición por oxidación de la unión glucosídica, o de la degradación del compuesto intermediario Carbonilo.

Una remoción significativa de biopelícula se refleja en la reducción del espesor. Varios autores han sugerido el uso de la cloración junto con la inducción de altos esfuerzos cortantes para el control de las biopelículas. Se ha encontrado que la tasa de transferencia de cloro es mayor a altos esfuerzos cortantes. Estos altos esfuerzos cortantes alteran la biopelícula, exponiendo nuevo material a la reacción con el cloro.

Se ha encontrado que los siguientes factores influyen la tasa de reacción cloro biopelícula:

- Transporte de cloro de la masa de agua a la interfase agua biopelícula. La tasa de transferencia aumenta con la concentración de cloro y la turbulencia del fluido.
- Transporte de cloro al interior de la biopelícula. La tasa de transferencia se incrementa con el aumento en la concentración de la interfaz agua biopelícula.
- Reacción del cloro en la biopelícula. Esencialmente con los componentes abióticos.
- Desprendimiento y exposición de nuevo material debido al esfuerzo cortante.

4.2 *Influencia del tipo de desinfectante sobre la biopelícula*

El tipo de desinfectante tiene claro efecto sobre el desarrollo de la biopelícula, en (LeChevallier, M. 2000) se compararon niveles de bacterias coliformes entre sistemas de distribución que usan Cloro y Clo-

raminas, se observó que para los sistemas que usan las cloraminas como método de desinfección, estos presentaban menor número de bacterias coliformes en comparación con los que usan el sistema de cloración, (0.60 ufc/100ml para cloro y 0.017 ufc/100ml para cloraminas). Se ha propuesto que esta diferencia radica en la manera en que los diferentes desinfectantes actúan. El cloro libre ataca la membrana citoplasmática de las bacterias gram-negativas, produciendo una lesión celular, lo cual resulta en un incremento en la sensibilidad a los surfactantes, las cloraminas no producen el mismo tipo de daño.

El cloro es un agente altamente oxidante que reacciona rápidamente con la materia orgánica, cuando este ataca las biopelículas, reacciona rápidamente con material extracelular que producen las bacterias, de esta manera se consume y no le permite atacar efectivamente las células. Por el contrario las cloraminas actúan más lentamente, razón por la cual alcanzan a difundirse más adecuadamente en la biopelícula y así tienen mayor potencial de inactivación de las bacterias adheridas. (LeChevallier, M. 2000)

Pero el mantener un nivel aceptable de desinfectante residual no garantiza el no crecimiento de biopelículas, se ha demostrado que aún en la presencia de niveles importantes de desinfectantes, el desarrollo microbiano se puede llevar a cabo, en (Momba, MNB. 2000) se mostró cómo aún teniendo niveles en desinfectante residual de 12.5 -19.0 mg/l de peróxido de hidrógeno, 0.8-1.0 mg/l de monocloramina y 0.2-0.5 mg/l de cloro residual, las bacterias se podían desarrollar.

4.2.1 *Cloro.*

El cloro es un efectivo desinfectante contra virus y bacterias, pero menos eficiente contra protozoos. Las concentraciones de cloro libre mayores a 0.3 mg/l, pueden prevenir el recrecimiento y formación de biopelículas. Esta consideración tiene las siguientes restricciones o limitaciones:

- El cloro es altamente reactivo, por esto puede formar compuestos indeseables como lo son trihalometanos.
- Bajas concentraciones de cloro pueden generar problemas de sabores y olores.
- La cloración incrementa la concentración de Carbono Orgánico Asimilable (AOC), esto se debe a la reacción del cloro con grandes cadenas orgánicas.
- El cloro residual rápidamente decrece en la red, aproximadamente después de 10 horas de residencia, hasta un valor menor de 0.1 mg/l. el tipo de material influye de igual manera en la reducción del cloro residual especialmente el Hierro.

- Las bajas concentraciones de cloro no son efectivas en su acción contra las biopelículas y sedimentos. Esto puede explicar la persistencia de coliformes aún en la presencia de cloro residual.
- Ciertos organismos pueden sobrevivir o multiplicarse en la presencia de cloro libre. Como consecuencia de esto, el cloro puede causar cambios en la población microbial.

La adsorción de las biopelículas ha sido identificada como un mecanismo de superficie responsable en la remoción de sustancias precursores de los Trihalometanos existentes en la masa de agua. En (Karen, C.W. 2002) se mostró que los compuestos adsorbidos por las biopelículas podían participar en la formación de cloroformo acuoso.

La influencia sobre las biopelículas ha sido reportada de igual manera en (Chu, C. 2003) donde se observó que los niveles de bacterias medidos en conteos heterotróficos en placa (HPC) para biopelículas en presencia de agua libre de cloro fueron aproximadamente 2 y 3 órdenes de magnitud mayor que los conteos realizados para agua con bajos niveles de cloro residual (0.3 - 0.5 mg/l Cl₂) y para agua con altos niveles (1.2 - 1.5 mg/ Cl₂). La diferencia entre estos 2 conteos (bajo nivel y alto nivel) fue en un orden de magnitud. (Chu, C. 2003)

La adición de cloro al agua de la red tiene un efecto negativo en el crecimiento de la película sobre la pared de la tubería, sin embargo incrementos en los niveles de cloro solo contribuyen de manera insignificante sobre el crecimiento de la biopelícula. El cloro tiene menor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de una bien desarrollada biopelícula que sobre el crecimiento de una biopelícula en desarrollo. El estudio de (Chu, C. 2003) mostró también que el nivel de cloro tiene un efecto insignificante en el crecimiento de *E. coli* en las biopelículas, además el cloro residual también es inefectivo en la desinfección de *E. coli* presentes en las biopelículas, razón por la cual el cloro debe ser utilizado con otro tipo de desinfectantes en busca de obtener una mejor desinfección, como es el caso de su uso con las cloraminas. (Chu, C. 2003).

4.2.2 Monocloraminas

En los sistemas de distribución en los cuales se desinfecta con monocloraminas tienen menor cantidad de muestras positivas de coliformes que los sistemas en los que se utiliza cloro. Las monocloraminas tienen en el problema de formar nitritos y reaccionar con los elastómeros. Además las monocloraminas son tóxi-

cas para los humanos, por lo cual su concentración en el agua es reducida y controlada a bajos niveles.

Las monocloraminas son menos efectivas contra las bacterias suspendidas. (Codony, F. 2002) La adición de monocloraminas en sistemas con agua clorada resulta en la remoción de coliformes y bacterias adheridas a la superficie de las tuberías, las concentraciones que se usaron de estos desinfectantes fueron: 2.5 mg/l de cloro y de 1.5 mg/l de monocloraminas, la adición de las monocloraminas se realizó 24 horas después de la cloración. La adición de este desinfectante resultó en la reducción hasta 1 u.f.c/cm² de coliformes y de bacterias viables medidas en HPC.

En vista del decaimiento del cloro residual en la red, Momba et al. 2004 sugieren suministrar una dosis adicional de monocloraminas en los puntos críticos cada 168 horas.

4.3 Recrecimiento de las biopelículas.

Las bacterias asociadas a las biopelículas son mucho más difíciles de eliminar y remover de las superficies que los organismos planctónicos (libres). Se ha observado que después de la desinfección generalmente con cloro, se presenta una rápida recuperación. Un proceso incompleto de remoción de la biopelícula puede permitir que exista un rápido retorno a un estado de equilibrio, causando un aumento en los conteos de organismos. La recuperación de estas biopelículas se puede dar por una de las siguientes circunstancias:

- La biopelícula que queda, posee aún organismos viables de desarrollarse nuevamente. Esta biopelícula logra recuperarse después de una cloración de choque (con altas concentraciones), esta recuperación se puede realizar a tasas más altas que las de su propia formación.
- La biopelícula que queda es más rugosa que la tubería limpia. La rugosidad de la superficie puede proveer una superficie adecuada de fijación, la cual puede adsorber nuevas células planctónicas y otros tipos de componentes del agua, en especial nutrientes.
- El cloro remueve preferiblemente los polímeros extracelulares y no las células de la biopelícula. Por esto cuando la cloración para, las células dentro de la biopelícula quedan más expuestas a los nutrientes que pueda contener el flujo de agua.
- Los organismos que puedan sobrevivir, rápidamente empiezan a generar material extracelular polimérico como protección al ataque por el cloro.

4.3.1 Resistencia de las biopelículas

Las biopelículas presentan mecanismos de reacción contra el ataque de los desinfectantes en la red, un ejemplo de esto es un incremento en la bioactividad de la biopelícula en respuesta a la inactivación bacteriana producida por la cloración. Este es un indicativo de los mecanismos de resistencia de las biopelículas que resulta en la liberación de sustancia húmicas adsorbidas o material extracelular para la formación de cloroformo acuoso. (Karen, C.W. 2002).

La resistencia de los microorganismos en las biopelículas ha sido reportada en (Kilb, B. 2003), donde se reportó la supervivencia de Coliformes en biopelículas formadas en válvulas recubiertas con elastómeros, aún luego de realizar acciones de limpieza tales como desinfección con cloro. Varios autores han encontrado que la acción del desinfectante también se ve limitada por el espesor de la biopelícula, de esta manera se puede inferir que la desinfección sobre las partículas desprendidas de la biopelícula, también puede ser influenciada por el tamaño de las partículas desprendidas (Choi, Y.C. 2003).

El cloro tiene un efecto selectivo sobre las poblaciones de microorganismos en los sistemas de distribución, esto se ha podido observar en (D. Norton. 2000), donde más del 90% de los organismos aislados en la masa de agua fueron gram – positivos, comparado con especies gram - negativas que fueron la especie predominante en las biopelículas.

Una explicación de estas diferencias puede ser la variación en la capacidad de fijación de las gram-positivas y las gram-negativas, particularmente se encontró que *Arthrobacter* spp. (gram positivo), el cual presentó un mejor desarrollo en la masa de agua y una limitada fijación y desarrollo en las biopelículas.

Se supone que la diferencia de poblaciones entre la columna de agua y la biopelícula se debe esencialmente a la gran presión que ejercen los desinfectantes sobre las bacterias suspendidas. Particularmente se ha encontrado que bacterias tales como *E. coli* son capaces de resistir 2.400 veces más cloro cuando estas adheridas a superficies que cuando están como células libres. (Flemming, H.C. 2002).

5 CONCLUSIONES

- Las biopelículas son el mecanismo de supervivencia que han desarrollado los microorganismos para enfrentar las condiciones físicas adversas que predominan en las tuberías de los sistemas de distribución; como son poca disponibilidad de nutrientes, altas ve-

locidades, ausencia de luz solar, acción oxidante del desinfectante residual.

- La presencia de las Biopelículas en el interior de las tuberías es un factor importante en el deterioro de la calidad del agua potable por ejemplo; liberando continuamente microorganismos a la masa de agua, o de igual manera su propia estructura cuando esta falla mecánicamente ante la acción del esfuerzo cortante ejercido sobre las paredes de la tubería.

- El principal aporte de las biopelículas al deterioro de la calidad del agua potable es desde el punto de vista bacteriológico, esto debido a que las biopelículas al ser una estructura de protección y desarrollo, pueden servir de hospedaje a ciertos patógenos oportunistas, que logren pasar las barreras de protección del sistema, una vez allí estos pueden reproducirse y ser liberados a la masa de agua afectando directamente al usuario.

- Han sido identificados claramente agentes patógenos oportunistas como; *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium* spp.

- El deterioro de la calidad de físico química, es principalmente sobre el color, olor y sabor. El color puede ser afectado por el desprendimiento de la estructura física de la biopelícula ante cambios súbitos en el esfuerzo cortante generados en eventos de transientes de presión por manipulación de la red de distribución.

- El color puede ser afectado por bacterias reductoras de hierro, en sistemas de distribución alimentados por aguas ricas en Iones de hierro, como es el caso de las aguas subterráneas.

- El detrimento en la calidad del olor y el sabor es principalmente mediado por la presencia de metabolitos, estos son productos de la actividad metabólica de los organismos presentes en la biopelícula. Estos productos generan olores y sabores a pescado, limo o pantano.

- El desarrollo de las biopelículas no es inhibido totalmente por la presencia de cloro, solamente retrasa su desarrollo. De igual manera se ha encontrado que el efecto del desinfectante residual sobre biopelículas ya desarrolladas es poco. Aun a pesar de esto el cloro residual presenta un efecto selectivo sobre las poblaciones presentes en las biopelículas disminuyendo la variedad de organismos presentes.

- El tamaño de las partículas desprendidas también tiene un claro efecto sobre la acción del desinfectante, ya que las partículas forman parte de la biopelícula

la, el cloro reaccionara con el material que forma la biopelícula, evitando así que este pueda llegar a atacar a los organismos embebidos en el material.

- Debido a la alta reactividad del cloro, este consumido rápidamente al reaccionar con el material extrapolimérico que conforma la estructura de la biopelícula, razón por la cual en eventos de desprendimiento de microorganismos si no existe la presencia de cloro residual suficiente, estos organismos pueden llegar al consumidor final al no existir otras barreras de tratamiento dentro del sistema.

- Varios autores sugieren la utilización de otros tipos de desinfectantes en conjunto con el cloro, este es el caso de las cloraminas las cuales presentan menos reactividad permitiendo una difusión mas profunda en el interior de la biopelícula.

- Es importante que se controle la cantidad de compuestos orgánicos que entran al sistema de distribución, ya que estos aparte de contribuir con los nutrientes necesarios para el desarrollo celular también reaccionan con el cloro libre consumiéndolo. El adecuado control de la materia orgánica que entre al sistema hará más estable el cloro residual en la red, de esta se le permitirá actuar mas adecuadamente y permanecer mas tiempo en el sistema.

- Es muy importante que los acueductos garanticen la presencia de cloro residual a lo largo de todo el sistema, de esta manera cuando existan eventos de desprendimiento de biopelículas, el cloro pueda actuar sobre las partículas desprendidas e inactivar los posibles patógenos que puedan estar contenidos en estas.

- Se deben adoptar las medidas necesarias para evitar accidentes de contaminación del sistema, como eventos de presiones negativas, reparación y mantenimiento de redes, en este ultimo caso se debe procurar por emprender acciones de limpieza para los tramos reemplazados o reparados, de esta manera se evita que entren agentes extraños al sistema.

6 REFERENCIAS

Chan, K.C.W. Mavinic, Donald S. Brereton, Jhon A. 2002. Trihalomethane formation in drinking water and production within a polyvinyl chloride pipe environmental. *Journal Environmental Engineering Science*. 1: 293-302.

Choi, Y.C. Morgenroth, E. 2003. Monitoring biofilm detachment under dynamic changes in shear stress using laser-based particle size. *Water Science and Technology*. 7(5):69-76.

Chu, C. Lu, C. Lee, C.M. Tasi, C. 2003. Effects of chlorine level on the growth of biofilm in drinking water pipes. *Water Science & Technology Water Supply* 3(1-2):171-177.

Cloete, T.E. Westaard, D. van Vuuren, S.J. 2003. Dynamic response of biofilm to pipe surface and fluid velocity. *Water Science and Technology*. 47(5):57-59.

Codony, F. Morato, Ribas, J. Mas, F. J. 2002. Effect of chlorine, biodegradable dissolved organic carbon and suspended bacteria on biofilm development in drinking water systems. *Journal Basic Microbiology* 42(5):311-319.

Codony, F. Miranda, A. Mas, J. 2003. Persistence and proliferation of some unicellular algae in drinking water systems as results of their heterotrophic metabolism. *Water SA*. 29(1):113-116.

Doggett, M. 2000. Characterization of fungal biofilms within a municipal water distribution system. *Applied and Environmental Microbiology*: 1249-1251.

Donlan, Rodney. 2002. Biofilm: microbial life on surfaces. *Emergency infected disease*. 8(9)

Environmental Agency. UK. The assessment of Taste, Odor and Related Aesthetic Problems in Drinking Waters. 1998. *Methods for the Examination of Water and Associated Materials*:1-36

Flemming, H.C. Percival, S.L, Waker, J.T. 2002. Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water science and technology- Water Supply*. 2(1):271-280.

Geldreich, E.E. LeChevallier, M. 2000. Microbiological quality control in distribution systems., *Water Quality and Treatment*. AWWA.

Goll Daniel, Manz Bertram, Volke Frank, Horn Harald. Investigation of Biofilm Detachment with Magnetic Resonance Imaging (MRI). Fraunhofer Institut Biomedizinische Technik. Alemania

Hall, L. Stoodley, P. Keevil, C.W. Lappin-Scott, H.M. 1999. Mycobacterium fortuitum and Mycobacterium chelonae biofilms formation under high and low nutrient conditions. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 85.

Health Risk from Microbial Growth and Biofilm in Drinking Water Distribution Systems. Proceedings, Annual Water environment Federation, Conference. EPA, June 2002.

Heitz, R.I Kagi, R. 2000. Polysulfide sulfur in pipewall biofilms: its role in the formation of swampy odor in distribution system. *Water Science and Technology* 41(4-5):271-278

Karney, B. 2002. Water quality implications of transient events in distribution systems; seminar. University of Adelaide, April 15. Canada.

Kilb, B. Lange, B. Schaule, G. Flemming, H-C. Wingender, J. 2003. Contamination of drinking water by coliforms from biofilms grown on rubber-coated valves. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 206(6):563-573.

LeChevallier, Mark W. 2000. Biofilm in drinking water distribution system: significance and control. *The National Academy Press*: 206-218.

Lewandowski, Z. Beyenal, H. 2003. Biofilm monitoring: a perfect solution in search of a problem. *Water Science And Technology*. 47(5): 9-18

Momba, M.N.B, Kfir R., Venter SN., Cloete TE. 2000. An overview of biofilm formation in distribution system and its impact on the deterioration of water quality. *Water SA* 26 (1): 59-66

- Momba, MNB. Makala, N. 2004. Comparing the effect of various pipe materials on biofilm formation in chlorinated and combined chlorine-chloraminated water systems. *Water SA* 30(2).
- Morin, P. Camper, A. Jones, W. Gatel, D. Goldman, J.C. 1996. Colonization and disinfection of biofilms hosting coliform – colonized carbon fines. *Applied and Environmental Microbiology*: 4428-4432.
- Norton, D. LeChevallier, Mark W. 2000. A pilot study of bacteriological population changes through potable water treatment and distribution. *Applied And Environmental Microbiology*: 268-276.
- Sawyer, L.K. Hermanowicz, S.W. 2000. Detachment of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas aeruginosa* due to variations in nutrient supply. *Water Science and Technology*, 41(4-5):139-145.
- Skjevrak, L. Lund, V. Ormerod, K. Due, A. Herikstad, H. 2004. Biofilm in water pipelines; a potential source for off-flavors in the drinking water. *Water Science And Technology* 49(9):211-217.
- Soini, S.M. Koskinen, K.T. Vilenius, M.J. Puhakka, J.A. 2002. Effects of fluid – flow velocity and water quality on planktonic and sessile microbial growth in water hydraulic system. *Water Research*, 36:3812-3820.
- Stoodley, P. Wilson, S. Cargo, R. Piscitli, C. Rupp, C.J. 2001. Detachment and other dynamic processes in bacterial biofilms. *Montana State University*:189-192
- Wingender, J. Flemming, H.C. 2004. Contamination potential of drinking water distribution network biofilms. *Water Science And Technology*. 49(11-12):277-286