

PROYECTO DE DEMOSTRACIÓN

ELIMINACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTOS PARÁSITOS
DURANTE LA REGENERACIÓN DE AGUA CON FILTRO
DE MALLAS HYDROTECH DISCFILTER



PROYECTO DE DEMOSTRACIÓN:

ELIMINACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTOS PARÁSITOS DURANTE LA REGENERACIÓN DE AGUA CON FILTRO DE MALLAS HYDROTECH DISCFILTER



Filtración del efluente de un proceso Actiflo® mediante un Hydrotech Discfilter, en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat, Barcelona, España.

Preparado por: **Veolia Water Solutions & Technologies**

Revisado por: Dirección Técnica y Dirección de Ingeniería y Métodos de Veolia Water Solutions & Technologies.

Revisión científica del texto: Profesora Dra. Isabel de Montoliu y Profesora Dra. Mercedes Gracenea, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona; Profesor Rafael Mujeriego, Universidad Politécnica de Cataluña

Proyecto nº: GTT070001

Todos los derechos reservados. No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el consentimiento previo y por escrito de Veolia Water Systems Ibérica, S.L.

AGRADECIMIENTOS

Veolia Water Solutions & Technologies agradece al Sr. Tomás Cazurra y al Sr. Joaquín Llansó de Depurbaix, al Sr. Josep Maria Obis, al Sr. Jordi Pastor y la Sra. Gemma Iturbe de la Agència Catalana de l'Aigua, y al Sr. Martín Gullón y al Sr. Antonio Palacios de la Entitat Metropolitana del Medi Ambient por la autorización a efectuar este estudio en una planta de demostración instalada en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat. Asimismo, agradece al equipo humano de la Empresa Metropolitana de Sanejament, y en concreto a su jefe de planta, Sr. Pere Aguiló, por todas las facilidades, ayuda y soporte técnico que facilitó durante la realización de los ensayos.

ÍNDICE

1. Resumen	7
2. Introducción	9
3. Objetivos	11
4. Huevos de Helmintos parásitos en agua regenerada	13
4.1 Helmintos parásitos	13
4.2 Importancia de la eliminación de huevos de helmintos parásitos en el agua regenerada	14
4.3 Huevos de helmintos parásitos utilizados en el ensayo	14
5. Instalación de la planta de demostración, características del agua afluyente y programa de muestreo ...	17
5.1 Instalación de la planta de demostración	17
5.2 Características del agua afluyente	19
5.3 Programa de toma de muestras	19
5.3.1 Toma de muestras	21
5.3.2 Decantación de muestras	23
5.3.3 Análisis de muestras	26

6. Hydrotech Discfilter	29
6.1 Proceso Hydrotech Discfilter	29
6.2 Discfilter HSF 2204/1: pruebas en blanco y ajustes de los ensayos	30
7. Resultados de la planta de demostración	37
7.1 Balance de huevos de helmintos parásitos	41
8. Conclusiones	47
9. Bibliografía	49
10. Apéndices	51
10.1 Apéndice I. Protocolo de limpieza y recuento de los huevos de <i>Trichuris suis</i>	51
10.2 Apéndice II. Protocolo para el análisis parasitológico por la Universidad de Barcelona	54
10.3 Apéndice III. Protocolo para la desinfección de los recipientes que han contenido huevos de helmintos por la Universidad de Barcelona	57

1

RESUMEN

La eficacia del proceso de filtración con mallas Hydrotech Discfilter (proceso de Veolia Water Solutions & Technologies) fue evaluada mediante un proyecto de demostración realizado entre mayo y junio de 2007 en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat en Barcelona, España. El objetivo del proyecto fue evaluar la eficiencia del Hydrotech Discfilter para eliminar los huevos de helmintos parásitos presentes en un agua durante su proceso de regeneración. Para ello, se añadió un gran número de huevos de *Trichuris suis* (aproximadamente 2 millones de huevos) al tanque de agua afluente a un proceso de filtración de 12 m³. Con ello se trató de simular un agua afluente conteniendo una concentración de huevos de helmintos parásitos similar a la máxima registrada en los afluentes de aguas residuales brutas de las EDAR españolas (Gracenea y Montoliu, 2007).

El agua así obtenida fue sometida al proceso de filtración y posteriormente recirculada al tanque de entrada de la planta de demostración, junto con el flujo de agua de lavado, con objeto de mantener el agua en un circuito cerrado y evitar la pérdida de huevos de helmintos parásitos del sistema. El proceso de filtración se mantuvo en funcionamiento durante 8 horas seguidas en cada uno de los dos días del estudio. Se tomaron 34 muestras compuestas del afluente y del efluente del proceso de filtración, a intervalos de media hora, durante los dos días del estudio. Se determinaron las concentraciones de huevos de helmintos parásitos en todas las muestras recogidas según el método Bailinger modificado. El objetivo principal del proyecto consistió en demostrar la eficacia y la fiabilidad del proceso de filtración mediante un Hydrotech Discfilter para eliminar los huevos de helmintos parásitos presentes en un agua durante un proceso de regeneración.

El proceso Hydrotech Discfilter ofrece varias ventajas respecto a otras tecnologías de filtración: consumo energético bajo, tamaño compacto, equipamiento mínimo y componentes modulares, control automático simple, paneles filtrantes fácilmente intercambiables y bajo consumo de agua para contralavado. El modelo Hydrotech Discfilter utilizado en la planta de demostración fue el HSF 2204/1, provisto de una malla de 10 μm de tamaño de poro.

Para evaluar la eficacia del proceso de filtración Hydrotech Discfilter con agua efluente de un proceso de regeneración Actiflo[®], se instaló una planta de demostración en el interior de la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat. La planta de demostración incluyó un depósito de agua afluente y otro de agua efluente, con una capacidad unitaria de 7,6 m³, además de las tuberías, las bombas de entrada y de recirculación y el Hydrotech Discfilter HSF 2204/1 equipado con un único disco filtrante.

Los resultados del proyecto demuestran que un proceso de filtración Hydrotech Discfilter, provisto de una malla de 10 μm de tamaño de poro, es una barrera eficaz para impedir el paso de los huevos de helmintos parásitos presentes en el agua, y permite asegurar que el agua regenerada así obtenida está libre de huevos de helmintos parásitos.

2 INTRODUCCIÓN

El contenido de huevos de helmintos parásitos, como indicador del riesgo sanitario asociado con la reutilización de aguas regeneradas para riego sin restricciones, es uno de los parámetros de calidad incluidos en la tercera edición de las guías de la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicadas en el año 2006 bajo el título original de “Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater”. La OMS recomienda un límite igual o inferior a 1 huevo de helmintos parásitos por litro de agua para la reutilización segura de un agua de riego sin restricciones, y un límite más restrictivo, igual o inferior a 0,1 huevo de helmintos parásitos por litro de agua, cuando personas menores de 15 años pueden verse expuestas al contacto con esas aguas.

El RD 1620/2007 por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas en España recoge estas recomendaciones de la OMS y fija un valor máximo admisible de 1 huevo de nematodos intestinales en 10 litros de agua (0,1 huevo/litro) para diversas opciones de uso urbano, agrícola, industrial y ambiental del agua regenerada. Estos límites llevan asociado un protocolo de vigilancia que incluye, en la mayoría de los casos, una frecuencia quincenal de análisis parasitológico del agua regenerada.

Las notables exigencias prácticas que la realización de este análisis parasitológico comporta, tales como la toma de muestras de gran volumen, la concentración de la muestra en la planta de regeneración, la realización de los análisis en un laboratorio especializado, el coste considerable de cada análisis y la interpretación de los resultados falsos positivos, han estimulado el desarrollo de procesos de regeneración de agua con una eficiencia y fiabilidad suficientes como para minimizar los esfuerzos técnicos y económicos que comporta un sistema de vigilancia basado exclusivamente en el análisis de la calidad del agua.

El tamaño característico de los huevos de helmintos parásitos (entre 20 μm y 80 μm) resalta el potencial que los métodos físicos utilizados para la separación de partículas tienen para retener estos microorganismos durante un proceso de regeneración. En concreto, la filtración con filtros de mallas ofrece la posibilidad de retener los huevos de helmintos parásitos, por efecto de la barrera física que representan, y dar así cumplimiento a los límites fijados por la normativa española para diferentes usos del agua regenerada. El proceso Hydrotech Discfilter fue desarrollado por Veolia Water Solutions & Technologies (patentado en 2001) como técnica de filtración por gravedad mediante filtros rotativos de mallas; el proceso Hydrotech Discfilter obtuvo en 2003 la conformidad oficial de su capacidad para obtener un agua regenerada conforme con los requisitos del Título 22 de las Normas de Calidad del Agua Regenerada de California (California Department of Health Services, 2003), relativas al contenido de turbiedad y materia en suspensión del agua regenerada.

La utilización de un proceso Hydrotech Discfilter, provisto de mallas filtrantes con 10 μm de tamaño, ofrece la posibilidad de retener de forma total los huevos de helmintos parásitos que pueda contener un agua durante su proceso de regeneración. Estudios realizados en el laboratorio y en prototipos del proceso Hydrotech Discfilter habían confirmado esta hipótesis (Quinzaños, 2006). Por ello, tenía gran interés práctico confirmar este mismo comportamiento, pero en condiciones de campo similares a las observadas durante un proceso a escala real de regeneración de agua. La Dirección Técnica de Veolia Water Solutions & Technologies, en colaboración con la Unidad de Parasitología de la Universidad de Barcelona y el Departamento de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental de la Universidad Politécnica de Cataluña, planificó y desarrolló este estudio con objeto de validar la eficacia y la fiabilidad del proceso de separación de huevos de helmintos parásitos mediante filtros de malla Hydrotech Discfilter.

3

OBJETIVOS

El objetivo del ensayo fue evaluar la eficiencia y la fiabilidad del proceso Hydrotech Discfilter (equipo del grupo Veolia Water Solutions & Technologies), provisto de una malla de 10 μm de tamaño de poro, para retener los huevos de helmintos parásitos presentes en un agua durante su proceso de regeneración y probar así que el proceso Hydrotech Discfilter permite asegurar la producción de un agua regenerada libre de huevos de helmintos parásitos. La evaluación del proceso Hydrotech Discfilter fue realizada mediante un ensayo de dos días de duración, entre mayo y junio de 2007, en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat en Barcelona, España.

Para ello, se añadió un gran número de huevos de *Trichuris suis* (aproximadamente 2 millones de huevos) al tanque de agua afluente a un proceso de filtración dotado de un depósito de agua afluente y otro de agua efluente, con una capacidad unitaria de 7,6 m^3 . Con ello se trató de simular una concentración de huevos de helmintos parásitos en el agua afluente similar a la máxima registrada en los afluentes de aguas residuales brutas de las EDAR españolas (Gracenea y Montoliu, 2007).

El agua así obtenida fue sometida al proceso de filtración y posteriormente recirculada al depósito de entrada de la planta de demostración, junto con el flujo de agua de lavado, con objeto de mantener el agua en un circuito cerrado y evitar la pérdida de huevos de helmintos parásitos del sistema. El proceso de filtración se mantuvo en funcionamiento durante 8 horas seguidas de cada uno de los dos días del estudio. Se tomaron muestras compuestas a la entrada y a la salida del proceso de filtración, a intervalos de media hora, durante los dos días de funcionamiento. Se determinaron las concentraciones de huevos de helmintos parásitos en todas las muestras recogidas.

La coordinación de los ensayos experimentales fue realizada por Joan Sanz, Juan Carlos Rodrigo y Juan Manuel Ortega de Veolia Water Solutions & Technologies Ibérica; Rune Strube de Hydrotech AB, Suecia; y Sonsoles Quinzaños y Claus P. Dahl de Krüger A/S, Dinamarca.

Los trabajos de campo fueron realizados por Ana López, Andrés Álvaro, Elisenda Taberna, Laura Delgado y Sergio Ruiz de Veolia Water Solutions & Technologies Ibérica; Lars-Gunnar Alm y Michael Ljungreen de Hydrotech AB, Suecia; y Sonsoles Quinzaños de Krüger A/S, Dinamarca.

La manipulación de las muestras de huevos de helmintos parásitos fue autorizada por dos Universidades públicas: la Universidad de Copenhague, Dinamarca, y la Universidad de Barcelona, España, que emitieron los correspondientes certificados de protección medioambiental y sanitaria en relación con el manejo de los huevos de helmintos parásitos.

La planificación de la obtención de las muestras, la revisión del método de análisis y la realización de los análisis parasitológicos de las muestras fueron realizadas por las Profesoras Dra. Isabel de Montoliu y Dra. Mercedes Gracenea de la Unidad de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona.

El estudio experimental estuvo supervisado por el Profesor Rafael Mujeriego, Catedrático de Ingeniería Ambiental de la Universidad Politécnica de Cataluña, que actuó como asesor científico en todo el proceso de diseño de la planta de demostración, en la interpretación de los resultados y en la elaboración del informe final del proyecto.

4

HUEVOS DE HELMINTOS PARÁSITOS EN AGUA REGENERADA

4.1 HELMINTOS PARÁSITOS

Los helmintos son gusanos parásitos de las personas y los animales, que pueden agruparse en dos Phyla: Phylum Platyhelminthes, o gusanos planos, y Phylum Nematoda, o gusanos redondos.

Entre los microorganismos patógenos causantes de enfermedades, bien por transmisión hídrica o bien por ingestión de vegetales regados con agua residual sin depurar o insuficientemente depurada, los helmintos parásitos, y especialmente algunos nematodos, son un importante grupo de riesgo en la transmisión de enfermedades gastrointestinales. Estos helmintos constituyen un gran peligro para la salud de las personas, debido a la gran persistencia de sus huevos en el medio ambiente, a la escasa o nula inmunidad que desarrollan sus hospedadores frente a los mismos y a la dosis infecciosa mínima (DIM) tan sumamente baja (un huevo) que presentan.

Las parasitosis intestinales causadas principalmente por nematodos (ascariosis, tricurosis, anquilostomosis) y algunos cestodos (teniosis) presentan una distribución cosmopolita muy ligada al nivel y el estado de las infraestructuras de saneamiento de la zona, y en particular a la práctica de utilizar aguas residuales sin depurar, o insuficientemente depuradas, para riego agrícola. La distribución de estas parasitosis es amplia, aunque desigual en el mundo, presentando una prevalencia y unas tasas de morbilidad mayores en las áreas tropicales y subtropicales propias de países en desarrollo y con claras deficiencias en el saneamiento urbano.

4.2 IMPORTANCIA DE LA ELIMINACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTOS PARÁSITOS EN EL AGUA REGENERADA

Las vías más comunes de transmisión de las helmintosis entre las personas son el contacto con el suelo y el consumo de agua y de alimentos crudos contaminados. El límite de calidad máximo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el agua regenerada destinada al riego de productos de consumo crudo es de 1 huevo/10 L (WHO, 2006). Este límite ha sido incorporado como norma de calidad aplicable al agua regenerada utilizable sin restricciones en el Real Decreto 1620/2007, recientemente aprobado por el gobierno español y promulgado en el Boletín Oficial del Estado del 8 de diciembre de 2007.

4.3 HUEVOS DE HELMINTOS PARÁSITOS UTILIZADOS EN EL ENSAYO

Los huevos de helmintos parásitos utilizados en este proyecto de demostración fueron suministrados por el Departamento de Patobiología Veterinaria, de la Facultad de Ciencias de la Naturaleza de la Universidad de Copenhague. El buen estado de los huevos de *Trichuris suis* fue verificado, mediante la observación microscópica de su morfología, en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, con cuyo asesoramiento científico se planificaron el proceso de inoculación y el de muestreo, y donde se realizaron los análisis parasitológicos de las muestras obtenidas durante la realización del ensayo.

Los huevos de helmintos parásitos utilizados en este proyecto de demostración fueron de la especie de nematodo *Trichuris suis* (parásitos del cerdo), por las siguientes razones:

1. Las especies del género *Trichuris* están entre las más comúnmente

detectadas en las aguas residuales españolas (Gracenea y Montoliu, 2007).

2. Los huevos del parásito causante de la tricurosis humana, *Trichuris trichiura* son morfológicamente casi idénticos a los de *Trichuris suis* y están considerados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como uno de los tres bioindicadores preferidos para valorar la calidad de un agua regenerada.

3. Los huevos de *Trichuris* figuran entre los más pequeños (por su anchura) encontrados en las aguas residuales europeas [(50-68) μm de largo y (20-31) μm de ancho].

Los inóculos de huevos de helmintos suministrados por la Universidad de Copenhague contenían aproximadamente 8,6 millones de huevos de *Trichuris suis*, en dos lotes separados. Los huevos habían sido obtenidos por vía rectal de un cerdo infectado en condiciones controladas en la granja de la propia Universidad. Las heces porcinas fueron sometidas a dos cribados sucesivos, con tamaños de aperturas de 112 y 90 μm respectivamente, con objeto de retener las partículas en suspensión y dejar únicamente los huevos parásitos. La muestra líquida así obtenida se dejó reposar durante dos horas, tras las cuales se procedió a la extracción del líquido sobrenadante mediante una bomba de vacío, hasta reducir el volumen residual a un litro. Este volumen fue distribuido en dos lotes iguales de 0,5 litros cada uno.

Los dos lotes conteniendo los huevos de *Trichuris suis* fueron enviados desde la Universidad de Copenhague a la Universidad de Barcelona el 10 de abril del 2007. La concentración de huevos de cada uno de los lotes fue verificada en la Universidad de Barcelona (ver Apéndice I). La Figura 1 muestra una imagen de los huevos *Trichuris suis* obtenida con microscopio óptico (480 aumentos), mientras que la Figura 2 muestra una micrografía de huevos de *Trichuris suis* obtenida con un microscopio electrónico de barrido (SEM).



Figura 1: Imagen obtenida con microscopio óptico de los huevos de *Trichuris suis* del inóculo utilizado en el ensayo, 65x32,5 m (izquierda), 65x27,5 m (centro) y 60x32,5 m (derecha).

Los ensayos realizados en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona permitieron confirmar el aspecto satisfactorio de los huevos de *Trichuris suis*: los huevos estaban sueltos, no mostraban roturas y no formaban agregaciones o flóculos con otras partículas. Los huevos no presentaban desarrollo alguno en su interior, no observándose ni larva ni tan siquiera un estado de mórula, por lo que su manipulación no presentaba riesgo alguno para las personas, al carecer de carácter infeccioso. Los dos lotes de la muestra se conservaron a baja temperatura (5°C) en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, hasta que fueron trasladados a la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat para el inicio de los ensayos.

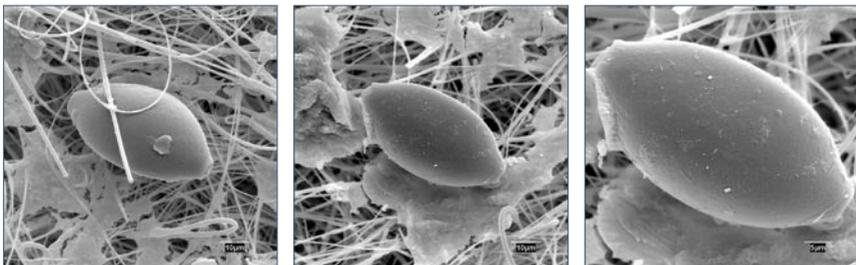


Figura 2: Micrografías SEM de los huevos *Trichuris suis* presentes en los dos lotes de muestra utilizados en el proyecto de demostración, después de su recuperación en los filtros empleados para la determinación de la materia en suspensión del agua afluente.

5

INSTALACIÓN DE LA PLANTA DE DEMOSTRACIÓN, CARACTERÍSTICAS DEL AGUA AFLUENTE Y PROGRAMA DE MUESTREO

A continuación se describen la puesta en marcha de la planta demostración, las características del agua afluyente y la estrategia adoptada para la toma de muestras. Posteriormente se presenta una descripción detallada del proceso de filtración.

5.1 INSTALACIÓN DE LA PLANTA DE DEMOSTRACIÓN

El objetivo del proyecto fue someter al proceso de filtración un volumen aproximado de 12 m³ de agua regenerada, obtenida del efluente del proceso Actiflo® existente en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat, Barcelona, España. Este volumen de agua fue inoculado con un gran número de huevos de helmintos parásitos y sometido al proceso de filtración mediante un Hydrotech Discfilter. El efluente del proceso de filtración y el flujo de agua de lavado fueron devueltos al tanque de alimentación para asegurar un proceso en circuito cerrado. El ensayo se llevó a cabo durante 8 horas consecutivas, en dos días sucesivos. Tanto el filtro como todos los equipos auxiliares necesarios (depósitos de agua afluyente y efluente, agitadores, tuberías y bombas de entrada y salida) se instalaron a pocos metros del canal de agua efluente del proceso Actiflo® (Figura 3). El efluente del proceso Actiflo fue transferido al depósito de agua afluyente de la planta de demostración mediante una bomba sumergible. La zona de trabajo de la planta de demostración fue cubierta con una carpa móvil, con objeto de proteger las muestras de las condiciones ambientales externas (lluvia y sol).

El agua filtrada y el agua de lavado del filtro fueron devueltas continuamente al depósito de agua afluente con objeto de mantener el proceso en circuito cerrado y evitar así la posible pérdida de huevos de helmintos parásitos. Al término del primer día del ensayo, el depósito de agua afluente fue completado con 2 m³ adicionales de efluente del proceso Actiflo®, con objeto de restituir el volumen de agua extraído del proceso mediante las muestras obtenidas durante las 8 horas de funcionamiento previas.



Figura 3: Vista inicial de la planta de demostración, desde la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat, antes de instalar la carpa. El depósito de agua afluente aparece en la parte derecha y el de agua efluente a la izquierda.

5.2 CARACTERÍSTICAS DEL AGUA AFLUENTE

El agua utilizada como afluente del proceso Hydrotech Discfilter fue un agua efluente del proceso Actiflo® existente en la planta de regeneración de agua. Considerando que el proceso Actiflo® es la primera etapa del proceso de regeneración de la planta de El Baix Llobregat, el agua afluente al proyecto de demostración presentó un valor medio de la turbidez de 1,5 UNT con una desviación estándar de 0,4 UNT (en 34 muestras) y un contenido medio de MES de 2,8 mg/l con una desviación estándar de 0,5 mg/l (en 34 muestras).

Además de que éste es normalmente el tipo de agua afluente al proceso Hydrotech Discfilter, la utilización del efluente de un proceso Actiflo® como agua afluente del ensayo permitió evitar la colmatación de las mallas del Hydrotech Discfilter, por acumulación de la materia en suspensión del agua, y asegurar así que la retención de los huevos de helmintos parásitos era debida exclusivamente al efecto de la malla filtrante y no al posible efecto conjunto que hubiera podido producirse por la torta de materia en suspensión desarrollada sobre la malla.

5.3 PROGRAMA DE TOMA DE MUESTRAS

La Tabla 1 resume el programa de muestreo adoptado en el proyecto de demostración realizado en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat entre mayo y junio de 2007. El número de muestras y la frecuencia y el volumen de las mismas fueron establecidos bajo la supervisión de la Dra. Isabel de Montoliu y la Dra. Mercedes Gracenea de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona.

Punto de muestreo	1 ^{er} día, muestras	2 ^o día, muestras
Agua afluyente	16 + 1	16 + 1
Agua efluente	16 + 1	16 + 1
Total	32 + 2	32 + 2

Tabla 1: Programa de muestreo del proyecto de demostración en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat. Mayo y junio de 2007.

El volumen de agua obtenido en cada muestra fue el siguiente: 20 litros para las muestras de agua afluyente y 100 litros para las muestras de agua efluente, de acuerdo con el protocolo establecido por la Universidad de Barcelona (ver Apéndice II). Las muestras afluentes y efluentes se tomaron a intervalos de media hora, durante 8 horas consecutivas de cada día del ensayo. Además, el primer día se recogió una muestra inicial de 20 litros, unos minutos después de haber añadido los huevos *Trichuris suis* e inmediatamente antes del comienzo de los ensayos; el segundo día, esta muestra se recogió unos minutos antes de iniciar el proceso de filtración (muestra 0A y muestra 0B, respectivamente).

Finalmente, y una vez terminado el ensayo del segundo día, se dejó funcionar el filtro durante varias horas, con objeto de recuperar todos los huevos de *Trichuris suis* en el flujo de agua de lavado. El agua de contralavado se recogió en 4 bidones de 25 litros cada uno, que fueron enviados a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona para su análisis parasitológico.

5.3.1 TOMA DE MUESTRAS

La toma de muestras se realizó mediante dos tipos de bidones: bidones blancos de 25 litros de capacidad para las muestras de agua afluyente y bidones azules de 125 litros de capacidad para las muestras de agua efluente. Los bidones fueron colocados junto a los tanques de agua afluyente y efluente respectivamente (Figura 4 y Figura 5). Los bidones se distribuyeron en dos zonas diferentes, a ambos lados de las instalaciones, asignándose cada una de ellas a cada uno de los 2 días del ensayo. Se situaron 32 bidones a cada lado (16 bidones para el primer día y otros 16 para el segundo). Todos los bidones fueron numerados del 1 al 16, junto con la letra A (primer día de pruebas) o B (segundo día de pruebas). Cada bidón fue posteriormente marcado con la fecha y la hora en que se recogió la muestra que contenía.



Figura 4: Bidones de las muestras de agua afluyente (color blanco) en la zona de entrada.



Figura 5: Bidones de las muestras de agua efluente (color azul) en la zona de salida.

Las muestras del agua afluente fueron tomadas de la tubería situada entre el depósito de agua afluente y el filtro. Las muestras del agua efluente fueron tomadas de la tubería que conecta el filtro con el depósito de agua efluente. La muestra del agua de contralavado fue tomada de la tubería del agua de rechazo del Hydrotech Discfilter al finalizar el segundo día del ensayo. Con objeto de evitar la posible contaminación de las muestras de agua efluente con huevos de *Trichuris suis* procedentes de las muestras de agua afluente o de contralavado, se establecieron dos equipos de muestreo diferentes, constituidos por personas que no estuvieron en contacto entre sí durante el ensayo.

Tanto las muestras de agua afluente (20 litros) como de agua efluente (100 litros) fueron muestras compuestas durante periodos de 30 minutos. El caudal de muestreo se ajustó de tal modo que pudiera suministrar un total de 20

y de 100 litros respectivamente al cabo de 30 minutos. La adopción de un muestreo compuesto permitió asegurar una toma de muestras sistemática y continua del agua afluyente y del agua efluente, incluyendo periodos con y sin contralavado y periodos sometidos a cualquier posible cambio instantáneo del agua filtrada.

Una vez completado el segundo día del ensayo, se procedió a recoger el agua de rechazo durante una hora. Considerando que la frecuencia del contralavado fue de aproximadamente un 5% (cada 9 minutos), una hora de funcionamiento permitió realizar 6 contralavados, de los que se recogieron 35 litros de agua (1% del caudal). Posteriormente, se hizo funcionar el filtro en modo manual (contralavado continuo) hasta conseguir un volumen total de contralavado de 100 litros.

5.3.2 DECANTACIÓN DE MUESTRAS

De acuerdo con el Protocolo establecido por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona (ver Apéndice II), las muestras obtenidas se dejaron reposar durante al menos 24 horas, para permitir que los huevos de helmintos parásitos decantaran en el fondo de los bidones. Una vez transcurridas 24 horas, el agua sobrenadante fue extraída del siguiente modo:

- Muestras de agua afluyente: se extrajeron alrededor de 16 litros, dejando alrededor de 4 litros en el fondo del bidón.
- Muestras de agua efluente: se extrajeron alrededor de 80 litros, dejando alrededor de 20 litros en el fondo del bidón.

La extracción del agua sobrenadante se realizó con una bomba conectada a una tubería flexible, como se muestra en la Figura 6. La tubería flexible utilizada

en los depósitos de 100 litros estaba dotada de un tubo de polipropileno terminado en U para evitar la succión hidráulica de los sedimentos por el agua extraída. El caudal de extracción se ajustó a 10 litros/min, de modo similar a como se realiza en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, mediante la regulación manual de la válvula de salida de la bomba. Las muestras de agua efluente fueron sometidas al proceso de extracción del sobrenadante, con anterioridad a las de agua afluente, con objeto de evitar la posible contaminación de las primeras.



Figura 6: Bomba de aspiración y tubo con terminación curvada empleados para la extracción del sobrenadante de las muestras de agua efluente (izquierda) y de las muestras de agua afluente (derecha).

La extracción del sobrenadante se realizó asegurando que la aspiración tuviera lugar en la superficie del agua de los bidones, minimizando así la posible aspiración de los huevos de helmintos parásitos depositados en el fondo. Los bidones azules, con las muestras de agua efluente, fueron marcados a la altura de 20 litros, utilizándose una linterna para facilitar la extracción del sobrenadante.

Una vez terminado el proceso de extracción del sobrenadante, los 20 litros restantes de las muestras de agua efluente y los 4 litros restantes de las muestras de agua afluente, fueron transferidos cuidadosamente a bidones de 25 y de 5 litros respectivamente (Figura 7).



Figura 7: Transferencia de los 20 litros restantes en un bidón de agua efluente a un bidón de 25 litros.

Una vez vaciados, los bidones de las muestras de agua efluente y de agua afluente fueron enjuagados y agitados con 5 litros y 1 litro de agua de servicio, respectivamente, para recuperar los huevos de helmintos parásitos que hubieran podido quedar adheridos a las paredes de los bidones. El agua de lavado fue vertida en su correspondiente bidón de muestra decantada, haciendo que el volumen final de las muestras de agua efluente fuera de 25 litros y el de las muestras de agua afluente de 5 litros. Las muestras de agua efluente se dejaron reposar otras 24 horas adicionales, tras las cuales se realizó una segunda extracción del sobrenadante y una posterior transferencia de la muestra residual a bidones de 5 litros.

5.3.3 ANÁLISIS DE MUESTRAS

Una vez que todas las muestras iniciales fueron transformadas en muestras finales de 5 litros, los bidones con las muestras finales fueron enviados al laboratorio de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, para ser analizadas. Las muestras fueron analizadas siguiendo el método Bailenger modificado (Bouhoum & Schwartzbrod, 1989) y recomendado por la OMS en “Análisis de agua residual para uso en agricultura” (Ayres & Mara, OMS, 1996) (Ver Apéndice II).

La Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona aplicó diversas modificaciones al método original con objeto de mejorar la eficacia del proceso de recuperación de huevos de helmintos. El objetivo de esas modificaciones fue incrementar la recuperación absoluta hasta un 80-90%, en comparación con la recuperación de 30-74% que consigue el método Bailenger modificado. La mejora de la eficacia del método de recuperación se consiguió mediante las cuatro estrategias siguientes:

1. La adopción de un volumen de muestra superior al de 10 litros recomendado por la OMS: se adoptaron 20 litros para las muestras de agua afluyente y 100 litros para las muestras de agua efluente.
2. La omisión de los pasos e, f y g del protocolo de análisis parasitológico (Apéndice II), incluyendo la adición de éter y de solución amortiguadora. Esta omisión fue posible gracias a la baja concentración de aceites y grasas presentes en las muestras utilizadas. Esta simplificación permite evitar la posible pérdida de huevos de helmintos parásitos durante las fases de mezcla y extracción.
3. La realización del análisis sobre el volumen total de agua obtenido en cada muestra (concentrada y homogeneizada con sulfato), permitiendo así la obtención del recuento total de huevos de helmintos y obviando la necesidad de realizar extrapolaciones.
4. La inclusión en el recuento analítico tanto de los huevos presentes en la parte superior de la cámara McMaster como de los situados en su fondo, mediante la observación de toda la cámara y no solo de la rejilla situada bajo el microscopio.

La gran concentración de huevos de helmintos parásitos presentes en las muestras de agua de contralavado hizo necesaria la adopción de un método analítico diferente del aplicado a las muestras de agua afluyente y efluente, y en el que se incluyeron todas las fases del protocolo de análisis parasitológico. El recuento de estas muestras se obtuvo mediante la valoración del contenido de los 13 mL superiores de cada tubo Falcon procesado con sulfato. El recuento se realizó mediante una cámara McMaster a la que se incorporaron 0,9 mL de este último volumen. La aplicación de un coeficiente multiplicador de 14,44 permitió estimar el recuento de la muestra de 13 mL. Este protocolo permitió

alcanzar una eficacia del proceso de recuperación de huevos de helmintos parásitos contenidos en las muestras de agua de lavado que varía entre un 30 y un 74%, de acuerdo con el método estándar de Bailenger modificado (Bouhoum y Schwartzbrod, 1989).

6 HYDROTECH DISCFILTER

6.1 PROCESO HYDROTECH DISCFILTER

Hydrotech Discfilter es un proceso de filtración superficial mediante microtamices en el que una malla de poliéster actúa como barrera física ante el paso de las partículas. El agua afluyente al Hydrotech Discfilter se distribuye desde el tambor central a los segmentos de filtración, donde se filtra desde el interior hacia el exterior de los discos. De esta manera las partículas de tamaño superior a los orificios del filtro (tamaño de poro nominal) quedan retenidas en su superficie, haciendo que el tejido del microtamiz se vaya colmatando y que la diferencia de presión entre las superficies contiguas de un panel de filtración aumente. Cuando el nivel del agua afluyente alcanza un valor prefijado, éste es detectado por un sensor de nivel situado en el tambor, que activa a su vez el proceso de contralavado, consistente en la aplicación de unos chorros de agua filtrada sobre la superficie de la malla (Persson et al., 2006). La Figura 8 muestra un esquema del funcionamiento del proceso de filtración con Hydrotech Discfilter.

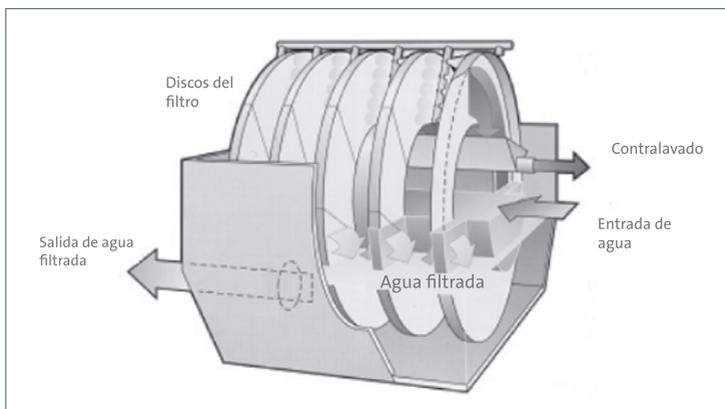


Figura 8: Esquema de funcionamiento del Hydrotech Discfilter.

Durante el funcionamiento normal, los discos filtrantes permanecen estáticos hasta que el nivel del agua afluente alcanza el valor prefijado por la posición física de la sonda de conductividad. Cuando se alcanza esa diferencia de presión hidrostática entre ambas caras de la malla filtrante, entra en funcionamiento el contralavado. Un temporizador programable permite que los discos giren aproximadamente una vuelta completa durante el contralavado y que se paren en una posición cualquiera una vez que la sonda de conductividad envía la señal de circuito abierto. La materia en suspensión retenida en el filtro es liberada por los chorros de agua de lavado y evacuada por el canal de contralavado mientras que los discos giran.

El flujo de agua de lavado y la disposición de los cabezales móviles del proceso de contralavado aseguran una profunda limpieza de los paneles con un consumo mínimo de agua. El proceso de contralavado requiere aproximadamente entre un 1-3% del caudal de diseño del filtro. Las boquillas del sistema de contralavado pueden desmontarse, limpiarse o sustituirse sin necesidad del uso de herramientas.

6.2 DISCFILTER HSF 2204/1: pruebas en blanco y ajustes de los ensayos

El proyecto de demostración se realizó utilizando el modelo Hydrotech Discfilter HSF 2204/1 fabricado con acero inoxidable y montado sobre un tanque independiente. El equipo de filtración estaba equipado con un único disco filtrante integrado por 24 paneles de filtración. Los paneles eran de malla de poliéster con un tamaño de poro de 10 µm. El área de filtración total fue de 5,6 m² (Figura 9 y Figura 10).

Figura 9: Equipo Hydrotech Discfilter HSF 2204/1 antes de la instalación.



Figura 10: Proyecto de demostración con el Hydrotech Discfilter HSF 2204/1 en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat.

El objetivo de las pruebas en blanco fue simular la realización de un ensayo real, pero sin la adición de los huevos de helmintos parásitos, para comprobar que todo funcionaba correctamente, incluyendo el PLC, las bombas, los filtros y los dispositivos del filtro. También se realizaron diversas tomas de muestras para ensayar los protocolos de muestreo. Las pruebas en blanco se realizaron entre el 28 de mayo y 1 de junio de 2007. Considerando que el Hydrotech Discfilter utilizado era un equipo completamente nuevo, se hizo funcionar durante 48 horas antes de realizar la adición de los huevos de helmintos parásitos, con objeto de comprobar la estanqueidad del equipo y el correcto funcionamiento de sus sistemas de control.

La planta de demostración comenzó a funcionar el 29 de mayo de 2007 por primera vez. El proceso contenía un total de 12 m³ de agua distribuida entre el propio Hydrotech Discfilter (4 m³ aproximadamente), el depósito de agua afluyente y el depósito de agua efluente. La planta fue parada en varias ocasiones para realizar diferentes ajustes en el panel de control, permaneciendo en funcionamiento un total de 45 horas hasta el 1 de junio de 2007.

Los ajustes realizados durante esa semana fueron los siguientes:

- La frecuencia de las bombas de agua afluyente y de recirculación se fijó en 45 Hz, cercana a su máximo valor.
- El caudal de funcionamiento se fijó en 70 m³/h y se mantuvo constante mediante una válvula manual en la tubería de entrada. Considerando que la superficie filtrante del Hydrotech Discfilter HSF 2204/1 es de 5,6 m², la carga hidráulica superficial fue de 12,5 m³/m².h.
- La frecuencia de los agitadores de ambos tanques de agua (afluyente y efluente) se fijó en 47,9 Hz.
- La pérdida máxima de presión (o presión diferencial) entre las superficies contiguas de la malla del filtro se fijó en 200 mm. mediante la regulación de la sonda de conductividad colocada en el interior del tambor.

El funcionamiento del filtro en régimen automático permitió observar dos características operativas relevantes:

- El contenido de materia en suspensión del agua fue notablemente bajo, ya que la frecuencia de contralavado fue del 33%.

- La frecuencia de contralavado disminuyó a lo largo del tiempo, lo que puede interpretarse como resultado de una rotura progresiva de las partículas en suspensión en el agua, debido a la agitación y al bombeo constante del agua dentro del proceso en circuito cerrado. Este fenómeno ya se había observado durante el primer día de funcionamiento. Para confirmarlo, se extrajo el agua contenida en la planta de demostración y se renovó con efluente fresco del proceso Actiflo®, para así poder observar una vez más la evolución de la frecuencia del contralavado en función del tiempo de funcionamiento.

Los resultados mostraron que la frecuencia de contralavado disminuía de forma bastante rápida, pasando del 55% al 35% en tres horas de funcionamiento. El filtro permaneció en funcionamiento automático durante toda la noche y se tomaron nuevas muestras durante la mañana siguiente (1 de junio); la frecuencia de contralavado había disminuido hasta el 12%.

Las principales conclusiones de estos ensayos fueron:

- La duración del contralavado se reducía con el paso del tiempo. Una posible explicación de este fenómeno es que la agitación y el bombeo constante del agua alteraba el tamaño de la materia en suspensión, haciendo que las partículas en suspensión en el agua fueran cada vez menores y capaces de atravesar la malla del filtro, sin que pudieran ser retenidas por éste. Como consecuencia, la necesidad de lavado de los paneles disminuía y con ella la frecuencia de contralavado.

- Los ciclos de contralavado eran cada vez más largos, porque el contenido de materia en suspensión retenible por los filtros era cada vez menor, y debía transcurrir más tiempo antes de que se alcanzara la pérdida de carga diferencial necesaria para activar el contralavado (200 mm).
- La frecuencia de contralavado disminuyó del 55% al 12% en 18,5 horas de funcionamiento.
- La frecuencia de contralavado en los filtros de discos instalados en plantas de regeneración de aguas en España oscila entre el 70 y el 80%, cuando reciben aguas con un contenido similar de materia en suspensión. Aunque no es común que se registre una frecuencia de contralavado del 12%, este dato también permite valorar la capacidad de este proceso de filtración para retener los huevos de helmintos parásitos cuando los valores de la presión hidrostática se mantienen altos durante largos periodos de tiempo.
- La diferencia de presión hidrostática entre ambas caras de la malla filtrante podría ser un parámetro crítico para la eliminación de los huevos de helmintos, si fuera posible que los huevos cambiasen de forma por efecto de la presión y pudieran así atravesar los orificios de la malla.
- Hacer funcionar el filtro con una frecuencia de contralavado del 100% (rotación constante del tambor) no representaba en principio una solución realista, por no tratarse de una situación común en la práctica. No obstante, unas condiciones operativas como esas ofrecían la posibilidad de valorar la retención de los huevos de helmintos parásitos directamente por la malla, sin el posible efecto adicional producido por una torta de materia en suspensión producida sobre la propia malla.

A la vista de todas estas observaciones, se adoptó una estrategia operativa mixta: hacer funcionar el filtro en régimen automático, durante las cuatro primeras horas del día, y hacerlo funcionar en régimen manual, durante las cuatro horas restantes del período de ensayo. De esta manera, el funcionamiento en régimen automático permitiría que la frecuencia de contralavado fuera menor, propiciando la creación de una presión hidrostática diferencial de 200 mm que podría ser crítica para la retención de los huevos de helmintos parásitos. Por otra parte, el funcionamiento del filtro en régimen manual, con una frecuencia de contralavado del 100% (rotación constante del tambor y funcionamiento continuo del sistema de boquillas), permitiría asegurar que la retención de los huevos de helmintos parásitos sería debida principalmente a la barrera constituida por la malla, sin el efecto adicional de una torta de materia en suspensión, bajo el efecto de una presión hidrostática diferencial que alcanzó un valor próximo a 50 mm.

7

RESULTADOS DE LA PLANTA DE DEMOSTRACIÓN

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos durante los dos días del ensayo experimental.

Muestra	Afluyente huevos/20L	Efluyente huevos/100L
0A	3198	0
1A	982	0
2A	1108	0
3A	810	0
4A	843	0
5A	669	0
6A	292	0
7A	385	0
8A	279	0
9A	258	0
10A	247	0
11A	169	0
12A	125	0
13A	183	0
14A	96	0
15A	59	0
16A	61	0
0B	301	0
1B	42	0
2B	17	0
3B	21	0
4B	41	0
5B	11	0
6B	17	0
7B	26	0
8B	22	0
9B	66	1
10B	62	0
11B	56	0
12B	75	0
13B	72	0
14B	73	0
15B	46	0
16B	36	0

Tabla 2: Concentración de huevos de helmintos parásitos de *Trichuris suis* obtenida directamente en las muestras de agua afluyente (20 L) y efluyente (100 L). Las muestras obtenidas el día 1 y el día 2 se designan como A y B, respectivamente.

Los resultados obtenidos muestran que la concentración de huevos de helmintos parásitos de *Trichuris suis* en las muestras de agua afluyente fluctuó entre 11 y 3.198 huevos/20L, con un percentil 90 de las concentraciones afluentes de 696 huevos/20L (equivalente a 35 huevos/L). Por otra parte, la concentración de huevos de helmintos parásitos en las muestras de agua efluente fue nula en todos los casos, independientemente de la concentración de huevos de helmintos parásitos en el agua afluyente, excepto en la muestra 9B, donde se detectó la presencia de 1 huevo en la muestra de 100L.

Los resultados de la Tabla 2 indican que el proceso Hydrotech Discfilter es capaz de retener todos los huevos de helmintos parásitos presentes en un agua afluyente, cuando éstos alcanzan concentraciones de hasta 3.198 huevos/20L. Considerando que las muestras de agua efluente fueron de 100 L, esto representa una capacidad mínima de retención de 4,2 ulog (log 31.980 huevos/100L). Cabe pensar que la capacidad real de retención de este proceso de filtración hubiera superado este valor, si la concentración de huevos en el agua afluyente hubiera sido superior. No obstante, considerando que la concentración de huevos de helmintos parásitos registrados en las aguas residuales de las EDAR españolas alcanzan valores máximos de 1200 huevos/20L en agua residual bruta y de 7 huevos/20L en efluente secundario (Gracenea y Montoliu, 2007), puede afirmarse que el proceso Hydrotech Discfilter permite retener todos los huevos afluentes en un agua residual depurada y producir sistemáticamente un efluente desprovisto de huevos de helmintos parásitos.

Al margen de las causas determinantes de la detección de un huevo de helminto parásito en una de las muestras de 100 litros de agua efluente, conviene señalar que esta concentración es 10 veces inferior al valor máximo admisible recomendado en las directrices de la OMS (WHO, 2006) para proteger a niños menores de 15 años que puedan encontrarse en los campos donde se utilizan aguas de esta calidad, y también al valor máximo admisible

establecido en el RD 1620/2007 (1 huevo/10L) para los usos más restrictivos de un agua regenerada.

Dos de las posibles hipótesis que pueden explicar la presencia de este huevo de helminto parásito *Trichuris suis* en la muestra 9B son:

1. La contaminación de la muestra efluente debido a un error humano durante su manipulación.
2. Un fallo en la integridad del proceso Hydrotech Discfilter, lo que podría haber permitido el escape de un huevo en el volumen de 100 litros de agua efluente.

Los resultados experimentales obtenidos durante el proceso de filtración de los huevos de helmintos parásitos se han interpretado gráficamente mediante una distribución de probabilidad normal logarítmica (Mujeriego, 2005). La figura 11 muestra las distribuciones de probabilidad normal logarítmica de la concentración de huevos de *Trichuris suis* en el agua afluente (transformadas en volúmenes de 100L de muestra) y el agua efluente (obtenidas directamente en muestras de 100L) del proceso Hydrotech Discfilter que aparecen en la Tabla 2.

Las distribuciones de probabilidad normal logarítmica que aparecen en la Figura 11 permiten concluir que una concentración afluente de huevos de helmintos parásitos igual o inferior a los 3.480 huevos/100L registrados en el 90% de las muestras resulta en una concentración efluente inferior a 1 huevo/100L, resultando por tanto en una retención de hasta 3,5 ulog para un percentil 90%. La concentración efluente registrada en todos los casos es 10 veces inferior a la de 1 huevo/10L exigido por el RD 1620/2007 para los usos más restrictivos de un agua regenerada. La Figura 12 presenta una valoración estadística similar, pero utilizando unidades logarítmicas/100L

(ulog/100L) para las concentraciones de huevos de helmintos parásitos. El grado de retención para el percentil 90 de las muestras alcanza 3,5 ulog, referido a un volumen de 100 litros de muestra.

Estos resultados experimentales muestran que un proceso Hydrotech Discfilter, provisto de una malla de 10 µm de tamaño de poro, es una barrera física eficaz y fiable para retener los huevos de helmintos parásitos presentes en el agua afluente. Aunque los datos experimentales disponibles sólo permiten asegurar que esta retención es absoluta (4,2 ulog referido a muestras de 100 litros en el efluente) hasta concentraciones afluentes de huevos de helmintos parásitos de 3.198/20L, como las alcanzadas en este proyecto de demostración, cabe pensar que el proceso Hydrotech Discfilter retendría igualmente los huevos de helmintos parásitos presentes en concentraciones mayores, en razón del mecanismo de retención operativo: la imposibilidad física de que los huevos pasen por unos orificios del filtro que son menores que ellos.

Por estas mismas razones, el proceso Hydrotech Discfilter ha de permitir retener todos los huevos de helmintos contenidos en el efluente de una EDAR española (valores máximos de 7 huevos/20L en efluentes secundarios) y producir sistemáticamente un efluente desprovisto de huevos de helmintos parásitos.

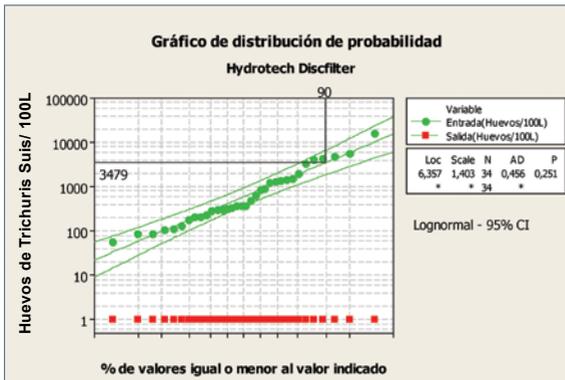


Figura 11: Distribuciones de probabilidad normal logarítmica del contenido de huevos de Trichuris suis en el afluente y el efluente de la planta de demostración del proceso Hydrotech Discfilter HSF 2204/1 instalado en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat.

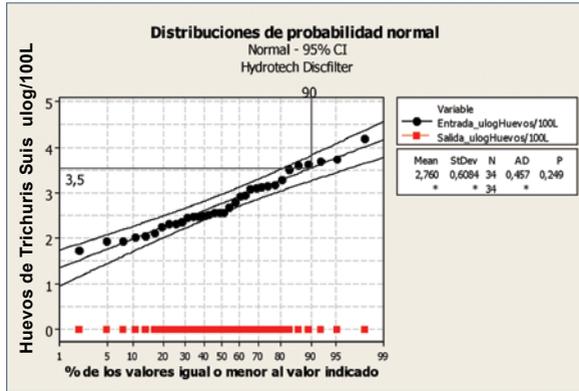


Figura 12: Distribuciones de probabilidad normal del contenido (en unidades logarítmicas) de huevos de *Trichuris suis* en el afluente y el efluente de la planta de demostración del proceso Hydrotech Discfilter HSF 2204/1 instalado en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat.

7.1 BALANCE DE HUEVOS DE HELMINTOS PARÁSITOS

La Tabla 3 resume el número de huevos de helmintos parásitos detectados en las muestras de agua de contralavado, tras la terminación de los ensayos experimentales.

Muestra Nº (volumen)	Nº de Huevos
1 ^{er} bidón de muestra (25L)	256.049
2º bidón de muestra (25 L)	93.091
3º bidón de muestra (25 L)	52.952
4º bidón de muestra (25 L)	48.315
Total (100 L)	450.407

Tabla 3: Recuento de huevos de *Trichuris suis* en el agua de contralavado.

Con objeto de evaluar el balance global de los huevos de helmintos parásitos añadidos al proceso Hydrotech Discfilter, se planteó el balance que se indica a continuación:

Huevos añadidos = Huevos (afluente) + huevos (efluente) + huevos (agua de contralavado)

Donde los valores obtenidos en cada caso fueron:

- Huevos añadidos : 2.000.000
- Huevos (afluente) : 10.748
- Huevos (efluente) : 1
- Huevos (agua contralavado): 450.407 + 450.407 unidades (considerando un 50% de recuperación): 900.814

El resultado estimado para el segundo término de la igualdad (huevos recuperados) es:

Huevos (afluente) + huevos (efluente) + huevos (agua contralavado) = 911.563

Y en definitiva:

911.563 huevos recuperados < 2.000.000 huevos añadidos

Una posible explicación de esta discrepancia cuantitativa es el carácter adherente de los huevos de helmintos parásitos, que hace que queden retenidos sobre las superficies de los depósitos, las tuberías y todos los conductos con los que entran en contacto, haciendo que no puedan ser detectados ni en el afluente ni en el agua de contralavado. Esta posibilidad ha sido considerada por expertos de la Universidad de Agricultura y Veterinaria de Copenhague, durante sus estudios de huevos de helmintos parásitos, y confirmada experimentalmente durante los trabajos previos al presente

proyecto de demostración, durante la investigación realizada en la Universidad Técnica de Dinamarca con huevos de *Trichuris suis* y mallas filtrantes de Hydrotech (Quinzaños, 2006). También se dispone de evidencia experimental del diferente grado de adhesión de los huevos de *Ascaris suum* en materiales como el vidrio, el polipropileno y el poliestireno (Gaspard et al., 1994).

La Figura 13 muestra la notable y rápida disminución de la concentración de huevos de helmintos parásitos en el agua afluyente al proceso de filtración, a medida que pasaban las horas del ensayo experimental. El carácter tan acentuado de este fenómeno durante las primeras 3 horas del ensayo parece indicar que los huevos de helmintos parásitos son retenidos de forma muy efectiva sobre las superficies en contacto con el agua, hasta alcanzar una cierta concentración de equilibrio al cabo del segundo día, permaneciendo así hasta el final del ensayo. Cabe pensar también que el proceso de contralavado realizado al finalizar el proyecto de demostración no fue capaz de recuperar los huevos de helmintos parásitos adheridos sobre las superficies del microtamiz, impidiendo así su recuperación y su inclusión en el balance másico realizado posteriormente.

Al margen del devenir de los huevos de helmintos parásitos durante el proceso de filtración e incluso considerando que puedan permanecer durante largos períodos de tiempo adheridos sobre la superficie de la malla filtrante, los resultados experimentales indican que quedan efectivamente retenidos sobre dichas superficies, por efecto de su mayor tamaño en relación con el poro efectivo de la malla, y que las presiones hidrostáticas diferenciales registradas en estos equipos (hasta 200 mm en el presente estudio) no fueron suficientes para "forzar" el paso de los huevos por los orificios de la malla.



Figura 13: Evolución cronológica de la concentración de huevos de *Trichuris suis* en el agua afluente (huevos/L) y el agua efluente (huevos/L) durante los dos días del proyecto de demostración.

Con objeto de verificar la posibilidad de que los huevos de *Trichuris suis* quedaran adheridos sobre las superficies de la malla filtrante, los depósitos y el resto de superficies internas de la planta de demostración, se ha planificado un estudio forense de ocho paneles filtrantes (cuatro por cada cara del filtro y uno por cada cuartil de cada cara) de la planta de demostración y de diferentes tuberías y superficies de sus depósitos. Este estudio ha de permitir evaluar con más detalle el alcance y los condicionantes de este proceso de adhesión. Conviene señalar que el proceso de lavado protocolario del proceso Hydrotech Discfilter, mediante tensioactivos y desinfectantes, una vez terminado el estudio y antes de ser transportado a su nueva ubicación, pudo causar la inactivación y la separación permanente de los huevos de *Trichuris suis* que pudieron haber quedado adheridos tras el contralavado final.

Esta investigación forense está en curso de realización en el momento de redactar este informe, mediante un tratamiento de los paneles filtrantes que permita recuperar los huevos presentes con la aplicación de una solución detergente e hipoclorito sódico y un tratamiento posterior en baño de

ultrasonidos para el desprendimiento de los huevos desde las superficies. Las muestras de agua así obtenidas serán sometidas a un análisis parasitológico en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona y las superficies investigadas serán observadas con microscopio óptico y microscopio electrónico de barrido, antes y después de haberlas sometido al citado tratamiento de lavado.

Un examen preliminar, realizado en febrero de 2008 en los laboratorios de la Universidad de Barcelona y la Universidad de Girona, de diversas muestras de la malla filtrante del disco utilizado en el proyecto de demostración, mediante observación con microscopio óptico, revela la ausencia de huevos de *Trichuris suis* en la superficie de la malla.



CONCLUSIONES

Los resultados del estudio realizado para valorar la eficacia y la fiabilidad del proceso de retención de los huevos de helmintos parásitos (*Trichuris suis*) mediante un proceso Hydrotech Discfilter, provisto de una malla de 10 μm de tamaño de poro, en la planta de regeneración de agua de El Baix Llobregat, en Barcelona, utilizando efluente del proceso Actiflo®, durante los meses de mayo y junio de 2007, permiten formular las siguientes conclusiones:

1. El proceso Hydrotech Discfilter, provisto de una malla de 10 μm de tamaño de poro, es capaz de retener todos los huevos de helmintos parásitos presentes en un agua afluyente, cuando estos alcanzan concentraciones de hasta 3.198 huevos/20L. Considerando que las muestras de agua efluente fueron de 100 litros, esto representa una capacidad de retención de 4,2 ulog (log 31.980 huevos/100L).
2. Aunque los datos experimentales disponibles solo permiten asegurar que esta retención es absoluta (4,2 ulog referido a muestras de efluente de 100 litros) hasta concentraciones afluentes de huevos de helmintos parásitos de 3.198/20L, como las registradas en este proyecto de demostración, cabe pensar que el proceso Hydrotech Discfilter puede retener igualmente los huevos de helmintos parásitos presentes en concentraciones mayores, en razón del mecanismo de retención operativo: la imposibilidad física de que los huevos pasen por unos orificios del filtro que son menores que ellos.
3. Al margen de las causas determinantes de la detección de un huevo de helminto parásito en una de las muestras de 100 litros de agua efluente, esta concentración es 10 veces inferior al valor máximo admisible recomendado en las directrices de la OMS (WHO, 2006) para proteger a niños menores de 15

años que puedan encontrarse en los campos donde se utilizan aguas de esta calidad, y también al valor máximo admisible establecido en el RD 1620/2007 (1 huevo/10L) para los usos más restrictivos de un agua regenerada.

4. La utilización de un proceso Hydrotech Discfilter, provisto de una malla de 10 μm de tamaño de poro, para regenerar un agua depurada conteniendo una concentración de huevos de helmintos de hasta 7 huevos/20L, como la registrada experimentalmente en los efluentes de las EDAR españolas, ha de permitir la retención total de los huevos de helmintos parásitos conocidos y producir sistemáticamente un efluente desprovisto de huevos de helmintos parásitos.

5. La capacidad efectiva del proceso Hydrotech Discfilter de retener los huevos de helmintos parásitos presentes en el agua afluente viene a sumarse a las ventajas propias de este proceso de filtración, como son un consumo energético bajo, un tamaño compacto, un equipamiento mínimo y unos componentes modulares, un control automático simple, unos paneles del filtro fácilmente intercambiables y un bajo consumo de agua para contralavado, y hacen del proceso Hydrotech Discfilter una alternativa tecnológica eficaz, fiable y competitiva para obtener un agua regenerada desprovista de huevos de helmintos parásitos.

9 BIBLIOGRAFÍA

Ayres, R., Mara, D.D. (1996). Analysis of wastewater for use in agriculture. WHO, Geneva, Switzerland.

California Department of Health Services (2003). Evaluation of Hydrotech Discfilter for Compliance with Title 22 for Recycled Water Applications. Treatment Technology Report for Recycled Water, 2007, página 27. <http://www.cdph.ca.gov/certlic/drinkingwater/Documents/DWdocuments/treatmenttechnology.pdf>

Gracenea, M., Montoliu, I. (2007). Presencia de huevos de helmintos parásitos en aguas residuales: Estudio cualitativo y cuantitativo. Implicaciones sanitarias de su reutilización. En: XXVII Jornadas Técnicas AEAS'07, Málaga, 9-11 de mayo, 243-262.

Gaspard, P.G., Wiart, J., Schwartzbrod, J. (1994). Étude expérimentale de l'adhésion des œufs d'helminthes (*Ascaris suum*) : conséquences pour l'environnement. Revue des sciences de l'eau, 7, 367-376.

Ministerio de la Presidencia (2007). Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. BOE número 294, de sábado 8 de diciembre de 2007, páginas 50639-50661.

Mujeriego, R. (2005). La fiabilidad de los procesos de regeneración del agua. En: II Jornadas Técnicas de Gestión de Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales, Agencia Catalana del Agua, Barcelona, 18-20 de enero, 42-428.

Quinzaños, S. (2006). Cloth filtration by microscreening for helminth eggs removal in tertiary wastewater treatment. MSc Thesis. Technical University of Denmark. Institute of Environment & Resources. 89 pp.

Persson, E., Ljunggren, M., la Cour Jansen, J., Strube, R., Jönsson, L. (2006). Disc filtration for separation of flocs from a moving bed biofilm reactor. *Water Science and Technology*, vol. 53, 12, 139-147.

World Health Organization (2006). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Vol. 1. Policy and regulatory aspects. Geneva, Switzerland.
World Health Organization (2006). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Vol. 2. Wastewater use in agriculture. Geneva, Switzerland.

10 APÉNDICES

10.1 APÉNDICE I. Protocolo de limpieza y recuento de los huevos de *Trichuris suis*

Finalidad:

Limpieza de los huevos del resto de partículas fecales contenidas en las muestras.

Método:

Técnica de concentración por sedimentación y lavado con agua corriente.

Protocolo:

1. Recepción de las muestras: dos recipientes (Pirex) conteniendo una suspensión de huevos en agua con un volumen de 500 mL cada uno aproximadamente.
2. Observación directa al microscopio de dos alícuotas, entre portaobjetos y cubreobjetos, para comprobar el estado de los huevos.
3. Identificación de los huevos de *Trichuris suis* y realización de fotografías.
4. Procesado de limpieza:
 - a. Adición de hipoclorito sódico (lejía comercial), 1ml a cada recipiente.

- b. Traspaso de las suspensiones a 4 frascos de centrífuga de 300 mL. Lavado de los recipientes de origen con agua corriente, la cual se añade a los 4 frascos hasta un volumen de 250 mL en cada uno.
- c. Centrifugación a 3.000 rpm durante 10 minutos (Centrífuga Kontron).
- d. Decantación del sobrenadante que se reparte en 4 nuevos frascos de centrífuga de 300 mL. Los sedimentos se reservan.
- e. Centrifugación del sobrenadante a 3.000 rpm durante 10 minutos (Centrífuga Kontron).
- f. Decantación y eliminación del sobrenadante. Paso de los sedimentos a 4 tubos de centrífuga de 50 mL de volumen y centrifugación a 3.000 rpm durante 10 minutos.
- g. Eliminación del sobrenadante y recogida de todos los sedimentos, lavando con agua corriente, para añadirlos a los sedimentos de los cuatro frascos iniciales obtenidos en d.
- h. Suspensión del sedimento en los 4 frascos mediante agua corriente hasta un volumen de 200 mL.
- i. Adición de 1 mL de lejía a cada 200 mL de suspensión y mantenimiento en refrigeración (4°C nevera).

5. Recuento del número de huevos de helminto parásitos.

a. Traspaso de la suspensión de huevos a un matraz de 1 litro. Limpieza de los recipientes originales con agua corriente y adición de la misma al matraz. Enrasar a 1 litro con agua.

b. Mantener en agitación constante la muestra mientras se aspira, por dos veces, 0,25 mL (0,5 mL en total) con una micropipeta capilar. Observación al microscopio mediante la disposición del aspirado entre portaobjetos y cubreobjetos (10x2 preparaciones).

c. Recuento de los huevos al microscopio. Sumatorio de los huevos de helmintos parásitos contados por preparación.

Nº huevos/0,50mL = ~4.300

Nº huevos/1mL = ~8.600

Nº de huevos totales en 1 litro de suspensión = ~8.600.000

Isabel de Montoliu

Profesora Titular de Parasitología de la Universidad de Barcelona

Mercedes Gracenea

Profesora Titular de Parasitología de la Universidad de Barcelona

10.2 APÉNDICE II. Protocolo para el análisis parasitológico por la Universidad de Barcelona

Finalidad:

Observación de la presencia/ausencia de huevos de helmintos parásitos.

Método:

Técnica de concentración modificada por Schwartzbrod (OMS, 1989) y recomendada en “Analysis of Wastewater for use in Agriculture” (AYRES & MARA, OMS, 1996). Esta técnica se basa en el principio de sedimentación/flotación.

Protocolo:

1. Recogida de las muestras (20 y 100 litros) y procesado previo de las mismas.
 - a. Sedimentación de las muestras mediante reposo de 24h. Aspiración del sobrenadante hasta dejar 20 litros (agua de salida) y 4 litros (agua de entrada y agua de lavado del filtro).
 - b. Segunda sedimentación, mediante reposo de 24h, de las muestras de 20 litros (agua de salida) obtenidas en el punto 2.a. Aspiración del sobrenadante hasta dejar 4 litros.
 - c. Envío de las muestras, en su volumen final, al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona.

2. Análisis Parasitológico

- a. Sedimentación de los 4 L de agua procedente del punto 1.c. mediante reposo 24h.
- b. Aspiración cuidadosa del sobrenadante, sin agitar el fondo, dejando un sedimento de 100-200 mL.
- c. Recuperación del sedimento y lavado del recipiente con 25-50 mL de agua destilada, que se agregan al sedimento. Repartición del material recuperado en tubos de centrifuga de 50 mL.
- d. Centrifugación del material recuperado a 1.000 G durante 15 minutos. Decantación del sobrenadante, que se desecha.
- e. Agregación de una solución amortiguadora acetoacética (pH= 4,5) en un volumen igual al del sedimento del tubo. Agitación de la mezcla.
- f. Agregación de éter a un volumen equivalente al doble de la solución amortiguadora y agitación vigorosa de la mezcla (puede utilizarse un Vortex).
- g. Centrifugación de la mezcla a 1.000 G durante 6 minutos. Decantación de todo el sobrenadante (parte etérea, tapón lipófilo) que se desecha.
- h. Limpiar bien las paredes del tubo y suspender el sedimento con una solución saturada de sulfato de zinc (densidad relativa=1,3) en un volumen 6-8 veces superior. Homogeneizar bien.

i. Disposición de la mezcla en cámara de recuento Mac Master y observación al microscopio. El proceso de flotación puede acelerarse mediante centrifugación a 1.000 G durante 6 minutos.

j. Identificación y recuento.

Isabel de Montoliu

Profesora Titular de Parasitología de la Universidad de Barcelona

Mercedes Gracenea

Profesora Titular de Parasitología de la Universidad de Barcelona

10.3 APÉNDICE III. Protocolo para la desinfección de los recipientes que han contenido huevos de helminto por la Universidad de Barcelona

Finalidad:

Desinfectar los recipientes que han contenido huevos de helminto.

Método:

Usar lejía comercial:

Desinfectante: Lejía comercial (hipoclorito sódico 5%)

Solución a utilizar: Preparar una dilución de la lejía comercial al 2 %
(Usar 2 litros de lejía por cada 100 litros de agua)

Protocolo:

- a. Llenar los recipientes de 100 y 20 litros utilizados con la solución desinfectante al 2 %.
- b. Dejar actuar durante 24 horas, vaciar y dejar secar.

Isabel de Montoliu

Profesora Titular de Parasitología de la Universidad de Barcelona

Mercedes Gracenea

Profesora Titular de Parasitología de la Universidad de Barcelona



VWSI, S.L.

OFICINA CENTRAL

Pol. Industrial Santa Ana, C/ El Electrodo, 52

28522 Rivas Vaciamadrid, MADRID (SPAIN)

Tel: (+34) 91 660 40 00

Fax: (+34) 91 666 77 16

Edificio Augusta Park - Avd. Vía Augusta, 3-11

08174 Sant Cugat del Vallès BARCELONA (SPAIN)

Tel: (+34) 93 511 01 00. Fax: (+34) 93 511 01 09

www.veoliawaterst.es