



Dipartimento di Principi e Impianti di Ingegneria Chimica

TESI DI LAUREA IN INGEGNERIA CHIMICA

Classe 10 Ingegneria Industriale (Laurea Triennale DM 509/99)

Sistema di purificazione dell'acqua per un villaggio in Cambogia

Water purification system for a village in Cambodia

Relatore:
Prof. Gabriele Scaltriti

Laureando:
Filippo Mazzetto
Matricola n. 575418

Anno Accademico 2010- 2011

SOMMARIO

Il progetto qui esposto si propone di fornire un sistema di trattamento dell'acqua potabile in un contesto nel quale le tecniche "classiche" di purificazione adottate nel mondo occidentale sarebbero impraticabili.

Saranno affrontati elementi che inquadrano la situazione di un villaggio rurale della Cambogia e con essi i vincoli dell'installazione, tra cui l'estrema mancanza di risorse economiche, l'assenza di elettricità, l'ignoranza delle minime norme igieniche e delle più basiche nozioni tecnologiche da parte della popolazione locale. Il sistema finalmente proposto consiste in una fase di bio-filtrazione, la cui efficacia è stata verificata mediante degli esperimenti condotti da me stesso e un gruppo di studenti, e di una di trattamento solare, per la quale si riportano i principali risultati presenti nella Letteratura. Si accennerò brevemente alla clorazione, il principale meccanismo di purificazione dell'acqua potabile utilizzato nei Paesi Occidentali, per evidenziarne l'incoerenza con il contesto della Cambogia.

Infine si dettaglierà come il progetto possa essere effettivamente impiantato con l'aiuto di alcune associazioni non governative, tra cui Caritas.

L'idea del progetto e gran parte della sua realizzazione si sono svolti nei laboratori del dipartimento di Génie des Procédés et Matériaux (LGPM) dell'Ecole Centrale Paris durante l'anno accademico 2010-2011.

INDICE GENERALE

Sommario.....	1
Indice Generale	2
1 Introduzione.....	5
1.1 Il problema dell'acqua in Cambogia.....	5
1.2 La nascita del progetto.....	5
1.2.1 <i>L'associazione di volontari dell'Ecole Centrale Paris che ha sollevato il problema</i>	5
1.2.2 <i>IL progetto all'interno del percorso di studi all'Ecole Centrale Paris</i>	5
1.3 Il dispositivo.....	6
1.3.1 <i>Specifiche del dispositivo</i>	6
1.3.2 <i>Il contesto del villaggio</i>	6
1.3.3 <i>Il concetto di acqua "pura" in Cambogia</i>	7
1.3.4 <i>Le componenti del sistema di purificazione</i>	7
2 Bio-Filtrazione su sabbia	8
2.1 Tipi di filtri a sabbia	8
2.2 Principi della Bio-filtrazione su sabbia	9
2.3 Esperienze di filtri già in opera nel mondo	10
2.4 Costruzione del Bio-Filtro.....	11
2.4.1 <i>Schema del filtro</i>	11
2.4.2 <i>Realizzazione del filtro in laboratorio</i>	13
2.5 Esperimenti	15
2.5.1 <i>Preparazione del filtro per gli esperimenti</i>	15
2.5.2 <i>Elementi di procedura sperimentale</i>	16
2.5.3 <i>Esperimenti e risultati</i>	17
2.5.4 <i>Conclusioni sugli esperimenti</i>	18
2.6 Conclusioni sulla bio- filtrazione.....	19

3	Trattamento solare.....	20
3.1	Principi chimico – fisici.....	20
3.2	Dati sull'efficacia del trattamento.....	20
3.2.1	<i>Influenza della temperatura sulla disinfezione solare.....</i>	<i>20</i>
3.2.2	<i>Effetto dell'irraggiamento UV.....</i>	<i>22</i>
3.2.3	<i>Dimensionamento del sistema.....</i>	<i>26</i>
3.3	Conclusioni sul trattamento solare.....	26
4	Clorazione.....	27
4.1	Principi chimico- fisici.....	27
4.2	Efficacia del trattamento.....	27
4.3	Inconvenienti tecnici nel contesto Cambogiano.....	28
4.3.1	<i>Costi, approvvigionamento e conservazione.....</i>	<i>28</i>
4.3.2	<i>Cambiamento del gusto dell'acqua.....</i>	<i>28</i>
4.3.3	<i>Dosaggio.....</i>	<i>29</i>
5	Il sistema completo.....	30
5.1	Struttura del sistema di trattamento.....	30
5.2	Validazione tecnica in loco.....	31
5.3	La campagna di sensibilizzazione.....	32
5.3.1	<i>Caritas Cambodia.....</i>	<i>32</i>
5.3.2	<i>Kampuchea Souriya.....</i>	<i>32</i>
5.3.3	<i>La gestione del progetto.....</i>	<i>33</i>
6	Conclusione.....	35
	Ringraziamenti.....	36
	Allegato 1: protocollo sperimentale.....	37
	Prima dell'esperimento.....	37
	<i>L'acqua fisiologica.....</i>	<i>37</i>
	<i>Le capsule di Petri.....</i>	<i>38</i>

Il giorno dell'esperimento.....	38
<i>Prelevamento dei campioni</i>	38
<i>Diluizione dei campioni</i>	39
Osservazioni e critiche sul protocollo sperimentale	40
Allegato 2: Dettagli dei risultati degli esperimenti.....	41
Bibliografia.....	44

1. INTRODUZIONE

1.1 IL PROBLEMA DELL'ACQUA IN CAMBOGIA

L'economia della Cambogia è basata sulla coltura del riso, la pesca, l'allevamento bovino e turismo. Quest'economia sottosviluppata ha difficoltà a sfamare i 14 milioni di cambogiani: infatti la Cambogia è il quinto più povero paese in Asia. (1).

L'esodo rurale non ha ancora avuto luogo, infatti più dell'80% della popolazione vive ancora in villaggi (2). La mortalità infantile (meno di 5 anni) è del 12.4% (3). Il 60% della mortalità infantile è dovuto a delle infezioni legate all'acqua e alle scarse condizioni sanitarie (4).

Per quanto riguarda il trattamento delle acque: in città, il 70% della popolazione ha accesso ad acqua pulita mediante una pompa, mentre nelle zone rurali questa cifra scende al 35% (2). Al di fuori dalla capitale, gli abitanti dei villaggi si trovano in una grave situazione di povertà e di chiara mancanza di servizi igienico-sanitari. Questi dati confermano la necessità del nostro progetto. Data la situazione preoccupante, è legittimo concentrarsi specificamente sul trattamento delle acque contaminate per gli abitanti dei villaggi.

1.2 LA NASCITA DEL PROGETTO

1.2.1 L'ASSOCIAZIONE DI VOLONTARI DELL'ECOLE CENTRALE PARIS CHE HA SOLLEVATO IL PROBLEMA

Il progetto di depurazione dell'acqua per un villaggio in Cambogia è iniziato nel 2006, grazie a due studenti dell'École Centrale Paris che sono partiti in missione umanitaria nell'estate 2005. Essi sono stati colpiti dalla mancanza di acqua potabile nei villaggi della Cambogia e hanno deciso di risolvere il problema. Questa dimensione critica è stata confermata dal presidente dell'associazione che gestisce i flussi di studenti volontari in Cambogia (Kampuchea Sourya) durante un incontro nel Novembre scorso: " I Cambogiani – conferma- bevono acqua sotto forma di fanghiglia che proviene dalle risaie poco distanti da casa". Dal 2006, vari gruppi si sono susseguiti nel concepire un dispositivo coerente con il contesto appena presentato, in questo elaborato si cercherà di rivalutare i loro progressi e i dati ottenuti da alcuni esperimenti condotti.

1.2.2 IL PROGETTO ALL'INTERNO DEL PERCORSO DI STUDI ALL'ECOLE CENTRALE PARIS

Come accennato, il progetto è stato ideato nel 2006 da un gruppo di studenti al ritorno dall'esperienza in Cambogia. Il loro lavoro si è concentrato soprattutto sulla valutazione dei problemi riscontrati, sul benchmark delle tecnologie disponibili e sulla stesura di alcune piste per l'approfondimento. I gruppi successivi si sono focalizzati su delle parti specifiche del sistema, dando supporto sperimentale a delle

ipotesi, ma nessun gruppo era ancora riuscito a prendere un punto di vista d'insieme del sistema, realizzare un prototipo e inviare in Cambogia un sistema funzionante. È questo che ha motivato un gruppo di studenti a lavorare per un anno intero, con frequenza più o meno intensa in base agli altri impegni scolastici. All'interno di questo gruppo il ruolo di coordinatore è stato affidato a me, ma nulla sarebbe stato possibile senza l'aiuto di alcuni colleghi dell'École Centrale Paris, dove ho passato gli ultimi due anni di studi. L'esperienza in un gruppo di 6 persone di 5 nazionalità diverse è stata davvero straordinaria, oltre che per l'interesse del progetto anche per il contesto umano. In media al progetto è stato consacrato un giorno alla settimana dalla fine di settembre 2010 a metà maggio 2011.

Ad appoggiarci in questa missione ci sono stati alcuni tecnici del Laboratorio LGPM dell'École Centrale Paris e la professoressa Estelle Couailler, esperta nell'ambito del trattamento delle acque.

1.3 IL DISPOSITIVO

1.3.1 SPECIFICHE DEL DISPOSITIVO

Per rispondere in maniera adatta ai problemi esposti in precedenza, sono stati individuati innanzitutto i vincoli cui doveva sottostare e per ciascuno si è cercato di dare una risposta tecnologica adatta.

<u>Vincolo</u>	<u>Spiegazione</u>	<u>Mezzo</u>
Basso costo d'installazione e di manutenzione	L'approvvigionamento d'acqua non deve diventare un costo supplementare per delle popolazioni già povere.	Tecniche di purificazione semplici, materiali facilmente reperibili in loco
Assenza d'elettricità	Contesto del villaggio cambogiano	No pompe, sistemi a gravità o azionati dall'uomo
Solidità e resistenza	Non è disponibile personale speciale o con attrezzature particolari.	Sistema con poche componenti, semplici e di facile manipolazione
Facile approvvigionamento	In caso lo sforzo o il cambiamento d'abitudine siano troppo pesanti, gli abitanti rifiuteranno il sistema.	Facile utilizzo, impatto ridotto nello stile di vita

Tabella 1: Specifiche del dispositivo

1.3.2 IL CONTESTO DEL VILLAGGIO

Negli anni precedenti era sorta l'idea di installare un sistema di trattamento dell'acqua per villaggio, ma per rendere il progetto davvero coerente con la realtà esistente un passo determinante consiste nel capire la struttura di villaggio in Cambogia.

Abbiamo incontrato più volte con i membri di Kampuchea Sourya, per cercare di capire la mentalità e costumi ma anche la topografia dei villaggi. È stata una prima novità capire che il villaggio cambogiano non è strutturato intorno a un centro unico, come quelli in Africa o ai borghi europei. Infatti, il villaggio si distende su una grande superficie, di preferenza ai lati di una strada, separato da campi di riso e fiumi, spingendo ogni gruppo familiare a creare dei piccoli nuclei locali.

Sapendo ciò, non si poteva più considerare la costruzione di un filtro per un solo villaggio (l'equivalente di un pozzo per un villaggio africano, per esempio). L'idea di produrre filtri di piccole dimensioni per ogni famiglia è sembrata dunque più opportuna. Ricercando approfonditamente sul Web abbiamo preso contatto con l'associazione "Trailblazer Foundation", che costruisce dei piccoli sistemi su scala domestica, anche per la Cambogia.

Una buona spinta innovativa al progetto è consistita nell'adattare le idee teoriche degli anni precedenti a questa nuova taglia.

1.3.3 IL CONCETTO DI ACQUA "PURA" IN CAMBOGIA

Non molti dati sono disponibili sulla composizione dell'acqua in Cambogia, i più completi sono offerti da uno studio del 2007 (5) che però si concentrava solo su alcuni metalli, per giunta dimenticando alcuni quali l'Arsenico, particolarmente nocivi per l'organismo. Altri dati provengono dalla già citata "Trailblazer foundation", ma sono piuttosto frammentari (6). La nostra attenzione, inoltre, si focalizza soprattutto su ciò che provoca le malattie del tratto intestinale, colpevoli della morte per diarrea della maggior parte della popolazione. Il sistema che intendiamo realizzare dovrà perciò eliminare il più possibile i batteri quali Escherichia Coli, Pseudomonas, Vibro Cholerae, Shigella Flexneri, il tutto rispettando i vincoli già citati in precedenza come l'economicità, praticità e non intaccare il gusto dell'acqua.

1.3.4 LE COMPONENTI DEL SISTEMA DI PURIFICAZIONE

I primi gruppi avevano individuato tre sistemi di purificazione che potevano essere integrati per raggiungere la purezza desiderata: la Bio-Filtrazione, il Trattamento Solare e la Clorazione. Nel seguito dettaglieremo come ciascuno dei sistemi agisce nell'eliminazione dei microorganismi patogeni, illustreremo come ogni pratica può essere integrata nel contesto cambogiano e concluderemo spiegando brevemente gli esperimenti condotti che avvallano il nostro sistema.

Un'attenzione particolare va riservata alla Clorazione: sebbene sia un procedimento molto efficace per l'uccisione dei batteri patogeni e per questo sia stato inizialmente ritenuto parte integrante del progetto, esso evidenzia molti limiti tecnici relativi all'utilizzazione in Cambogia e per questo il suo utilizzo è stato scartato.

2. BIO-FILTRAZIONE SU SABBIA

2.1 TIPI DI FILTRI A SABBIA

Attraverso le ricerche bibliografiche condotte, il filtro di sabbia si è dimostrato un sistema di depurazione delle acque semplice, efficace, poco costoso e largamente usato. Un altro importante vantaggio è che trattiene le particelle solide sospese in acqua, riducendo così la torbidità.

Ci sono tre tipi di filtri a sabbia tradizionali (7):

- filtri rapidi
- filtri semi-rapidi
- filtri lenti.

I filtri a sabbia rapidi e semi-rapidi si basano sul principio della flocculazione: l'aggiunta di sostanze chimiche permette di concentrare in flocculi le particelle inquinanti, il passaggio attraverso uno strato di sabbia permette quindi una facile eliminazione di questi componenti. La differenza tra i due tipi di filtri consiste nel fatto che nei primi l'acqua scorre per gravità, nei secondi per differenza di pressione. (8) Questi filtri lavorano a portate molto più elevate che i filtri lenti, ma tendono naturalmente intasarsi in breve tempo quindi richiedono una manutenzione costante. La pulizia avviene principalmente con metodi di backwash. Un'altra caratteristica di questi filtri è che non consentono l'eliminazione dei microorganismi presenti nell'acqua. (8)

I filtri lenti, invece, richiedono una manutenzione minima, non richiedono flocculanti o altri prodotti chimici e sono particolarmente efficaci contro i microorganismi, anche se lavorano a portate molto inferiori che i primi due sistemi. È per questi motivi che questi ultimi filtri sono stati ritenuti adatti al contesto in analisi.

I filtri a sabbia lenti sono già utilizzati in tutto il mondo da qualche anno per il trattamento dell'acqua nei paesi sottosviluppati (9) e quindi sono disponibili in quantità soddisfacente dei dati sulle loro prestazioni e l'accettazione da parte delle culture locali. Qui riportiamo una tabella che riassume in media l'impatto di questa tecnologia su alcuni parametri di purezza dell'acqua (10).

PARAMETRO	EFFETTO DEL FILTRO A SABBIA LENTO
Torbidità	Riduzione fino a circa 1NTU
Coliformi fecali	Riduzione tra il 95% e il 100%
Virus	Eliminazione completa
Materia organica	Riduzione tra il 60% e il 75%
Metalli pesanti	Riduzione tra il 30% e il 90%

Tabella 2: Efficacia del filtro a sabbia su alcuni parametri dell'acqua

Tutte le caratteristiche sopra elencate indicano una perfetta sintonia di questo procedimento con il nostro sistema. La torbidità (misurata in base alla quantità di luce che attraversa il campione in analisi) è di poco superiore agli standard occidentali (0,3 – 0,5 NTU) ed è un parametro molto importante per l'inserimento del trattamento solare a valle, gli altri indicatori parlano da soli riguardo all'efficacia dell'eliminazione di microorganismi patogeni (si noti che i coliformi sono un gruppo di batteri che risiedono nell'intestino, tra cui l'E. Coli) e sui metalli.

2.2 PRINCIPI DELLA BIO-FILTRAZIONE SU SABBIA

I filtri lenti a sabbia sono chiamati anche Bio-Filtri poiché basano le loro proprietà di purificazione su uno strato biologico che naturalmente si forma all'interno della sabbia. Il nucleo del reattore è uno strato di materiale granulare (sabbia, carbone attivo, argilla, perle di polistirene, ecc.), più o meno spesso (50 centimetri per il nostro modello) attraverso il quale viene fatta scorrere l'acqua da trattare. Questo strato di materiale filtrante è chiamato letto filtrante. Dettaglieremo in seguito le varie parti del filtro, che comunque si configura come un sistema piuttosto semplice.

In tali sistemi la purificazione dell'acqua avviene grazie all'accoppiamento di due effetti distinti:

- l'effetto fisico della filtrazione: le particelle in sospensione si accumulano sulla superficie del grano del materiale filtrante, passando attraverso il letto. È il fenomeno dell'Adsorbimento di tipo fisico.
- l'effetto biologico: in condizioni favorevoli (presenza di substrato per la crescita di microrganismi), un biofilm si crea sulla superficie del materiale filtrante. I microrganismi che costituiscono il biofilm sono coinvolti nell'eliminazione dell'inquinamento presente nell'acqua, infatti si nutrono di ciò che si accumula per adsorbimento sulla superficie dei grani. Questo strato biologico si accresce grazie ai microrganismi che sono portati dall'acqua in ingresso e consente di limitare la proliferazione in questa zona concentrata del filtro. È per questo che la portata d'acqua dev'essere ridotta, cosicché un più grande numero di batteri si possa instaurare nel film e una maggior quantità di nutrimento sia disponibile per essi.

Questi due effetti rispondono bene alle necessità che abbiamo per la situazione cambogiana. Infatti se da un lato l'effetto fisico aiuta a eliminare la materia organica, l'eccesso di metalli e a ridurre la torbidità, dall'altro l'effetto biologico è straordinariamente importante per ottenere un'acqua povera di batteri, principale causa delle malattie intestinali.

Il bio-filtro sembrava dunque perfettamente adatto al nostro contesto, abbiamo perciò ricercato se già fosse utilizzato in altri parti del mondo dove il problema era simile e poi abbiamo replicato delle condizioni simili a quelle della Cambogia in un esperimento per verificare l'operatività del sistema.

Per ciò che concerne la manutenzione, il bio-filtro richiede la rimozione dello strato superficiale di sabbia ogni 20-30 giorni, il suo lavaggio e il reinserimento nella situazione originaria. Ciò assicura che i batteri non si instaurino negli strati più profondi e al contempo costituisce un'operazione rapida che non intacca il funzionamento e il ritmo quotidiano d'approvvigionamento d'acqua.

2.3 ESPERIENZE DI FILTRI GIÀ IN OPERA NEL MONDO

È stato condotto uno studio per dimostrare l'azione del bio-filtro sulla concentrazione di batteri. Il risultato è mostrato qui di seguito: in blu è la concentrazione di E. Coli osservata prima della filtrazione e in rosso dopo (11).

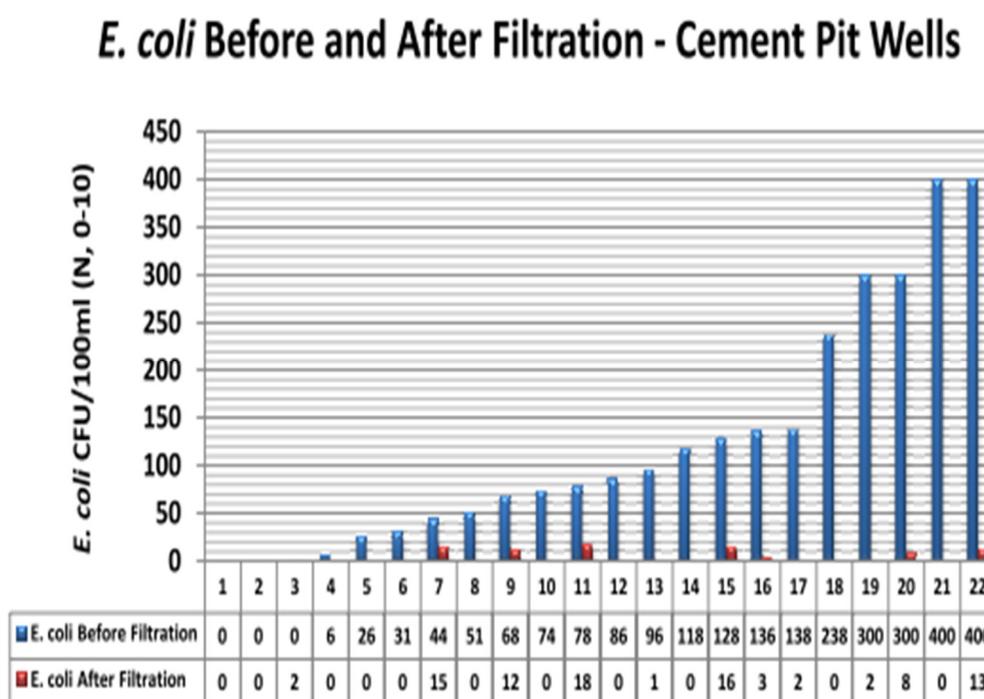


Figura 1: Confronto della concentrazione di E. Coli in acqua prima (blu) e dopo (rosso) il trattamento con il bio-filtro in 22 installazioni distinte.

Altri studi (9) portano in evidenza i risultati ottenuti in laboratorio ma anche sul campo (alcuni esperimenti realizzati anche nel sud-est asiatico). La tabella seguente mostra l'efficacia di questo trattamento anche per altre caratteristiche dell'acqua potabile, tra cui la concentrazione di Virus, Protozoi e vermi dell'apparato digerente (Helminthes).

	Bactéries	Virus	Protozoaires	Helminthes	Turbidité	Fer
Laboratoire	Jusqu'à 96,5% ^{1,2}	70 à > 99% ³	> 99,9% ⁴	Jusqu'à 100% ⁵	95% <1 NTU ¹	Non disponible
Terrain	87,9 à 98,5% ^{6,7}	Non disponible	Non disponible	Jusqu'à 100% ⁵	85% ⁷	90-95% ⁸

Tabella 3: Efficacia del filtro su alcuni parametri dell'acqua potabile, con confronto in situazione di laboratorio e da dati sperimentali da installazioni reali

Nello studio si sottolinea poi l'importanza della riduzione della torbidità. Infatti la torbidità non è causa di malattie di per sé, tuttavia, virus, parassiti e alcuni batteri spesso possono restare attaccati ai solidi in sospensione. L'efficacia del filtro nell'adsorbimento delle particelle solide si traduce quindi nell'eliminazione di un'importante quantità di specie patogene.

2.4 COSTRUZIONE DEL BIO-FILTRO

Qui di seguito è proposto lo schema di sezione del filtro, sarà quindi data la descrizione di ogni componente e poi sarà descritto come questo filtro è stato realizzato praticamente nel laboratorio LGPM dell'École Centrale Paris.

2.4.1 SCHEMA DEL FILTRO

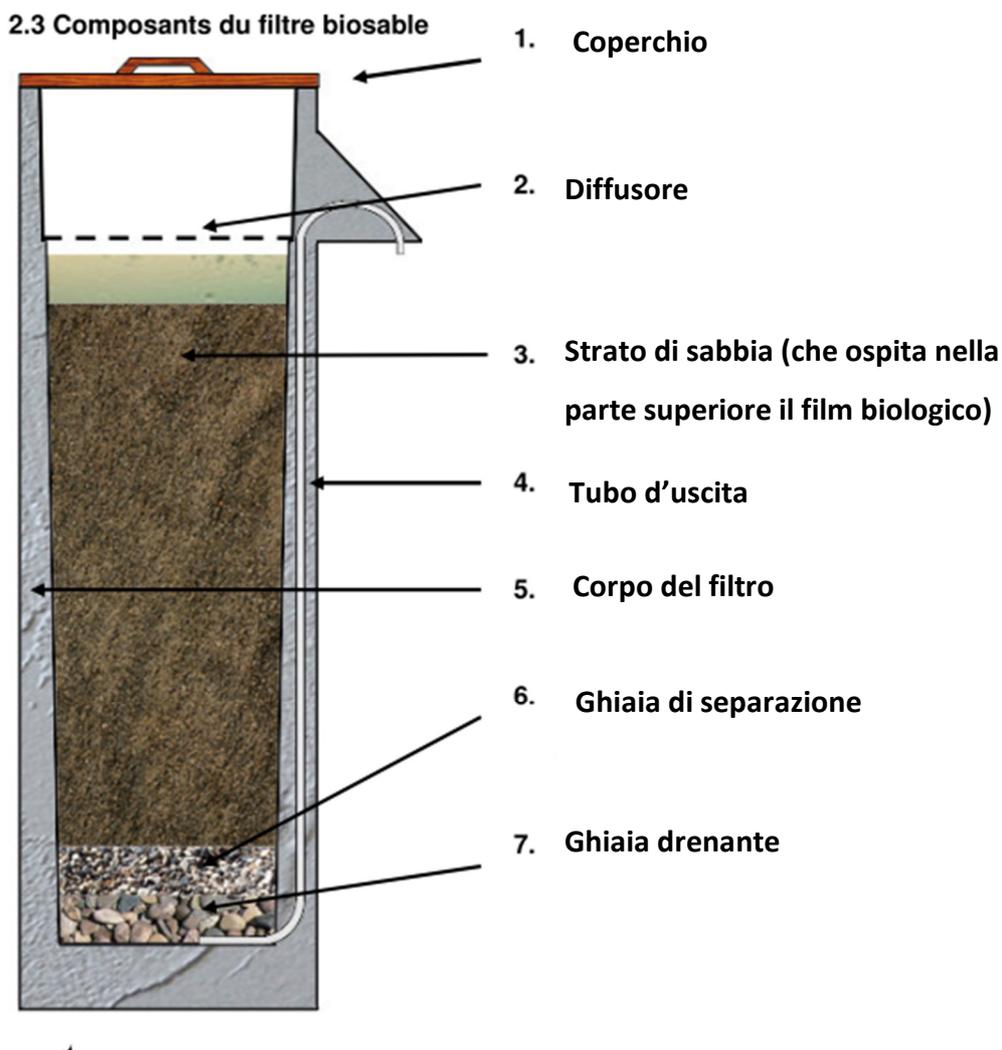


Figura 2: Schema in sezione verticale del Bio-Filtro

1. Coperchio: Il coperchio serve a evitare le contaminazioni dell'ambiente esterno sul filtro. Basti pensare, per esempio, alle larve delle zanzare che in un clima caldo come quello della Cambogia proliferano in enorme quantità, con gravi conseguenze sulla salute
2. Diffusore: L'acqua deve venire a contatto con la più grande superficie di sabbia con una velocità piuttosto bassa e l'impatto non deve causare un rimescolamento della sabbia superficiale, dove ha sede il film biologico. Il diffusore, che in Cambogia potrebbe essere un telo spesso di cotone, serve appunto a sparpagliare uniformemente l'acqua introdotta e a limitarne l'impatto violento sulla sabbia.
3. Sabbia e film biologico: Il cuore del filtro. Deve restare sempre colmata d'acqua per assicurare la sopravvivenza dei microorganismi del film biologico, anche se non può essere immersa più di 4-5 cm sotto il pelo dell'acqua, per assicurare un'efficiente diffusione dell'ossigeno all'intero della sabbia. La granulometria dev'essere molto fina per assicurare una grande superficie di adesione, ma non troppo perché non si aggiunga alle particelle già in sospensione e dunque aumentando la torbidità dell'acqua. La taglia ideale è dell'ordine del millimetro, con sezione crescente all'aumentare della profondità.
4. Tubo d'uscita: il deflusso d'acqua si realizza per gravità, quindi per assicurare la permanenza della quantità d'acqua desiderata nel filtro si sistema l'altezza dell'estremità del tubo d'uscita alla stessa quota del pelo dell'acqua.
Visto che il moto del fluido si realizza per gravità e avviene solo quando l'acqua è introdotta dall'alto sollevando il coperchio, la presenza di un rubinetto non è necessaria, sebbene possa essere auspicata per limitare l'ingresso di corpi estranei nel filtro.
5. Corpo del filtro: Spesso realizzato in cemento, il corpo del filtro è costituito da un parallelepipedo o un cilindro cavo e impermeabile. Per l'utilizzo domestico le misure consigliate sono di circa 40 cm di dimensione di base per 1 m d'altezza. Per ragioni economiche noi consigliamo un filtro ottenuto con un bidone di plastica, facilmente trovabile in Cambogia: sebbene ci si possa aspettare che duri meno di un filtro in cemento, i motivi economici e di approvvigionamento sono preponderanti in questa scelta.
6. Ghiaia di separazione: Sabbia di granulometria intermedia e ghiaia fine sono mescolate per ottenere uno strato che sostenga il corpo del filtro e che trattenga la maggior parte delle particelle degli strati superiori che possono essere state trascinate dal flusso d'acqua. Il diametro di questi sassolini dev'essere dell'ordine di qualche millimetro (5-8 mm)
7. Ghiaia drenante: Sassi più grossi sono posti sul fondo per evitare che i grani più piccoli intasino l'ingresso del tubo d'uscita. Si tratta di pietre la cui dimensione è poco più grande del diametro interno del tubo, ossia all'incirca di 1,5 cm.

2.4.2 REALIZZAZIONE DEL FILTRO IN LABORATORIO

La realizzazione di un sistema come quello appena descritto non sembra presentare troppe complicazioni tecniche e questo è una garanzia di semplicità indispensabile per il successo del nostro sistema in Cambogia. Tuttavia si tratta di un lavoro piuttosto lungo e da fare con cura, poiché vi s'installerà del materiale biologico, notoriamente delicato e soprattutto grandi quantità di patogeni. Per il corpo del filtro abbiamo scelto un bidone di acciaio di capacità 100 l, poiché immediatamente disponibile in laboratorio. Ricordiamo, però, che il filtro che vorremo installare in Cambogia avrà un corpo di plastica, grazie alla maggiore abbondanza di questo tipo di bidoni e all'influenza del materiale del corpo sul rendimento globale di purificazione. Il nostro sistema contravviene anche alla prassi dei filtri già installati nel mondo, che sono per di più in cemento, ma la cui realizzazione sarebbe stata troppo lunga e laboriosa, senza portare nessun vantaggio all'apparato sperimentale.



Figura 3: Setacci utilizzati in sequenza per la differenziazione della sabbia

Ciò su cui abbiamo posto la maggior attenzione è stata la sabbia, vero elemento chiave del filtro. Abbiamo raccolto sabbia e sassi dal vicino parco di Sceaux (Parc de Sceaux- Département des Hauts-de-Seine). I sassi più grandi sono stati separati a mano; ciò che restava è stato setacciato con 4 setacci a maglia diversa: 6 mm, 3 mm, 1 mm e 0,8 mm.

Abbiamo dunque ottenuto 5 strati distinti :

- Ghiaia drenante (dimensione di più di 6 mm)
- Ghiaia di separazione (sassolini compresi tra 3 e 6 mm)
- Sabbia grossa (tra 1 e 3 mm)
- Sabbia normale (tra 1 e 0,8 mm)
- Sabbia fina (meno di 0,8 mm)

La sabbia è stata lavata grossolanamente, per evitare di inserire nel bidone anche materiale biologico o impurità. Ovviamente per far ciò si è utilizzata prima dell'acqua di rubinetto (contenente cloro) e poi il tutto è stato sciacquato con dell'acqua distillata, affinché l'ambiente non fosse ostile all'installazione dei batteri. Anche il bidone d'acciaio è stato prima sterilizzato (grazie a della candeggina concentrata) e poi risciacquato con dell'acqua distillata prima di adagiarvi la sabbia,



Figura 4: I cinque tipi di sabbia come ottenuti dopo setacciatura.

Prima di mettere la sabbia più grossa sul fondo abbiamo fissato un tubo (che servirà da condotta d'uscita dell'acqua) la cui estremità si trova al centro del bidone e che poi esce dal basso, per poi essere fissato come secondo lo schema precedente sul fianco del serbatoio.

Infine sono stati stesi gli strati di sabbia secondo la granulometria decrescente dal basso verso l'alto.

Per completare la realizzazione secondo lo schema prima illustrato è stato introdotto un diffusore, costituito da un grande foglio di plastica forata ripiegato su se stesso più volte fino a coincidere approssimativamente con la sezione del serbatoio e infine è stata utilizzata una lastra di plastica come coperchio da porre sopra il bidone.



Figura 5: Il serbatoio del nostro Bio Filtro

2.5 ESPERIMENTI

2.5.1 PREPARAZIONE DEL FILTRO PER GLI ESPERIMENTI

Dopo aver installato il sistema, ci si è resi conto che l'acqua in uscita era più torbida di quella in ingresso. Ciò era evidentemente dovuto a della polvere sottile ancora presente sulla sabbia, che era troppo sottile per essere setacciata ed eliminata. Infatti l'acqua distillata in ingresso usciva pressoché grigia (prima bacinella da sinistra dell'immagine seguente)

Per risolvere questo inconveniente abbiamo recuperato i primi centimetri di sabbia e li abbiamo puliti con molta più attenzione, lasciando poi decantare in acqua distillata. Dopo aver reintrodotta la sabbia fine nel filtro, abbiamo proceduto a un backwash, in altre parole abbiamo introdotto dell'acqua distillata dal tubo d'uscita in modo tale da far



Figura 6: Acqua in uscita dal filtro prima (sinistra) e dopo (destra) il processo di backwash

risalire il pulviscolo che si era depositato negli strati più profondi e farlo decantare.

La fase di pulizia si è conclusa con un nuovo passaggio dell'acqua distillata attraverso il filtro e la verifica che l'acqua che ne usciva non aveva acquisito torbidità (ultima ciotola da sinistra nell'immagine).

Per la preparazione agli esperimenti è stata fatta un'attenzione particolare all'omogeneità del filtro: non ci dovevano essere dei percorsi preferenziali per l'acqua attraverso gli strati di sabbia altrimenti la filtrazione non sarebbe efficace.

Il film biologico si forma naturalmente quando una certa quantità di materiale organico è fornita come nutrimento ai microorganismi. Essi s'installano in colonie localizzate, dove l'ambiente è più favorevole per la loro crescita e così purificano l'acqua che attraversa questo strato grazie a due effetti:

- La materia organica è trattenuta come nutrimento dai microorganismi presenti nel film
- I microorganismi introdotti con l'acqua si uniscono alle colonie già sviluppate e sono ritenuti in una zona localizzata del filtro, riducendo notevolmente la loro concentrazione in acqua.

Questo processo naturale richiede del tempo (anche diversi mesi) perché lo strato biologico abbia una certa consistenza. Per realizzare le esperienze abbiamo dovuto accelerarlo. Per far ciò del terreno di coltura generico in quantità abbondante (5 litri) e ne abbiamo contaminato una parte con dei ceppi di *Pseudomonas*, un battere della famiglia dell'E. Coli che eravamo sicuri di trovare nell'acqua che poi sarebbe stata oggetto delle nostre esperienze. Abbiamo steso quest'ambiente molto favorevole alla crescita dei microorganismi su tutta la superficie del filtro e poi l'abbiamo nutrito con l'acqua in questione, attinta dal fiume Bièvre (comune di Sceaux- Département des Hauts-de-Seine). È molto importante che l'acqua con cui si conducono gli esperimenti sia la stessa durante tutto il progetto: infatti i microorganismi hanno adattato il loro metabolismo alle condizioni del loro habitat e una fonte d'acqua diversa può non fornire i minerali giusti per la loro crescita. L'acqua della Bièvre è stata scelta perché è piuttosto ricca in materia organica e in batteri ed era di facile accesso, poiché si prevedevano approvvigionamenti frequenti e di notevole entità durante tutto il progetto (in effetti caricavamo circa 50 l d'acqua la settimana)



Figura 7: Il biofilm (più scuro) come appare scavando qualche centimetro al di sotto della sabbia superficiale

L'installazione di uno strato efficace per la filtrazione ha richiesto lo stesso un'attesa piuttosto lunga : i primi risultati positivi si sono registrati dopo un mese e mezzo. È per questo che risulta dubbia l'utilità del terreno di coltura che era stato steso: la sua composizione totalmente diversa da quella che poi avrebbe costituito il nutrimento dei batteri potrebbe non aver giocato in maniera completamente positiva.

2.5.2 ELEMENTI DI PROCEDURA SPERIMENTALE

Le esperienze consistevano in prelevare un campione dell'acqua in ingresso del filtro e uno all'uscita dopo che tutta l'acqua iniziale era passata attraverso il filtro. Da questi campioni era poi prelevata una dose minima per poi diluire in acqua fisiologica su delle provette. Dalle diverse diluizioni poi si prelevavano 0,1 ml che erano stesi su delle capsule di Petri precedentemente rivestite del terreno di coltura BBL Endo-Agar che permette la crescita selettiva dei batteri gram-negativi tra cui appunto tutti i coliformi e quelli della famiglia dell'E. Coli. Le scatole, chiuse con cura, venivano riposte in un forno a 33-35° C per favorire la proliferazione dei batteri, che potevano essere contati già 24-36 ore dopo l'esperimento. La concentrazione effettiva di batteri (misurata in Colony Forming Units /ml) si otteneva dal numero di batteri nella scatola

moltiplicato la potenza di dieci del grado di diluizione. Ciò significa che se nella scatola in cui si erano stesi 0,1 ml provenienti dalla seconda diluizione si trovavano 5 batteri, la concentrazione era di $5 * 10^3$ CFU /ml.

La procedura è relativamente semplice ma presenta numerosi punti delicati: innanzitutto per ogni esperimento erano richiesti 2-3 giorni di preparazione, per preparare la gelosa (terreno di coltura) e l'acqua fisiologica e poi passare all'autoclave insieme a questi gli strumenti necessari, come le bottigliette per prelevare i campioni e i coni per le diluizioni. Inoltre dopo l'esperienza tutto il materiale venuto a contatto con i batteri era passato all'autoclave e solo dopo era svuotato e pulito. Inoltre una stretta procedura di sicurezza ci costringeva a recuperare in sacchi appositi tutto il materiale non riutilizzabile (guanti, pipette, capsule di Petri) per sterilizzarlo prima di trattarlo come un rifiuto normale. In Allegato 1 si trovano i dettagli della procedura sperimentale.

2.5.3 ESPERIMENTI E RISULTATI

Gli esperimenti sono iniziati 3 settimane dopo le operazioni sopra descritte e all'inizio non sono state per nulla concludenti, bensì abbiamo potuto registrare un netto miglioramento col passare del tempo.

Durante le prime 3 settimane abbiamo registrato un aumento della concentrazione di batteri tra l'acqua che lasciava il filtro e quella in ingresso. Questo comportamento è forse giustificato dal fatto che il film biologico non era ancora formato e dunque l'acqua che attraversava il filtro portava con sé i batteri presenti nel terreno di coltura che era stato steso per favorire la formazione dello strato biologico.

Dopo questa fase di assestamento del filtro, i risultati si sono dimostrati più interessanti, con una leggera riduzione, invero non soddisfacente, della concentrazione batterica. Con le prime esperienze positive si sono però registrati i primi problemi di coerenza tra dati di uno stesso set. Infatti a diluizioni diverse dello stesso campione dovrebbero corrispondere quantità di batteri scalate di un ordine di grandezza per diluizione. Nel caso di queste esperienze, invece, almeno un risultato era incoerente con gli altri, il che rimetteva in dubbio la sterilità degli strumenti e la rigidità del protocollo sperimentale. A partire da queste costatazioni è stato irrigidito il rispetto del protocollo sperimentale, anche perché in quel momento dell'anno il laboratorio sarebbe stato disponibile per ancora meno di un mese.

Le ultime esperienze condotte, frutto di queste riflessioni, si sono dimostrate di gran lunga le più concludenti. Benché si registrino ancora dei problemi di coerenza di dati, si può dimostrare un'efficacia del filtro di almeno il 50%. Si riporta qui come esempio il risultato di una delle ultime esperienze, rinviando all'Allegato 2: Dettagli dei risultati degli Esperimenti per tutti i dati ottenuti.

Esperimento del 3 maggio 2011					
	N° totale di batteri	Di cui E. Coli		N° totale di batteri	Di cui E. Coli
Ingresso (CFU/ml*10 ⁻³)	>100	Tutti	Uscita (CFU/ml*10 ⁻³)	16	10
Ingresso (CFU/ml*10 ⁻⁴)	31	1	Uscita (CFU/ml*10 ⁻⁴)	16	0
Ingresso (CFU/ml*10 ⁻⁵)	3	0	Uscita (CFU/ml*10 ⁻⁵)	0	0

Tabella 4: Risultati dell'Esperimento del 3 maggio 2011

Si noti come i valori in uscita riportino $16 \cdot 10^4$ e $16 \cdot 10^3$ CFU/ml per lo stesso campione, il che è assolutamente incoerente, in quanto ci si aspetta perlomeno che i dati ottenuti a diverse diluizioni mantengano lo stesso ordine di grandezza. In ogni caso si possano fare delle conclusioni positive sul set di valori: una globale riduzione della concentrazione batterica che va dal 50% (Diluizione 10^{-4}) a più dell'85% (Diluizione 10^{-3}), con un effetto ancor più marcato sugli E. Coli.

Si vuole notare che durante tutti gli esperimenti l'acqua che usciva dal filtro era trasparente, segno di una forte riduzione della torbidità, neutra all'odore, senza particelle grossolane o materia organica in sospensione a prescindere dall'acqua in ingresso.

2.5.4 CONCLUSIONI SUGLI ESPERIMENTI

Abbiamo dovuto interrompere gli esperimenti per dei lavori nel laboratorio, dove ci trovavamo appena due settimane dopo di quando i risultati cominciavano a diventare coerenti e interessanti, ma abbiamo potuto comunque trarre discrete conclusioni dal nostro lavoro.

Innanzitutto siamo stati in grado di dimostrare la formazione dello strato biologico che si dimostra efficace solo dopo un certo periodo di tempo (circa due mesi nella nostra esperienza), e ciò è dimostrato dal fatto che da quel momento, la quantità di batteri in uscita è notevolmente ridotta rispetto alla quantità in ingresso.

Un punto molto soddisfacente di questo progetto è che abbiamo acquisito le conoscenze necessarie per costruire un filtro a scala reale e per quanto riguarda il protocollo sperimentale che potranno essere trasmesse a chi si occuperà di terminare i nostri esperimenti; consigliamo però di prendere contatto con un'associazione già esperta nel settore dei filtri a sabbia.

Perché il filtro ha cominciato a diventare efficace solo nelle ultime esperienze, quello che è mancato per validare completamente il nostro sistema è la ripetizione dei risultati soddisfacenti che potesse dimostrare

la reale efficacia del filtro. Per concludere positivamente il progetto bisognerà iniziare prima gli esperimenti per dimostrare con più sicurezza quanto di buono il nostro sistema prometteva.

2.6 CONCLUSIONI SULLA BIO- FILTRAZIONE

La Bio-Filtrazione si è dimostrata una tappa efficace per l'eliminazione di batteri, torbidità e materia organica. Il nostro lavoro in laboratorio ha messo in luce le difficoltà pratiche per l'installazione del sistema, replicando il contesto di materiali della Cambogia e ha permesso di verificare quantitativamente l'efficacia del trattamento.

Durante il periodo di esperienze si è costatata la formazione del film biologico, elemento chiave del sistema e complessivamente il filtro ha riproposto le caratteristiche di economicità e facilità di funzionamento che ci aspettavamo. Questa fase è dunque assolutamente da ritenere per la purificazione dell'acqua nel contesto in esame. È però necessaria una fase ulteriore che assicuri la riduzione della concentrazione batterica al di sotto delle norme di potabilità ed è per questo che abbiamo proposto il trattamento solare, per il quale è necessaria un'acqua non torbida e senza materia organica, proprio come assicura la bio-filtrazione.

3. TRATTAMENTO SOLARE

3.1 PRINCIPI CHIMICO – FISICI

Il trattamento solare per la purificazione dell'acqua agisce secondo tre principi (12) :

- Il DNA assorbe i raggi UVA e questo induce le basi timina adiacenti a formare legami covalenti, provocando la formazione di dimeri di timina. Questo genera ovviamente un'anomalia nel ciclo cellulare, e quindi la replicazione del DNA si arresta e la cellula muore.
- La materia organica disciolta in acqua assorbe i raggi UV, iniziando delle reazioni fotochimiche. I prodotti di queste reazioni sono per lo più di specie altamente reattive come dei superossidi (O_2^-), perossido d'idrogeno (H_2O_2) e radicale ossidrile (OH^*). Queste specie danneggiano i microrganismi perché ossidano i loro corpuscoli cellulari.
- Infine, l'acqua assorbe i raggi della gamma dei rossi e infrarossi, generando calore. Se la temperatura aumenta al di là di un valore di soglia tipica per ogni organismo, si ha una denaturazione e le proteine non funzionano più come dovrebbero.

I gruppi precedenti hanno dimostrato che una profondità d'acqua fino ai 25 cm è adatta per un trattamento solare efficace. L'intenzione dei gruppi precedenti era di effettuare il trattamento solare in una vasca piena d'acqua. Tuttavia, alcuni problemi tecnici, la rivisitazione della struttura globale del sistema di purificazione e i risultati scientifici suggeriscono che l'uso di semplici bottiglie di plastica in PET sarebbe più adatto. Si impone anche una valutazione economica a favore delle bottiglie PET, poiché esse sono più facilmente disponibili e più economiche rispetto ai costi d'installazione di un serbatoio. Ritourneremo più tardi sull'aspetto pratico del trattamento solare nel contesto del nostro progetto. Ora saranno illustrati alcuni risultati scientifici disponibili in letteratura che avvallano la scelta di questo sistema per il nostro progetto.

3.2 DATI SULL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO

Il trattamento solare è già utilizzato in alcuni paesi del mondo, soprattutto in Africa e generalmente si svolge riempiendo le normali bottiglie di plastica PET (1 o 2 l) e lasciarle esposte al sole per qualche ora (13) Vedremo ora i perché di questa modalità di esposizione e l'influenza dei diversi fattori sulla purificazione dell'acqua

3.2.1 INFLUENZA DELLA TEMPERATURA SULLA DISINFEZIONE SOLARE

La temperatura minima affinché gli effetti termici abbiano luogo può essere fissata a 50 ° C (14) per un processo come quello previsto. Infatti tutti i principali agenti patogeni dopo un'ora a 50 ° C o più sono completamente uccisi. (14)

Il tempo necessario per raggiungere tali temperature deve essere contestualizzato con le condizioni sperimentali.

La tabella di seguito riporta il tempo necessario per raggiungere i 50°C e la massima temperatura raggiunta per varie configurazioni, che possono essere paragonate rispettivamente a una bottiglia, una piccola terrina e a un serbatoio (14). I dati sono forniti per l'acqua in sacchetti di PE, che ha proprietà di trasparenza ai raggi ultravioletti e infrarossi vicini al PET.

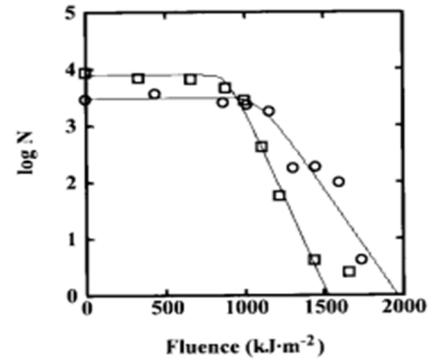


Figura 8: Curva d'inattivazione a 20°C di E. Coli (cerchi) e Streptococcus faecalis (quadrati), utilizzando la luce

Filled in water volume (L):	1.5	3.5	7	10
Depth of water layer (cm):	1	2	4	6
time (min) to reach 50°C	75	90	130	160
max. temp. (°C)/required time (min)	60/150	57/150	53/180	53/210

Tabella 5: Tempo necessario per raggiungere i 50°C e la temperatura massima raggiunta in diverse configurazioni

Al di là delle scelte di praticità, è chiaro dalla tabella sopra che la soluzione migliore è quella con un piccolo volume di acqua e di spessore sottile. Uno studio sul trattamento solare (15), è stato condotto per determinare l'influenza dell'aumento di temperatura dell'acqua quando è esposta alla luce solare sulla concentrazione di E. Coli.

L'esperimento consisteva nell'espore al sole delle bottiglie da 2L di PET piene d'acqua con $20 \cdot 10^5$ CFU/ml di E. Coli. Dopo 7h, non si registrano più tracce di E. Coli e i batteri e non riappaiono nelle successive 12 ore se la temperatura in bottiglia ha raggiunto 55 ° C . L'acqua utilizzata è l'acqua con elevata torbidità (> 200 NTU), per cui i raggi UV non passano più di due centimetri di profondità, l'effetto osservato è quindi dovuto esclusivamente alla temperatura, e non ai raggi UV.

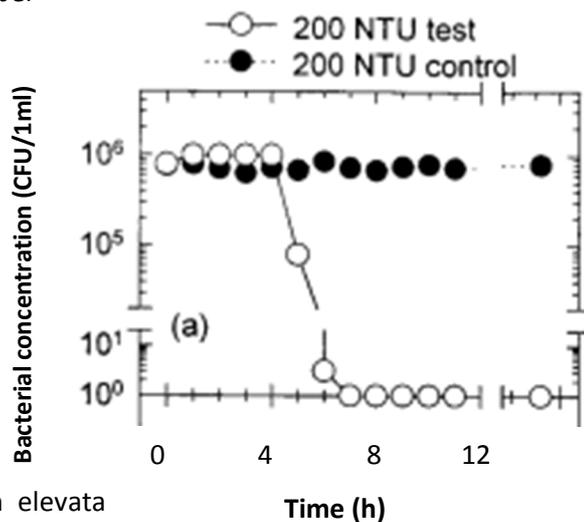


Figura 9: Evoluzione di E. Coli per trattamento solare in condizioni di elevata torbidità

Durante quest'esperimento sono state riscontrate condizioni meteorologiche varie, con irraggiamento tra i 3mW/cm² e gli 89mW/cm².

Lo stesso studio condotto però fissando la temperatura dell'acqua a diversi valori (50°C, 40° C e 20°C) dimostra che l'azione termica sui batteri è tre volte più intensa nel primo caso che nel secondo (14).

3.2.2 EFFETTO DELL'IRRAGGIAMENTO UV

Nel grafico seguente riportiamo i risultati di un altro studio che, invece, si è concentrato esclusivamente sull'influenza dell'irraggiamento UVA (14). L'acqua è tenuta a temperatura costante (20°C) e due specie di batteri (tra cui in cerchio l'E. Coli) sono esposte all'irraggiamento UVA, in ascissa è riportato il totale dell'energia per unità di superficie cui sono esposti, che non è altro che un tempo di esposizione se si divide per la potenza d'irraggiamento.

Lo stesso tipo di curva si registra con altri batteri, come dimostrano i grafici seguenti (15):

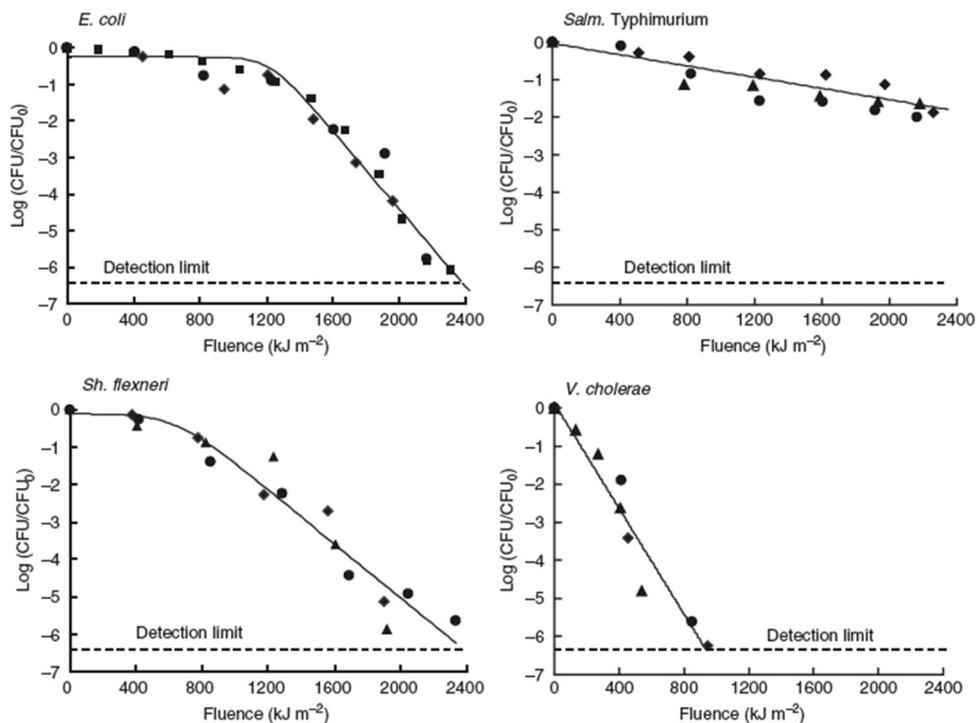


Figura 10: Curve d'inattivazione di diversi batteri (E. Coli, Salm. Typhimurium, Sh. Flexneri et V. Cholerae) in funzione della luminosità

Eccezion fatta per Salmonella Typhimurium, tutti i microorganismi (Escherichia coli, Shigella flexneri, et Vibrio cholerae) praticamente scompaiono per dei flussi di 1660-2000 kJ m⁻². Il limite di questo studio è che i valori riportati sono ottenuti con dell'acqua a torbidità nulla e a temperatura costante di 37°C.

Riportiamo di seguito i risultati di uno studio che tiene in considerazione l'effetto della torbidità (16). Questi grafici rendono più accessibile il concetto di "Fluence" portando l'esempio di tre condizioni di esposizione solare e quindi proponendo in ascissa la sola variabile temporale.

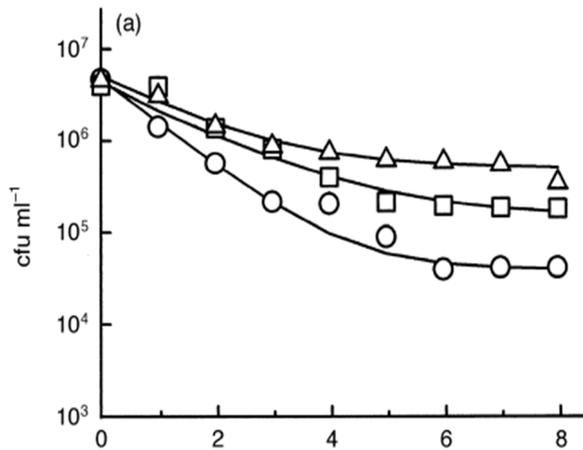


Figura 11: Curva d'inattivazione d'E. Coli (torbidità 200 NTU)

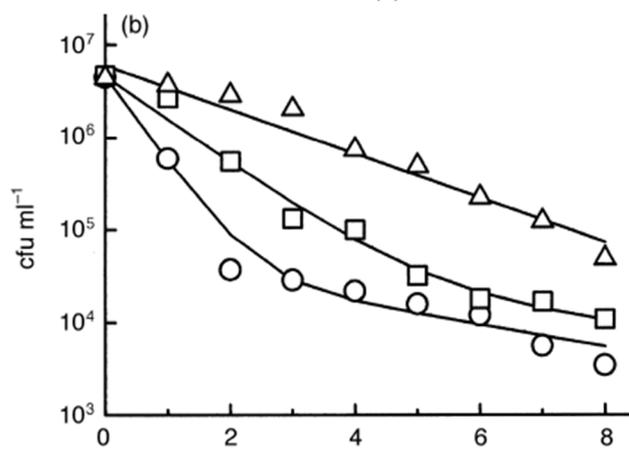


Figura 12: Curva d'inattivazione d'E. Coli (torbidità nulla)

Le tre curve infatti rappresentano condizioni di meteo nuvoloso (triangoli: 10mW cm⁻²), intermedio (quadrati: 40 mW cm⁻²) e di forte insolazione (cerchi: 70 mW cm⁻²).

L'esperimento con torbidità nulla (grafico a destra) è generalmente più efficace di un ordine di grandezza rispetto a quello con forte torbidità. Da questi dati riteniamo dei risultati assai soddisfacenti: in assenza di torbidità si ha una riduzione del 99% della concentrazione di batteri già dopo 2-4 ore (secondo l'intensità del sole).

All'interno dello stesso studio (16) si studia l'accoppiamento degli effetti termico e ultravioletto mantenendo la temperatura costante, avvicinandosi alla realtà delle condizioni del processo.

Ora, sembra importante valutare quali siano effettivamente le condizioni d'irraggiamento luminoso e di temperatura in Cambogia per valutare la pertinenza di questi studi con il nostro progetto e dunque ritenerne o meno i risultati. Uno studio interessante (17) illustra che la radiazione quotidiana in Cambogia si attesta tra i 17 MJ m⁻² jour⁻¹ in dicembre e i 22 MJ m⁻² jour⁻¹ in aprile, il che corrisponde rispettivamente a 43mW cm⁻¹ et 55mW cm⁻¹. Le temperature massime si registrano in Aprile e Maggio e quando la temperatura è tra i 25°C e 35°C, mentre le minime sono in Novembre e Dicembre quando si registrano tra i 22°C et 30°C.

Si può quindi dire che le condizioni della Cambogia rientrano nelle statistiche d'intensità luminosa « media » (40 mW cm⁻¹) e di temperatura già piuttosto alta, il che favorisce un rapido raggiungimento dei 50°C sperati.

Nei grafici seguenti si trovano i risultati valutando gli effetti accoppiati per le solite due torbidità con condizioni d'irraggiamento "medie" (16):

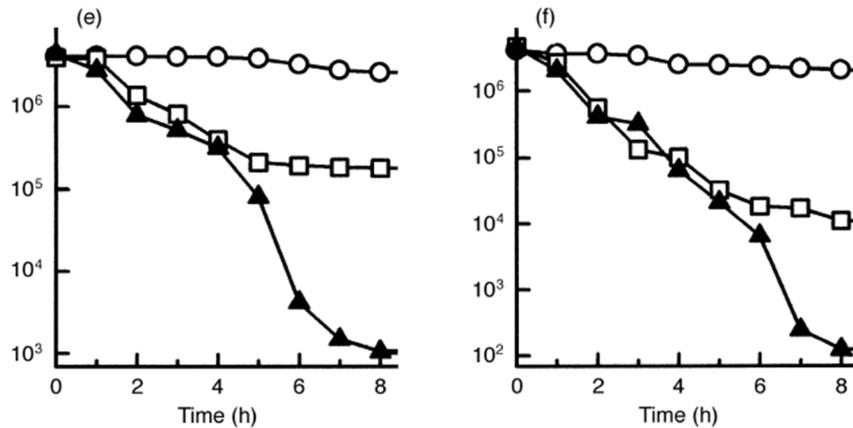


Figura 13: Confronto dell'inattivazione dei batteri per via termica (cerchi), ottica (quadrati) e combinate (triangoli) per la situazione esaminata, in torbidità elevata (200NTU a sinistra) e nulla (destra)

L'effetto congiunto delle componenti termica e radiativa aumenta fortemente la resa del processo, in entrambi i casi di torbidità. Come ci si aspettava l'effetto radiativo è molto più intenso per il caso con bassa torbidità. Stanti le condizioni che immaginiamo per il nostro sistema, per l'eliminazione del 99% di batteri bastano 4-5 ore.

Sono disponibili nella letteratura (12) anche dei dati di sistemi a trattamento solare effettivamente installati in alcuni paesi del mondo. Eccone i risultati:

Test site/year	Test/ container/ organism	Highest temp. (°C)	Turbidity (NTU)	SS or TS* (mg/L)	Initial conc. (MPN or CFU/100 mL)	Final conc. (MPN or CFU/100 mL)	Exposure time (min)	UV-A (Wh/m ²)	Reduction (%)	Average reduction in 15 min (%)
Colombia '93	6/PET	const. 30	14	N/A [†]	3.50×10^4	9.91×10^3	360	75	71.69	2.99
	6/glass	const. 30	14	N/A	3.50×10^4	9.36×10^3	360	75	73.25	3.05
	7/PET	57	17	N/A	5.10×10^4	1	330	85	100.00	4.55
Colombia '95	11/glass	45	23	24	3.20×10^4	6.40×10^3	310	91	80.00	3.87
	11/PET	45	23	24	3.20×10^4	6.60×10^3	310	91	79.38	3.84
	11/glass/Vch	45	23	24	1.10×10^4	7	110	46	99.94	13.63
	11/PET/Vch	45	23	24	1.10×10^4	2	130	52	99.98	11.54
	12/glass	48	40	75	2.62×10^4	1.15×10^2	270	105	99.56	5.53
	12/PET	48	40	75	2.62×10^4	7.37×10^2	270	105	97.19	5.40
	12/glass/Vch	48	40	75	1.50×10^3	4	270	105	99.73	5.54
	12/PET/Vch	48	40	75	1.50×10^3	2	270	105	99.87	5.55
Thailand '95	31/PET	50	20	32	3.00×10^6	6.80×10^1	200	N/A	100.00	7.50
	33/PET	50	20	33	3.00×10^6	9.40×10^1	200	N/A	100.00	7.50

Tabella 6: Tassi d'inattivazione dei Coliformi Fecali e di Vibrio Cholerae (Vch dove indicato) con le condizioni indicate. Si possono anche confrontare le performance di recipienti in vetro e plastica.

I microorganismi studiati sono i coliformi fecali e il Vibrio Cholerae (dove indicato), sono registrati per ogni esperienza la temperatura massima raggiunta, la torbidità dell'acqua, la concentrazione iniziale e finale dei microorganismi, la durata del trattamento, un calcolo percentuale di riduzione complessiva e una "velocità di purificazione" sui primi 15 minuti. Le condizioni della Thailandia sono assai vicine a quelle della Cambogia per clima e radiazione incidente. In tal caso 3 ore di esposizione sono state sufficienti per ridurre di circa 5 ordini di grandezza la concentrazione di batteri presente, risultato davvero positivo.

Ciò che rende davvero interessante questa tecnica è la durata dell'effetto. Infatti (16) dimostra che non si osservano aumentazioni della concentrazione batterica nelle 24 ore seguenti il trattamento. Una fonte (14) riporta l'evoluzione della concentrazione batterica nei giorni seguenti. Si può considerare che il periodo massimo di conservazione, senza contaminazioni esterne, è di massimo 3-4 giorni.

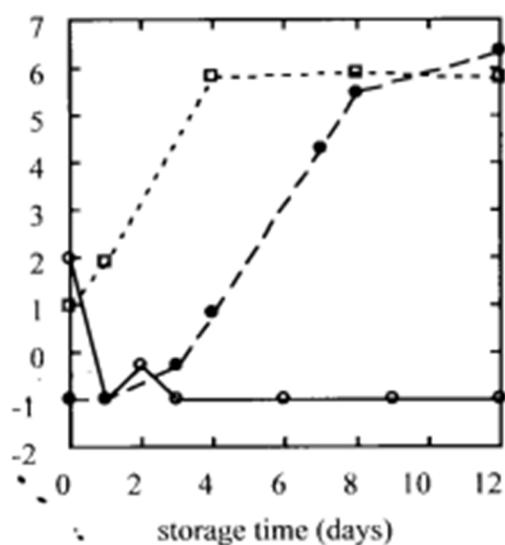


Figura 14: Esponenti di crescita di E. Coli esposti al sole (cerchi vuoti), del totale di batteri presenti (cerchi neri) e confronto con soluzione non esposta ad un trattamento solare (quadrati)

3.2.3 DIMENSIONAMENTO DEL SISTEMA

I risultati esposti sopra sono ottenuti in condizioni ideali (parete perfettamente opaca al di sotto e strato d'acqua sottile).

Riportiamo qui di seguito un grafico che illustra come lo spessore dello strato d'acqua influenza il passaggio dei raggi UVA, che giocano una parte importante nel trattamento solare (18).

Visto che nell'esposizione solare l'effetto termico sopra studiato è coadiuvato da quello ultravioletto, è importante tenere in conto i vincoli di quest'ultimo per il dimensionamento del sistema solare. Considerando uno spessore di 8-10 cm (quello di una bottiglia da 1,5 l) la radiazione UV è ridotta dal 20% al 50%. È facile immaginare che nelle condizioni cambogiane ci si trovi tra i due valori di torbidità, essendo 0 NTU un livello di purezza irraggiungibile ma considerando che il bio-filtro funzioni come sperato.

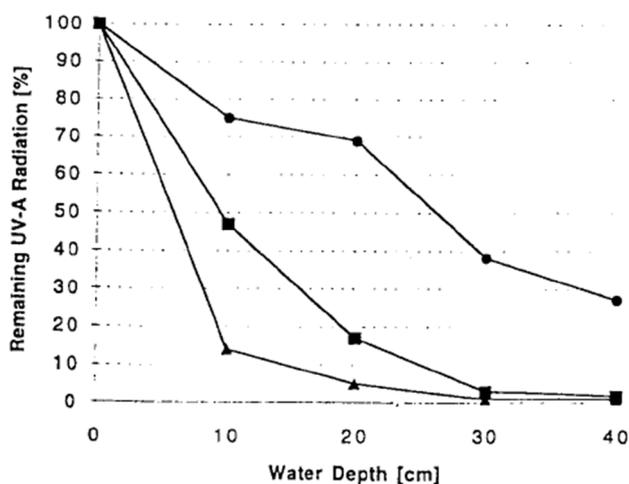


Figura 15: Riduzione delle radiazioni UV-A in funzione della profondità dell'acqua a varie torbidità: <1NTU (cerchi), 25 NTU(quadrati), 40NTU (triangoli)

3.3 CONCLUSIONI SUL TRATTAMENTO SOLARE

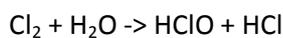
In conclusione un trattamento solare di almeno 4 ore effettuato su delle semplici bottiglie di plastica, ben disponibili almeno nelle città della Cambogia, è sufficiente per avere un'acqua di qualità sensibilmente migliore rispetto a quella che è attualmente consumata. Le condizioni meteorologiche della Cambogia si dimostrano essere ottimali per questo processo e per di più l'acqua trattata è bevibile anche per le 24 ore seguenti. L'acqua nelle bottiglie a inizio trattamento dev'essere però priva di torbidità e materia organica per assicurare un'efficacia massima: è per questo che il trattamento solare è una fase imprescindibile per l'ottenimento di acqua potabile ma dev'essere posto al seguito di una fase di trattamento preliminare, qual è la bio- filtrazione.

4. CLORAZIONE

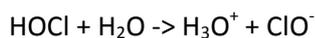
4.1 PRINCIPI CHIMICO- FISICI

Il cloro uccide gli agenti patogeni come batteri e virus rompendo i legami chimici delle loro molecole. I disinfettanti usati a tale fine consistono in composti di cloro che possono scambiare atomi con altri composti, quali gli enzimi dei batteri. Quando gli enzimi entrano in contatto con il cloro, uno o più atomi d'idrogeno sono sostituiti dal cloro. Ciò provoca la deformazione o il deterioramento dell'intera molecola. Quando gli enzimi non funzionano correttamente, la cellula muore. (19)

Quando si aggiunge all'acqua il cloro, si forma l'acido ipocloroso:



A seconda del valore del pH una parte dell'acido ipocloroso si trasforma in ioni ipoclorito:



La parete delle cellule dei microorganismi patogeni è naturalmente carica negativamente; come tale, può essere penetrata dall'acido ipocloroso (neutro) piuttosto che dallo ione ipoclorito carico negativamente.

L'efficacia della disinfezione è dunque funzione del pH dell'acqua ed è massima quando il pH è compreso fra 3 e 7, per la massima concentrazione di acido ipocloroso tra le tre forme di cloro "libero".

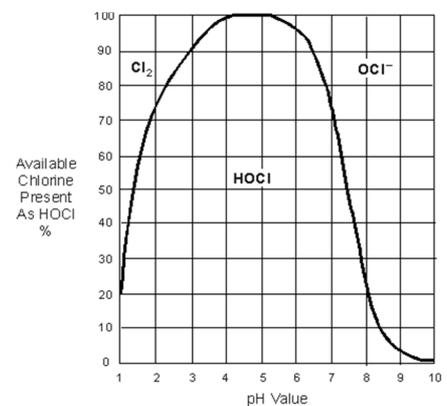


Figura 16: Distribuzione del Cloro libero in funzione del pH

4.2 EFFICACIA DEL TRATTAMENTO

Il cloro è un potente battericida anche in piccole quantità: bastano infatti 0,2 mg/l per garantire l'eliminazione totale dei batteri presenti. Inoltre, soddisfatta la "richiesta di cloro" dell'acqua, il cloro "libero" continua ad essere efficace fino alla sua completa consumazione. Per cloro "libero" s'intende tutto il cloro non legato, ovvero disponibile per l'attacco della materia organica.

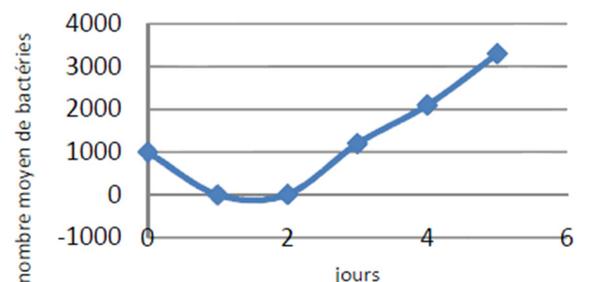


Figura 17: Evoluzione del numero di batteri in presenza di cloro. Simulazione di contaminazione quotidiana di 1000 batteri/gg

Questa caratteristica rende la clorazione un trattamento molto interessante perché unisce efficacia (100%), rapidità di risposta (per E. coli meno di un minuto) (19),

bisogno ridotto di materia prima (per la bassa concentrazione necessaria) e lunga durata (fino a una settimana).

Un esperimento condotto nel laboratorio LGPM dell'École Centrale Paris dall'equipe dell'anno scorso ha voluto simulare l'effetto di contaminazione con l'aggiunta di una quantità fissa di Pseudomonas (1000 CFU) ogni giorno in una soluzione di 10mL dove era stato aggiunto l'equivalente di 0,2 mg/l di cloro. I risultati mostrano che anche in presenza di una contaminazione così importante l'acqua restava priva di batteri per 2 giorni.

4.3 INCONVENIENTI TECNICI NEL CONTESTO CAMBOGIANO

Diversi problemi tecnici ci hanno costretto a valutare inadatta la clorazione nel contesto del nostro progetto.

4.3.1 COSTI, APPROVVIGIONAMENTO E CONSERVAZIONE

Il cloro si può conservare sotto forma gassosa (Cl_2) o disciolto in soluzioni che rilascino cloro "libero" come Candeggina ($NaClO$) o ancora intrappolato in pastiglie solide. Eccezion fatta per la prima soluzione, lo stoccaggio non presenta particolari rischi, sennonché la volatilità del cloro ne rende la lunga conservazione difficile. Ciò che risulta invece particolarmente problematico è il trasporto e l'approvvigionamento del cloro per i villaggi che sono l'oggetto del nostro studio. Infatti si tratta di luoghi remoti, collegati a delle cittadine rurali per mezzo di strade di terra battuta e che sfruttano come mezzo di trasporto principale il lavoro animale. Inoltre il cloro è un bene abbastanza economico nei paesi occidentali per l'ampia quantità che è prodotta, mentre risulta un bene più difficile da trovare in Cambogia, paese ancora molto arretrato industrialmente.

Anche se questi costi fossero ridotti, bisogna valutare che le povere famiglie Cambogiane non potrebbero sostenere uno sforzo economico per approvvigionarsi d'acqua, che finora è totalmente gratuito, pur capendo i vantaggi in termini di salute. La dipendenza dall'esterno della materia prima per il trattamento costituisce inoltre un grave pericolo, poiché limita l'autonomia del villaggio e in caso di problemi di trasporto non ci sarebbero mezzi alternativi per la produzione di acqua potabile.

4.3.2 CAMBIAMENTO DEL GUSTO DELL'ACQUA

Sebbene le caratteristiche germicide del cloro siano fuori di dubbio, il suo impatto sul gusto dell'acqua potrebbe limitarne drasticamente l'espansione. Infatti già alcune esperienze in India (20) e in altri paesi sottosviluppati hanno dimostrato che gli abitanti rifiutavano di bere l'acqua trattata con il cloro poiché il suo gusto era troppo diverso rispetto a quella "naturale". Ora, in un progetto mirato al contesto di un

villaggio rurale della Cambogia, non si può trascurare questo fattore che provocherebbe l'abbandono di una parte del processo di purificazione e dunque un enorme spreco di tempo e di denaro.

4.3.3 DOSAGGIO

Come già accennato, il cloro ha un'azione molto efficace già a basse concentrazioni (0,2 mg/l). Ciò costituisce senza dubbio un grande vantaggio per questa tecnica di purificazione, ma al contempo solleva un problema tecnico per la piccola scala su cui stiamo lavorando. La quantità d'acqua che sarà trattata per famiglia non sarà superiore ai 20 litri al giorno, quindi il dosaggio di cloro dovrà essere fatto con la precisione di qualche milligrammo. Già quest'operazione presenta delle difficoltà per una persona nel mondo occidentale, immaginarla in Cambogia senza nemmeno gli strumenti più basilari come un contagocce sembra davvero un ostacolo molto arduo.

5. IL SISTEMA COMPLETO

5.1 STRUTTURA DEL SISTEMA DI TRATTAMENTO

Al giorno d'oggi la maggior parte degli abitanti dei villaggi cambogiani utilizza dell'acqua che proviene direttamente dalle risaie o da pozze sul terreno. Essi non hanno conoscenze sui bisogni igienici elementari, dunque far capire alla gente locale che il miglioramento degli standard di vita e la riduzione delle malattie valgono la pena di un piccolo sforzo è essenziale per la riuscita del progetto. Allo stesso modo, è essenziale che le fasi del nuovo sistema di approvvigionamento dell'acqua non siano complesse, da un lato per non sconvolgere l'utilizzatore e dall'altro per essere sicuri che siano realizzate correttamente.

Abbiamo dunque ripensato la giornata di un abitante che usi il nostro sistema per vedere se è abbastanza semplice. Le caratteristiche seguenti sono da tenere in conto per definire lo svolgimento temporale del processo:

- Il trattamento solare è efficace se l'acqua è consumata nelle 24 ore seguenti.
- Dopo l'esposizione al sole, l'acqua ha raggiunto anche i 50°C, quindi è imbevibile.
- Il filtro funziona immediatamente appena l'acqua è inserita in ingresso.
- Il filtro dev'essere utilizzato ogni giorno affinché il film biologico si mantenga vivo.

La soluzione concepita in risposta a questi vincoli per avere un'utilizzazione più semplice possibile è la seguente :

- Mattino: mettere l'acqua nel filtro
- Riempire le bottiglie PET (della taglia disponibile) con l'acqua in uscita dal filtro. (il processo è praticamente istantaneo dopo il filtro, se si pensa che la portata sarà di circa 0,5l/min)
- Esposizione delle bottiglie al sole, possibilmente su un supporto riflettente, per 6 ore prima del tramonto. Come si è visto in precedenza il tempo necessario per il trattamento è minore se le condizioni meteorologiche lo permettono, prevediamo una durata maggiore per premunirci dalle fluttuazioni di nuvolosità e non dover insegnare agli abitanti delle abitudini diverse se il meteo cambia.
- Durante la notte l'acqua si raffredda e potrà essere utilizzata durante il giorno seguente.

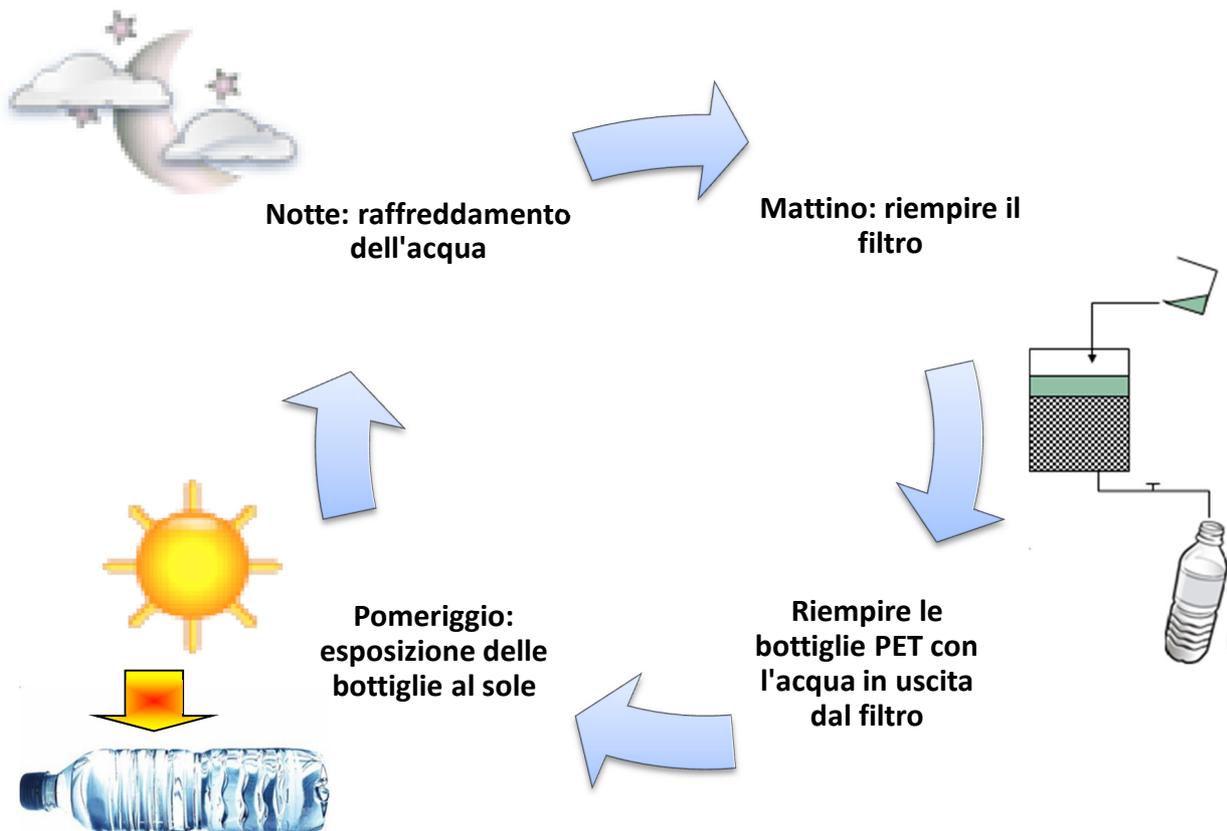


Figura 18: Il nuovo ciclo dell'approvvigionamento dell'acqua

Per ogni membro del nucleo domestico valutiamo la necessità di un volume d'acqua di circa 5 litri al giorno, quindi si dovrà fornire al nucleo familiare un numero doppio di bottiglie rispetto ai bisogni, in quanto si utilizzano in contemporanea due set: mentre l'uno sarà in fase di trattamento, l'altro sarà utilizzato per il consumo normale e una volta vuoto, sostituirà il primo nel trattamento.

5.2 VALIDAZIONE TECNICA IN LOCO

Oltre agli incoraggianti ma ancora acerbi risultati sperimentali del nostro laboratorio e alla ricca letteratura che consolida l'efficacia del filtro, per attestarne la piena funzionalità c'è bisogno di prove sperimentali in Cambogia. Per terminare il progetto, dunque, converrà prendere contatto con degli istituti specializzati che attestino la potabilità dell'acqua in uscita dal filtro. Il nostro gruppo è riuscito ad ottenere già adesso il finanziamento necessario per sostenere il costo delle analisi ed è anche riuscito ad avere dei contatti precisi all'interno di alcuni laboratori. Il primo al quale si fa capo è il RDIC (Resource Development International Cambodia) in cui uno studente dell'École Centrale Paris si troverà durante una parte del 2012. Altri laboratori sono l'istituto Pasteur di Phnom Penh e l'istituto di biologia Rodolphe Mérieux (LRM), anch'esso a Phnom Penh.

I campioni d'acqua provenienti dal filtro dovranno essere trasportati dal villaggio dove sarà impiantato il sistema alla città dove sono i laboratori, con grave condizionamento dei campioni. È per questo molto

importante assicurarsi che il sistema sia il più efficace possibile prima dell'installazione. A causa di questa precauzione ulteriore e dei ritardi nell'approvazione del progetto da parte di Caritas l'installazione effettiva è stata rinviata all'estate 2012. Contiamo in questo periodo di fornire risultati sperimentali più soddisfacenti e di guidare un processo di sensibilizzazione ai problemi di pulizia dell'acqua.

5.3 LA CAMPAGNA DI SENSIBILIZZAZIONE

Le popolazioni rurali della Cambogia hanno una conoscenza scarsissima sulle cause delle malattie che li affliggono, perciò una solida struttura tecnologica non si può impiantare in tale contesto che con l'ausilio di una campagna di sensibilizzazione all'igiene e all'utilizzo di un'acqua più salubre. È qui che entrano in gioco i contatti con le associazioni umanitarie. Saranno esse, infatti, a guidare questa campagna, vista la fiducia maturata con i locali. Sarà compito del gruppo che prenderà in mano il nostro lavoro di formarli grazie a dei manuali sulla costruzione e sull'utilizzazione del sistema.

Innanzitutto sembra necessario introdurre brevemente le associazioni umanitarie con cui abbiamo collaborato e che agiranno in loco.

5.3.1 CARITAS CAMBODIA

La Caritas Cambodia è la più grande organizzazione non governativa presente sul territorio cambogiano. Fu fondata nel 1990 e la sua attività si concentra principalmente sullo sviluppo delle popolazioni rurali sia dal punto di vista materiale che sociale. Alla luce di quest'aspetto l'accesso all'acqua potabile è un punto nevralgico per la sua opera.

La Caritas Cambodia conta più di 150 dipendenti salariati e migliaia di volontari, il cui numero varia con le stagioni ed è membro della rete Caritas, estesa in tutto il mondo, anche in Francia dove il nostro progetto si è principalmente sviluppato. Grazie a Caritas Francia abbiamo potuto comunicare con la sede cambogiana, che si trova a sua volta in contatto con gli uffici in tutto il Paese.

5.3.2 KAMPUCHEA SOURIYA

Kampuchea Souriya (ovvero Sole della Cambogia in khmer) è un'associazione di volontariato per l'aiuto allo sviluppo fondato 10 anni fa da alcuni studenti dell'École Centrale Paris, in collaborazione con Caritas Francia. L'obiettivo era di permettere a dei giovani dell'École di partire in volontariato in Cambogia con la supervisione e l'aiuto di Caritas. Quest'associazione, presente tuttora sul campus dell'École Centrale Paris è un attore importante del nostro progetto poiché oltre ad aver collaborato finanziariamente, si è proposta di impiantare il progetto in Cambogia, trasportando se necessario del materiale, di costruire effettivamente il filtro e di comunicare con i membri locali di Caritas perché verificchino il corretto funzionamento e la manutenzione del sistema. L'associazione si trova in Cambogia due mesi l'anno, in giugno e luglio e funge

anche da canale di comunicazione preferenziale con le popolazioni locali che sono a stretto contatto coi volontari e con Caritas Cambogia, che dunque potrà interpellarci in maniera rapida ed efficace per mezzo loro. Benché, come già accennato, il filtro non sarà inviato in Cambogia quest'estate, ci siamo tenuti in continuo contatto con il presidente dell'associazione, che dunque potrà aiutare il gruppo seguente.

5.3.3 LA GESTIONE DEL PROGETTO

E importante per la nostra campagna di sensibilizzazione come Caritas gestisce i propri progetti, poiché alla fine sarà tale ONG ad assumere la responsabilità dell'installazione del nostro progetto.

La prima tappa dell'installazione, che può durare diversi mesi, consiste nel far risalire dagli abitanti stessi i loro bisogni e farli rendere conto dei loro problemi più gravi che sbarrano la strada per lo sviluppo. Questa fase è effettuata da uno o due membri della Caritas, detti CD Workers (Community Development Workers) che saranno poi i responsabili della gestione del programma.

Una volta messi in luce i bisogni, la Caritas propone delle soluzioni alla comunità locale e propone che qualche volontario, detto Key Farmer sia il primo a sperimentare il progetto nel proprio nucleo familiare. In quel momento le redini del progetto passano a lui, consigliato da vicino dal CD Worker. L'installazione effettiva del progetto inizia in questo istante e si costruiscono le infrastrutture necessarie. Se il prototipo funziona presso questo volontario, per la mentalità fortemente buddhista della popolazione cambogiana, saranno gli altri abitanti del villaggio a voler ricorrere allo strumento provato e il progetto potrà dunque estendersi.

La campagna di sensibilizzazione interviene nella preparazione dell'installazione. Il nostro lavoro è dunque di fornire al CD Worker tutti gli elementi necessari per stimolare gli abitanti del villaggio sulle questioni dell'igiene e di prepararli all'arrivo del sistema di depurazione.

Le due linee guida saranno dunque :

- Evidenziare i rischi legati all'utilizzo di acqua non purificata.
- Spiegazione del funzionamento del sistema di purificazione.

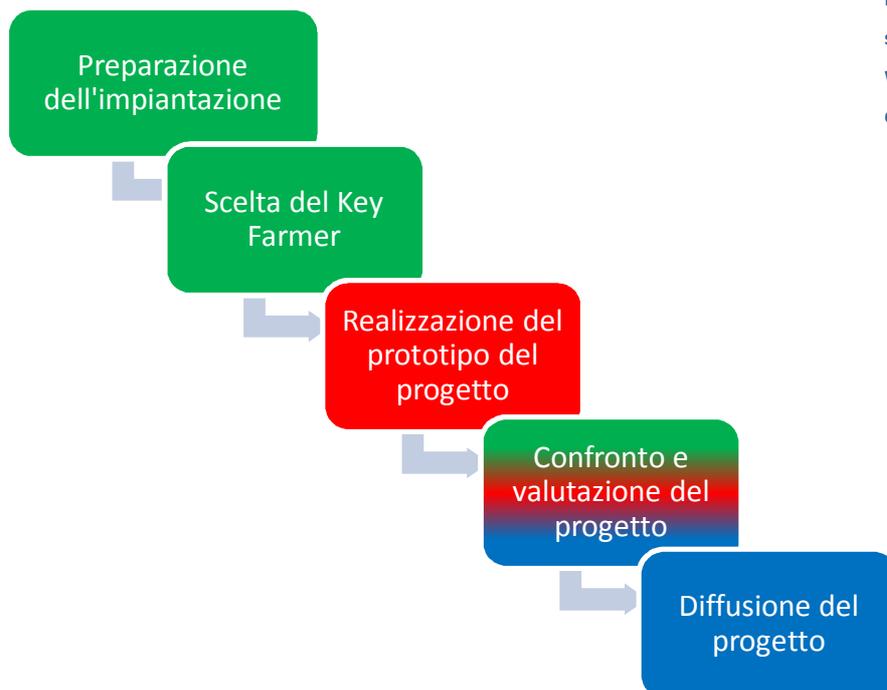


Figura 19: Schema di gestione di un processo di sviluppo di Caritas. In Verde i contributi del CD Worker, in Rosso quelli del Key Farmer e in Blu del resto della comunità locale

Su nostra incitazione Caritas ha rafforzato la campagna già iniziata sul primo asse di sviluppo. Caritas ha già iniziato a lavorare sulla questione dell'acqua potabile per preparare l'installazione di alcuni pozzi, come fonte alternativa alle risaie per l'approvvigionamento idrico. I CD Workers perciò avranno già una base di comprovato successo per intavolare le discussioni con i locali. Il problema è che prima di farli convergere verso un sistema di purificazione dell'acqua, Caritas deve averne tra le mani uno funzionante o perlomeno sapere con esattezza come realizzarlo, altrimenti tutti gli sforzi di sensibilizzazione non condurrebbero a nulla.

La seconda parte di sensibilizzazione è la più nuova. Essa consiste in primo luogo nello spiegare agli abitanti dei villaggi come utilizzare il sistema di purificazione, sebbene esso sia molto semplice, e poi a come mantenerlo in funzionamento e a seguirli nella fabbricazione. Per aiutarli nella comunicazione di questa fase sembra conveniente realizzare un supporto visivo accessibile a tutti, sapendo che l'analfabetismo colpisce il 78% della popolazione cambogiana e questo tasso è ancora più alto in campagna. Sembra dunque ragionevole proporre dei cartelli, dei manifesti che possano aiutare gli abitanti del villaggio a imitare il Key Farmer qualora il progetto si dimostrasse di successo. Ovviamente accanto a ciò è importante realizzare dei supporti per il CD Worker, affinché sappia rispondere alle domande più specifiche e affinché sia egli stesso a guidare la prima installazione. Per loro sarà quindi più adatto un manuale più completo, seppure riassuntivo e che illustri il principio fisico del trattamento.

Così la campagna di sensibilizzazione dovrà cominciare dalla formazione interna del personale della Caritas, poi potrà svolgersi presso i villaggi secondo lo schema classico precedentemente illustrato.

6. CONCLUSIONE

I risultati finali di quest'anno di lavoro non sono stati al livello auspicato all'inizio, ovvero di poter installare nell'estate 2011 un prototipo in Cambogia. Ciononostante ci si può ritenere soddisfatti del lavoro effettuato perché gli obiettivi erano ambiziosi e il filtro non è stato installato anche per problemi al di fuori del nostro controllo. Infatti abbiamo ottenuto l'autorizzazione a procedere da parte di Caritas solo a fine Aprile, quando era ormai tardi per la campagna di sensibilizzazione e per i manuali.

Per quanto concerne i risultati abbiamo notato un progressivo miglioramento più il tempo passava (e dunque lo strato biologico era più efficace). Se avessimo cominciato prima durante l'anno avremmo avuto sicuramente dei risultati soddisfacenti. Inoltre ricordiamo come i lavori al laboratorio abbiano interrotto il nostro lavoro proprio quando i miglioramenti si facevano più marcati, privandoci di più di 15 giorni di nuove esperienze.

Il nostro lavoro di fondo sul progetto è stato il vero successo di quest'anno, poiché abbiamo approfondito tutti gli aspetti che lo riguardavano con rigore e giustificando ogni fase del progetto. Siamo sicuri, dunque, che il nostro lavoro sarà un punto di partenza irrinunciabile per il gruppo che terminerà il progetto l'anno seguente. Ciò che resta da fare dunque nasce spontaneamente da quanto detto in questo documento:

- Condurre dei nuovi esperimenti sulla bio- filtrazione che confermino ciò che è stato ritrovato nella letteratura scientifica
- Stendere i manuali per la costruzione del filtro e quello per la formazione degli abitanti
- Coordinare l'installazione del filtro nell'estate 2012

Il progetto è stato premiato alla fine dell'anno scolastico come secondo miglior progetto dell'anno tra tutti quelli a carattere innovante per i quali gli alunni dell'Ecole Centrale Paris hanno lavorato. Tale riconoscimento si è basato sulla pertinenza delle soluzioni proposte e per il lavoro di base a 360° sul progetto che, pur non essendo rivoluzionario, ha toccato aspetti tecnici, scientifici, sociali e organizzativi.

RINGRAZIAMENTI

Tengo a ringraziare il professor Gabriele Scaltriti per la sua disponibilità e i suoi consigli.

Un pensiero va alla professoressa Estelle Couallier che ha seguito il progetto per tutta la sua durata.

Vorrei anche ringraziare i membri del gruppo di lavoro, senza i quali quest'elaborato non sarebbe stato possibile: Paul Ghorra, Gaelle Gosselin, Fah Yik Yong, Dou Nan, Florent Boinsault e Lucie Avril.

Un sincero apprezzamento va senza dubbio a M. Cyril Breton per i suoi consigli, e a Mme Saintigny per la sua gentilezza, oltre che agli altri tecnici del laboratorio LGPM dell'École Centrale Paris.

Grazie anche all'associazione Kampuchea Sourya dell'École Centrale Paris per la sua cooperazione.

Non si dimentichi poi il sostegno di Caritas e Secours Catholique France.

ALLEGATO 1: PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Per misurare la concentrazione di batteri è necessario stenderne una quantità sul terreno di coltura che ne favorisca la crescita e portarli a condizioni di temperatura adatte. È per questo necessario avere a disposizione delle capsule di Petri dove contenere il terreno di coltura e per ogni esperienza confrontare le concentrazioni in ingresso e uscita a diversi ordini di grandezza attorno a quello che si crede essere adatto per descrivere la quantità di batteri presenti nell'acqua in analisi. Essendo la concentrazione del campione direttamente prelevato troppo elevata, si ricorre alla diluizione di quest'ultimo nelle varie provette di acqua fisiologica. Un'ulteriore diluizione avviene alla stesura della soluzione nella scatola di Petri, poiché si ricorre a 0,1 ml/ scatola quando la quantità di soluzione madre per ogni provetta è di 1 ml.

PRIMA DELL'ESPERIMENTO

Prima dell'esperimento (da uno a 3 giorni prima al massimo per mantenere la sterilità) era necessario preparare il materiale. Esso è composto da :

- Provette di acqua fisiologica (4 per ogni campione che si vuole testare)
- Punte per le pipette, di cui per ogni campione:
 - o 4 di capacità 1mL per riempire le provette
 - o 3 di capacità 0,1mL per stendere le soluzioni sulle scatole Petri
- Un flacone in vetro da circa 250mL per permettere il prelievo del campione
- Capsule di Petri : 3 per ogni campione

Spesso la scatola delle punte delle pipette non è ermetica quindi per passare all'autoclave tali oggetti e per poi evitare un contagio troppo rapido con l'ambiente esterno è stato scelto di racchiudere la scatola nel foglio d'alluminio.

Generalmente le capsule (o scatole) di Petri possono essere preparate in anticipo per più esperienze perché quelle utilizzate presentano una chiusura senza passaggio d'aria con l'esterno, che garantisce una vita sterile più lunga. Tutto ciò che non è stato utilizzato entro i 3 giorni dal passaggio in autoclave dev'essere sterilizzato di nuovo.

L'ACQUA FISIOLÓGICA

Questa soluzione è quella in cui ci è diluita più volte l'acqua del campione in modo da ridurre la concentrazione di batteri per poi contarli più facilmente.

Per realizzarla è stato riempito un flacone d'acqua distillata e in esso è stata diluita la quantità di NaCl necessaria per ottenere una soluzione alla concentrazione di 9 g / L. Una volta mescolata con l'agitatore magnetico, sono state riempite le provette (come già accennato ce n'era bisogno di 4 per ogni campione,

dunque in ogni esperimento di 8: un set per l'acqua in ingresso e uno per quella in uscita) con 9 ml di soluzione, in modo tale che con l'aggiunta di 1 ml dell'acqua campione, ogni provetta contenga 10 ml.

LE CAPSULE DI PETRI

Il tipo di terreno di coltura da mettere nelle capsule di Petri dipende dal tipo di batteri che si vogliono mettere in evidenza. Nel nostro caso, abbiamo scelto di utilizzare il "BBL Agar Endo", che fa crescere solo i batteri gram positivo, tra cui i batteri coliformi come E. Coli, Pseudomonas, Vibro Cholerae. In particolare è facile riconoscere le colonie di E. Coli, che si presentano di un colore giallino e di una brillantezza metallica su questo tipo di ambiente.

Per preparare le capsule, è necessario diluire la giusta concentrazione di Endo Agar (disponibile come terreno di coltura liofilizzato) in acqua distillata (41,5 g / L di acqua distillata). 200 ml di soluzione bastano per circa 10 capsule di Petri. Visto che si possono conservare anche per due-tre esperienze, ad ogni sessione di preparazione circa 25 scatole erano riempite del terreno di coltura.

Prima di essere steso sulle capsule, la soluzione dev'essere ben mescolata e sterilizzata in autoclave. Ancora calda dev'essere stesa sulle scatole in ambiente sterile, per esempio in prossimità di una fiamma di Propano. Ovviamente va segnata la data di preparazione delle scatole, per evitare che siano conservate al di là del periodo sterile. La buona conservazione avviene in frigorifero.

IL GIORNO DELL'ESPERIMENTO

PRELEVAMENTO DEI CAMPIONI

Per mantenere in vita il film biologico era necessario fornire nuova acqua al filtro ogni 3 giorni al massimo. Abbiamo approfittato di questa necessità per effettuare dei campionamenti con regolarità e di conseguenza abbiamo legato ad ognuno di essi una misura per l'acqua in ingresso e una per quella in uscita. L'operazione consisteva nel rimuovere il coperchio del filtro e aggiungere circa 20 litri di acqua della Bièvre. Si prelevava una parte dell'acqua in ingresso in un flacone precedentemente sterilizzato, il tutto accanto a un becco Bunsen, per essere sicuri di non contaminare il campione. Nel caso del nostro filtro come misura di sicurezza era stato installato un rubinetto in uscita, che ci permetteva di regolare la portata d'acqua uscente. Si lascia dunque scorrere l'acqua a circa 0,5 l/min fino a che rimangono 4-5 cm di acqua sopra la sabbia, in modo tale da essere sicuri che l'acqua prelevata in uscita fosse quella introdotta in ingresso e trattata al momento, non dell'altra acqua che era ristagnata nel corpo del filtro. Dal tubo in uscita si prelevava un secondo campione, sempre vicino alla fiamma. Per evitare che i batteri nel filtro contaminino l'ambiente del laboratorio e viceversa per evitare che particelle estranee si depositino sul filtro bisogna sempre chiudere il coperchio finita l'esperienza.

Bisogna fare attenzione a pulire a fondo tutto ciò che è stato macchiato dall'acqua dell'esperimento, che contiene concentrazioni molto elevate di batteri (banco di lavoro, tubo per l'aggiunta dell'acqua, tubo d'uscita...). Per questo si usa candeggina diluita, ma è essenziale sciacquare con acqua distillata le parti che saranno in contatto di nuovo con l'acqua (tubo per l'ingresso e per l'uscita) in modo che la candeggina non uccida i batteri durante la prossima esperienza.

È necessario eliminare i rifiuti contaminati con l'acqua in un sacchetto marcato "Biohazard" prima di mettere in autoclave.

DILUIZIONE DEI CAMPIONI

Per la fase di diluizione abbiamo lavorato in ambiente sterile in prossimità della fiamma e sotto la cappa da laboratorio. Per la diluizione in quanto tale erano necessari i campioni, le provette di acqua fisiologica e le punte da 1 ml, ma qui di seguito si parlerà anche della distribuzione della soluzione sul terreno di coltura, per la quale sono necessari anche le capsule di Petri, le punte da 0,1 ml e degli strumenti per omogeneizzare la soluzione sulla superficie del terreno di coltura.

Grazie a una pipetta sulla quale si è installata la punta più grande si preleva 1ml dell'acqua campionata in ingresso e la si mette in una prima provetta d'acqua fisiologica. Grazie a ciò si ha una prima diluizione della concentrazione di batteri a un decimo della concentrazione reale. Si mescola la soluzione in provetta eventualmente con l'aiuto di un miscelatore elettrico. Si getta in un cestino apposito la punta usata e se ne prende una nuova per prelevare 1ml dalla prima provetta e lo si diluisce nella seconda. Si continua l'operazione fino ad aver diluito il campione in tutt'e quattro le provette previste.

Per stendere sulle capsule di Petri si prelevano 0,1mL da ogni provetta mediante la punta più piccola e si iniettano sulla capsula, per poi stenderla con un micro-rastrello o una pipetta Pasteur opportunamente piegata. Ciò implica dunque una diluizione ulteriore di un ordine di grandezza per ogni provetta. Si ottengono così delle capsule di Petri in cui la concentrazione iniziale è ridotta di un fattore 10^3 , 10^4 e 10^5 . Ovviamente per ogni diluizione a partire da una diversa provetta si cambia la punta della pipetta e quella usata va gettata in un cestino speciale per i rifiuti "Biohazard".

Le due manipolazioni precedenti valgono tanto per il campione prelevato in ingresso dal filtro che per quello che si trova in uscita.

Le capsule di Petri sono quindi messe in un forno a 34°C per favorire lo sviluppo dei batteri. Ci vogliono dalle 24 alle 48 ore affinché i batteri si sviluppino abbastanza per essere visibili. Il conteggio visivo avviene dunque 2 giorni dopo l'esperienza. Per il livello di dettaglio richiesto dagli esperimenti non è sembrato necessario approfondire il conteggio con altre tecniche.

OSSERVAZIONI E CRITICHE SUL PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Come visto le diluizioni affrontate partono da una riduzione di 10^3 della concentrazione originaria. Effettivamente durante le esperienze è risultata a volte eccessiva la diluizione di 5 ordini di grandezza, si sarebbe potuto privilegiare piuttosto una diluizione minore, come 10^2 , grazie alla quale si sarebbe potuto apprezzare più significativamente la riduzione del numero di batteri tra ingresso e uscita qualora esso fosse stato molto consistente. Sebbene infatti ci si possa aspettare anche il numero di batteri da contare per il campione in ingresso potrebbe essere troppo elevato, ci si auspicava di notare un cambiamento tra ingresso e uscita che a concentrazione più elevata sarebbe stato ancor più evidente.

Un altro punto sul quale essere vigilanti è il contagio: l'efficacia del filtro non sarebbe stata messa in discussione per un errore nel contagio di uno o due colonie, ma una distribuzione non omogenea sulla gelosa o delle contaminazioni involontarie hanno reso a volte il conteggio molto difficile.

ALLEGATO 2: DETTAGLI DEI RISULTATI DEGLI ESPERIMENTI

Il filtro è stato preparato e nutrito del terreno di coltura il 1 marzo 2011, successivamente dell'acqua della Bièvre è stata versata al suo interno regolarmente e le esperienze sono iniziate tre settimane dopo, per verificare se lo strato biologico si fosse sviluppato o meno.

Nel seguito si indicheranno i campioni col nome ingresso o uscita in base che siano stati presi dall'acqua introdotta nel filtro o dopo il trattamento e con l'ordine di grandezza della diluizione, quindi per esempio Ingresso 10^{-3} significa che il valore relativo dev'essere moltiplicato per 10^3 per dare l'effettiva concentrazione in CFU/ml.

Nelle tabelle seguenti sono evidenziati in rosso i valori aberranti, che non rispettano gli ordini di grandezza delle diluizioni. Si ricorda infatti che all'interno dello stesso campione le diluizioni dovrebbero differenziarsi per un fattore dieci.

In verde invece sono segnalati i valori che con una piccola correzione (+ o - 2 batteri rispetto a quelli contati) sarebbero coerenti con gli altri dati. Tra parentesi si indica un possibile valore corretto. È infatti possibile che degli elementi contaminanti abbiano alterato leggermente il conteggio.

Ecco i primi risultati ottenuti:

22 Marzo			
Ingresso 10-3	26	Uscita 10-3	Troppi (non contabili)
Ingresso 10-4	62	Uscita 10-4	57
Ingresso 10-5	9 (5-7)	Uscita 10-5	14

Osservazioni : i risultati non sono molto concludenti. Gli ordini di grandezza tra le diluizioni sono mal rispettati e inoltre i batteri in uscita non sono minori che in ingresso.

Interpretazione: lo strato biologico non si è ancora formato e dei batteri contenuti nel terreno di coltura aggiunto nel filtro contaminano l'acqua che si vorrebbe filtrare.

27 Marzo			
Ingresso 10-3	50	Uscita 10-3	Troppi (non contabili)
Ingresso 10-4	11	Uscita 10-4	38
Ingresso 10-5	4 (max 2)	Uscita 10-5	7 (3-5)

Osservazioni : identiche. Non si notano miglioramenti apprezzabili.

Queste prime due esperienze sono state condotte su un terreno di coltura generico, non selettivo alla crescita dei batteri gram positivo come sono i batteri del tratto intestinale.

A partire dall'esperienza successiva il terreno di coltura delle capsule di Petri è il BBL Endo Agar di cui si è discusso sopra, che è decisamente più adatto al tipo di esperimento che si conduce.

29 Marzo

Ingresso 10-3	60	Uscita 10-3	Troppi (non contabili)
Ingresso 10-4	2 (3-5)	Uscita 10-4	17
Ingresso 10-5	2 (1??)	Uscita 10-5	5 (2-3)

Osservazioni: l'esperienza è condotta ad appena 2 giorni di distanza dalla precedente : il biofilm non si è ancora formato

1 Aprile

Ingresso 10-3	22	Uscita 10-3	70
Ingresso 10-4	4 (2-3)	Uscita 10-4	15
Ingresso 10-5	2 (1 ??)	Uscita 10-5	1

Osservazioni : il filtro non è ancora efficace ma si registra una coerenza maggiore tra gli ordini di grandezza delle diluizioni dei campioni

7 Aprile

Ingresso 10-3	13	Uscita 10-3	18
Ingresso 10-4	12	Uscita 10-4	10
Ingresso 10-5	2	Uscita 10-5	4 (1-2)

Osservazioni: Eccezion fatta per i valori a concentrazione maggiore, i risultati sono coerenti e il filtro non dimostra più un impatto negativo sulla purificazione batterica dell'acqua. È palese però che non si registrano nemmeno risultati positivi del trattamento.

Visto che i risultati cominciavano ad essere positivi ci siamo adoperati per assicurare che le manipolazioni avvenissero in maniera da evitare il più possibile le contaminazioni. L'osservanza del protocollo sperimentale è stata irrigidita e ci ha permesso inoltre di evidenziare la presenza degli E. Coli.

3 maggio

	Batteri totali	E. Coli		Batteri totali	E. Coli
Ingresso 10-3	Non contabili	tutti	Uscita 10-3	16	10
Ingresso 10-4	31	1	Uscita 10-4	16	0
Ingresso 10-5	3	0	Uscita 10-5	0	0

Osservazioni: I risultati sono già molto più soddisfacenti, la quantità di batteri in uscita è diminuita, gli ordini di grandezza sono rispettati in ingresso e a meno di un valore anche in uscita. L'effetto positivo del filtro si estende anche agli E. Coli, che si riducono per esempio da più di 100* 10³ CFU/ml a una decina. Non si può essere totalmente soddisfatti del trattamento, perché si tratta della prima esperienza totalmente positiva, ma almeno si nota bene l'effetto dello strato biologico.

5 maggio

	Batteri totali	E. Coli		Batteri totali	E. Coli
Ingresso 10-3	38	1	Uscita 10-3	8	1
Ingresso 10-4	3	0	Uscita 10-4	3 (1)	0
Ingresso 10-5	0	0	Uscita 10-5	0	0

Osservazioni: Anche questi risultati sono mediamente soddisfacenti, anche se non si nota così tanto l'effetto del filtro perché le concentrazioni in ingresso sono più basse. Il filtro si dimostra funzionante, in quanto si registra una riduzione della quantità di batteri tra ingresso e uscita, anche se gli ordini di grandezza non permettono di apprezzare l'effetto sugli E. Coli.

Il 7 maggio è stata condotta un'esperienza sul sistema completo ovvero l'acqua in uscita del filtro è stata recuperata in una bottiglia di plastica precedentemente sterilizzata con del cloro e poi sciacquata con acqua distillata. Questa bottiglia è poi stata esposta al sole per 6 ore, proprio come previsto dal nostro nuovo ciclo di approvvigionamento dell'acqua per la Cambogia. I risultati sono stati sorprendenti, perché non si registrava alcuna traccia di batteri in nessuna capsula di Petri in uscita dalla bottiglia né dal filtro. Se per il campione in uscita dalla bottiglia ci si potrebbe augurare che questa riduzione è legata all'ottima efficacia del trattamento solare, altrettanto non si può dire per l'acqua in uscita dal filtro. Per trarre conclusioni più dettagliate si sarebbe dovuta affrontare una diluizione di meno, che avrebbe permesso di attribuire questi risultati eccezionali al filtro o ad un errore nelle manipolazioni. Purtroppo la settimana seguente sarebbero iniziati dei lavori nel laboratorio dov'era il nostro filtro e quindi questi sono gli ultimi dati disponibili, positivi sì ma non abbastanza per risultare concludenti.

BIBLIOGRAFIA

1. **Fund, International Monetary.** World economic outlook database. . [Online] 2009. [Riportato: 06 10 2010.]
2. **Cambodia, National Institute of Statistics of.** *Cambodia Inter-Censal Population survey.* 2004.
3. *Official Summary of the State of World's Children.* **UNICEF.** 2004, United Nations Children's Fund.
4. **UNESCO.** *Facts and Figures, Water and Health.* 2003.
5. *Assessment of the chemical quality of drinking water in Cambodia.* **Peter R.Feldman, Jan-Willem Rosenboom, Mao Saray, Peng Navuth, Chea Samnang, Steven Iddings.** s.l. : J, 2007, Journal of Water and Health.
6. **Trailblazer Cambodia Organization.** *Monitoring Report : Bio-Sand Water Filter.* 2009.
7. **www.une-eau-pure.com.** *Filtration et Filtre à sable.* 2009.
8. **College, Mountain Empire Community.** Water/Wastewater Distance Learning Website. [Online] [Riportato: 12 Maggio 2011.] <http://water.me.vccs.edu/concepts/filters.html>.
9. **Centre for Affordable Water and Sanitation Technology.** *Manuel du filtre biosable : conception, construction, installation, fonctionnement et entretien.* 2010.
10. **Centre International de l'eau et de l'assainissement.** *La filtration lente sur sable pour l'approvisionnement en eau potable.* 1991.
11. **The Trailblazer Foundation.** *Monitoring Report:Bio-Sand Water Filter.* Aout 2009.
12. *Solar disinfection (SODIS): simulation of solar radiation for global assessment and application for point-of-use water treatment in Haiti.* **Oates, P M, Shanahan, P e Polz, M F.** 2003, Water Research 37, p. 47-54.
13. *The potential of solar water disinfection as a household water treatment method in peri-urban Zimbabwe.* **Murinda, S et Kraemer, S.** 2008, Physics and Chemistry of the Earth vol 33, pp. 829-832.
14. *Solar Water Disinfection: Scope of the Process and Analysis of Radiation Experiments.* **Wegelin, M, et al., et al.** 1994, Aqua vol 43, p. 154-169.
15. *Efficacy of solar disinfection of Escherichia coli, Shigella flexneri, Salmonella Typhimurium and Vibrio cholerae.* **Berney, M, et al., et al.** 2006, Journal of Applied Microbiology, pp. 828–836.

16. *Solar disinfection of drinking water contained in transparent plastic bottles: characterizing the bacterial inactivation.* **McGuigan, K G, et al., et al.** 1998, Journal of Applied Microbiology, 84, p. 1138–1148.
17. *Estimation of solar radiation over Cambodia from long-term satellite data.* **Janjai, S, et al., et al.** 2010, Renewable Energy, p. 1-7.
18. *SODIS - an emerging water treatment process.* **Sommer, B, et al., et al.** 1997, J Water SRT- Aqua Vol 46, No 3, p. 127-137.
19. **Lenntech.** Disinfezione dell'acqua: Cloro. [Online] [Riportato: 12 Maggio 2011.] <http://www.lenntech.it/disinfezione-acqua/disinfettanti-cloro.htm>.
20. *Solar disinfection of water for diarrhoeal prevention in southern India.* **Rose, Roy, Abraham, Holmgren.** 2006, Archive Diseases Childhood, p. 139-141.
21. **Perera, Ranjith.** *use of appropriate and affordable technology for water quality improvement in a community managed water supply demonstration in Phnom Penh, Cambodia.*
22. *Household drinking water in developing countries : a systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use.* **Jim Right, Stephen Gundry, Ronan Conroy.** 2004, Tropical medicine and International Health, p. 106-117.
23. *Inactivation of Fecal Bacteria in Drinking Water by Solar Heating.* **Joyce, T M, et al., et al.** 1996, Applied and environmental microbiology, pp. 399-402.
24. *Chlorine Inactivation of Escherichia coli O157:H7. .* **Eugene W. Rice, Robert M. Clark.** May-June 1999, Emerging Infectious Diseases, p. Vol 5, No. 3.
25. **CNRS.** Centre national de la recherche scientifique. *centre national de la recherche scientifique.* [En ligne] [Citation : 30 11 2010.] <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/potable/dureDouc.html>.
26. Fondation de l'eau potable sûre. *www.safewater.org.* [Online] [Riportato: 30 11 2010.] <http://www.safewater.org/PDFS/knowthefacts/frenchfactsheets/Chloration.pdf>.
27. *Effect of Turbidity on Chlorination Efficiency and Bacterial Persistence in Drinking Water.* **Lechevallier, Mark W.** Juillet 1981, Applied And Environmental Microbiology, pp. 159-167.
28. *Efficiency of Chlorine Dioxide as a Bactericide.* **Bernarde e Melain, A.** Sept 1965, APPLIED MICROBIOLOGY, p. Vol. 13, No. 5.
29. **Perera, Ranjith.** *use of appropriate and affordable technology for water quality improvement in a community managed water supply demonstration in Phnom Penh, Cambodia.*

30. *Efficacy of solar disinfection of Escherichia coli, Shigella flexneri, Salmonella Typhimurium and Vibrio cholerae.* **Berney, M, et al., et al.** 2006, Journal of Applied Microbiology, p. 828–836.
31. **www.une-eau-pure.com.** *Filtration et Filtre à sable.* 2009.
32. **Centre for Affordable Water Sanitation and Technology.** *Manuel du filtre biosable.* mai 2010.
33. fondation de l'eau potable sûre. *www.safewater.org.* [Online] [Riportato: 30 11 2010.]
<http://www.safewater.org/PDFS/knowthefacts/frenchfactsheets/Chloration.pdf>.
34. *Effect of Turbidity on Chlorination Efficiency and Bacterial Persistence in Drinking Water.* **LECHEVALLIER, MARK W.** July 1981, Applied And Environmental Microbiology, p. 159-167.
35. *Efficiency of Chlorine Dioxide as a Bactericide.* **BENARDE, MELAIN A.** Sept 1965, APPLIED MICROBIOLOGY, p. Vol. 13, No. 5.
36. centre national de la recherche scientifique. *centre national de la recherche scientifique.* [En ligne]
<http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/potable/dureDouc.html>.