



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Dpto. de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente

Evaluación de la eficiencia de los humedales artificiales de Carrícola (Valencia) y Urbanización "Los Monasterios" (Puçol, Valencia) para reducir la concentración de microplásticos en las aguas residuales urbanas.

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente

AUTOR/A: Calzadilla Cabrera, Darío

Tutor/a: Hernández Crespo, Carmen

Cotutor/a: Martín Monerris, Miguel

Cotutor/a externo: OLIVER RAJADEL, NURIA

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022

Trabajo Fin de Master

**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LOS
HUMEDALES ARTIFICIALES DE CARRÍCOLA
(VALENCIA) Y URBANIZACIÓN “LOS
MONASTERIOS” (PUÇOL, VALENCIA) PARA
REDUCIR LA CONCENTRACIÓN DE
MICROPLÁSTICOS EN LAS AGUAS
RESIDUALES URBANAS**

Intensificación: **TRATAMIENTO DE AGUAS**

Autor: **DARÍO CALZADILLA CABRERA**

Tutor: **DRA. CARMEN HERNÁNDEZ CRESPO**

Cotutor: **DR. MIGUEL MARTÍN MONERRIS**

Cotutor externo: **DRA. NURIA OLIVER RAJADEL**

SEPTIEMBRE, 2022



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

máster en ingeniería
hidráulica y medio ambiente
mihma

Resumen del Trabajo de Fin de Máster

Datos del proyecto

Título del TFM en español: Evaluación de la eficiencia de los humedales artificiales de Carrícola (Valencia) y Urbanización "Los Monasterios" (Puçol, Valencia) para reducir la concentración de microplásticos en las aguas residuales urbanas.

Título del TFM en inglés: Evaluation of the efficiency of the constructed wetlands of Carrícola (Valencia) and "Los Monasterios" Urbanization (Puçol, Valencia) to reduce the concentration of microplastics in urban wastewater.

Título del TFM en valenciano: Avaluació de l'eficiència dels aiguamolls artificials de Carrícola (València) i Urbanització "Els Monestirs" (Puçol, València) per reduir la concentració de microplàstics a les aigües residuals urbanes.

Alumno: DARÍO CALZADILLA CABRERA

Tutor: DRA. CARMEN HERNÁNDEZ CRESPO

Cotutor/es:

DR. MIGUEL MARTÍN MONERRIS

DRA. NURIA OLIVER RAJADEL

Fecha de Lectura: SEPTIEMBRE, 2022

Resumen

Los microplásticos (MPs) son pequeños fragmentos de plástico menores de 5 mm. Se suelen clasificar en primarios, aquéllos que son originalmente producidos a ese tamaño como por ejemplo los utilizados en cosméticos, y secundarios, que son aquéllos que se forman por degradación o fragmentación de plásticos de mayor tamaño. En los últimos años, su presencia en las diversas matrices ambientales (aguas superficiales, suelos, mares y océanos, aire...) ha crecido de tal manera que actualmente son considerados un problema de contaminación de máxima gravedad. Han sido encontrados en lugares tan remotos como el ártico, donde impactan muy negativamente reduciendo el albedo de la superficie, contribuyendo así a acelerar el derretimiento del hielo. También en la miel producida por las abejas, las cuales actúan como transportadoras de MPs presentes en el aire, ya que éstos se adhieren a sus cuerpos.

Una de las principales fuentes de emisión de MPs son las aguas residuales, debido a su presencia en distintos productos de cuidado personal (cosméticos, exfoliantes, dentífricos, etc) y al desgaste de numerosos artículos hechos de plástico, comúnmente empleados en los hogares (utensilios de cocina, ropa, etc), así como de las propias tuberías de desagüe. Hasta el momento, se han realizado numerosos estudios sobre el comportamiento de los MPs en Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs), en general centrados en EDARs de grandes poblaciones. Se ha observado que la eficiencia de depuración es generalmente alta, alcanzándose valores en torno al 90% o superior. Una parte importante de los MPs quedan retenidos en el pretratamiento y en el tratamiento primario, y posteriormente también quedan adheridos a los fangos del reactor biológico. Ello implica que posteriormente, cuando los fangos son tratados y finalmente aplicados en suelos agrícolas,

los MPs inicialmente retirados del agua residual, terminan pasando al suelo y de éste, potencialmente a las aguas superficiales.

Los estudios centrados en evaluar el potencial de los humedales artificiales para retirar MPs de las aguas residuales son más escasos. Una diferencia que caracteriza a los humedales artificiales, respecto a otros sistemas más convencionales, es el largo tiempo de residencia de las partículas sólidas que son retenidas en su interior, entre ellas los MPs. Es por ello, que en los humedales artificiales existe una mayor probabilidad de que los MPs puedan ser degradados biológicamente en mayor medida que en otros sistemas, suponiendo así una eliminación real de éstos.

Se realizó el estudio en dos EDARs que emplean la tecnología de los humedales artificiales (HA) para la depuración de las aguas, ambas en dos poblaciones muy distintas. Una fue la EDAR de Carrícola, situada en un pueblo cuya principal uso del suelo es agrícola y que cuenta con 113 habitantes, la otra EDAR pertenece a la Urbanización Los Monasterios, un conjunto de viviendas formada por unos 1500 habitantes y con un estilo de vida más moderno y ostentoso, con el objetivo de detectar posibles estándares de comportamiento. De cada uno de ellas, se tomaron muestras de agua residual de distintos puntos de la planta de tratamiento y se clasificaron los sedimentos recogidos por tamaño. Siguiendo así, una metodología de trabajo para la obtención de MPs en las muestras similar a la de otros estudios ya realizados con finalidades semejantes.

Posteriormente, los MPs encontrados se clasificaron además por forma. Así, se evaluó el contenido de MPs tanto en agua como en fango de gravas y raíces, y del mismo modo, la eficiencia de remoción de ambas EDARs y posibles signos de degradación de los MPs al paso por las mismas.

Finalmente, se obtuvieron valores superiores al 95% en las eficiencias de eliminación, además de identificar ciertos patrones de los MPs a través de los HA, como por ejemplo, que estos iban reduciendo su tamaño a medida que avanzaban por los humedales, o que los MPs mostraban símbolos de degradación tras cruzar los HA, lo cual puede significar un refuerzo positivo en cuanto a su potencial para favorecer la descomposición de los plásticos que llegan al medio natural. Además, se observó una intervención positiva en el desempeño de las raíces para captar mayor cantidad de MPs, tanto en HA construidos como introduciendo macrófitas en flotación en el biorreactor.

Resum

Els microplàstics (MPs) són petits fragments de plàstic menors de 5 mm. Se solen classificar en primaris, aquells que són originalment produïts a aquesta mida com per exemple els utilitzats en cosmètics, i secundaris, que són aquells que es formen per degradació o fragmentació de plàstics més grans. En els darrers anys, la seva presència a les diverses matrius ambientals (aigües superficials, sòls, mars i oceans, aire...) ha crescut de tal manera que actualment són considerats un problema de contaminació de màxima gravetat. Han estat trobats en llocs tan remots com l'àrtic, on impacten molt negativament reduint l'albedo de la superfície, contribuint així a accelerar la fosa del gel. També a la mel produïda per les abelles, les quals actuen com a transportadores de MPs presents a l'aire, ja que aquests s'adhereixen als seus cossos.

Una de les principals fonts d'emissió de MPs són les aigües residuals, a causa de la seva presència en diferents productes de cura personal (cosmètics, exfoliants, dentífrics, etc) i al desgast de nombrosos articles fets de plàstic, comunament emprats són les llars (utensilis de cuina, roba, etc), així com de les pròpies canonades de desguàs. Fins ara, s'han realitzat nombrosos estudis sobre el comportament dels MPs a Estacions Depuradores d'Aigües

Residuals (EDARs), en general centrats en EDARs de grans poblacions. S'ha observat que l'eficiència de depuració és generalment alta i s'assoleixen valors al voltant del 90% o superior. Una part important dels MPs queden retinguts al pretractament i al tractament primari, i posteriorment també queden adherits als fangs del reactor biològic. Això implica que posteriorment, quan els fangs són tractats i finalment aplicats a sòls agrícoles, els MPs inicialment retirats de l'aigua residual, acaben passant a terra i d'aquest, potencialment a les aigües superficials.

Els estudis centrats a avaluar el potencial dels aiguamolls artificials per retirar MPs de les aigües residuals són més escassos. Una diferència que caracteritza els aiguamolls artificials, respecte a altres sistemes més convencionals, és el llarg temps de residència de les partícules sòlides que són retingudes al seu interior, entre elles els MPs. És per això que en els aiguamolls artificials hi ha una probabilitat més gran que els MPs puguin ser degradats biològicament en major mesura que en altres sistemes, suposant així una eliminació real d'aquests.

Es va realitzar l'estudi en dues EDARs que empen la tecnologia de les zones aiguamolls artificials (HA) per a la depuració de les aigües, totes dues en dues poblacions molt diferents. Una va ser l'EDAR de Carrícola, situada en un poble la principal ús del sòl del qual és agrícola i que compta amb 113 habitants, l'altra EDAR pertany a la Urbanització Los Monasterios, un conjunt d'habitatges format per uns 1500 habitants i amb un estil de vida més modern, amb l'objectiu de detectar possibles estàndards de comportament. De cadascuna, es van prendre mostres d'aigua residual de diferents punts de la planta de tractament i es van classificar els sediments recollits per mida. Seguint així, una metodologia de treball per a l'obtenció de MPs a les mostres similar a la d'altres estudis ja realitzats amb finalitats semblants.

Posteriorment, els MPs trobats es van classificar a més per forma. Així, es va avaluar el contingut de MPs tant en aigua com en fang de graves i arrels, i de la mateixa manera, l'eficiència de remoció de les dues EDARs i possibles signes de degradació dels MPs al pas per aquestes.

Finalment, es van obtenir valors superiors al 95% en les eficiències d'eliminació, a més d'identificar certs patrons dels MP a través dels HA, com per exemple, que aquests anaven reduint la seva mida a mesura que avançaven pels aiguamolls, o que els MPs mostraven símbols de degradació després de creuar els HA, la qual cosa pot significar un reforç positiu pel que fa al seu potencial per afavorir la descomposició dels plàstics que arriben al medi natural. A més, es va observar una intervenció positiva en l'exercici de les arrels per captar major quantitat de MPs, tant en HA com introduint macròfites en flotació al bioreactor.

Abstract

Microplastics (MPs) are small pieces of plastic smaller than 5 mm. They are usually classified into primary, those that are originally produced at that size, such as those used in cosmetics, and secondary, which are those that are formed by degradation or fragmentation of larger plastics. In recent years, their presence in various environmental matrices (surface water, soil, seas and oceans, air...) has grown to such an extent that they are currently considered a highly serious pollution problem. They have been found in places as remote as the arctic,

where they have a very negative impact by reducing the albedo of the surface, thus helping to accelerate the melting of the ice. Also in the honey produced by bees, which act as transporters of MPs present in the air, since they adhere to their bodies.

One of the main sources of MPs emissions are wastewater, due to its presence in different personal care products (cosmetics, scrubs, toothpastes, etc.) and the tear of numerous articles made of plastic, commonly used in homes (kitchen utensils, clothes, etc), as well as the drainage pipes themselves. To date, numerous studies have been carried out on the behavior of MPs in Wastewater Treatment Plants (WWTPs), generally focused on WWTPs with large populations. It has been observed that the purification efficiency is generally high, reaching values around 90% or higher. An important part of the MPs are retained in the pretreatment and in the primary treatment, and later they are also adhered to the biological reactor sludge. This implies that later, when the sludge is treated and finally applied to agricultural soils, the MPs initially removed from the wastewater end up passing into the soil and from it, potentially into surface water.

Studies focused on evaluating the potential of artificial wetlands to remove MPs from wastewater are scarcer. One difference that characterizes artificial wetlands, compared to other more conventional systems, is the long residence time of the solid particles that are retained inside, including MPs. For this reason, in artificial wetlands there is a greater probability that MPs can be biologically degraded to a greater extent than in other systems, thus assuming a real elimination of these.

The study was carried out in two WWTPs that use the technology of constructed wetlands (CW) for water purification, both in two very different populations. One was the WWTP of Carrícola, located in a village whose main land use is agricultural and which has 113 inhabitants, the other WWTP belongs to the Los Monasterios Urbanization, a group of houses made up of some 1,500 inhabitants and with a more modern lifestyle, with the aim of detecting possible behavior standards. From each of them, wastewater samples were taken from different points of the treatment plant and the collected sediments were classified by size. Following this, a work methodology for obtaining MPs in the samples similar to that of other studies already carried out with similar purposes.

Subsequently, the MPs found were further classified by form. Accordingly, the content of MPs was evaluated both in water and in mud from gravel and roots, and in the same way, the removal efficiency of both WWTPs and possible signs of degradation of the MPs when passing through them.

Finally, values higher than 95% in removal efficiencies were obtained, in addition to identifying certain patterns of MPs through CW, such as, for example, that these were reducing their size as they moved through the wetlands, or that the MPs showed degradation symbols after crossing the CW, which may mean a positive reinforcement in terms of their potential to promote the decomposition of plastics that reach the natural environment. In addition, a positive intervention was observed in the performance of the roots to capture a greater amount of MPs, both in CW and by introducing floating macrophytes in the bioreactor.



Palabras clave español (máximo 5): Humedal artificial, microplásticos, aguas residuales, tratamiento de aguas.

Palabras clave valenciano (máximo 5): Aiguamoll artificial, microplàstics, aigües residuals, tractament d'aigües.

Palabras clave inglés (máximo 5): Constructed wetland, microplastics, wastewater, water treatment.

Índice

1	Introducción.....	7
1.1	Características, producción y aplicaciones de los plásticos.	7
1.2	Microplásticos	8
1.2.1	Definición y problemática	8
1.2.2	Fuentes de emisión de microplásticos.....	8
1.2.3	Los microplásticos en las aguas residuales.....	9
1.3	Humedales artificiales.....	10
1.3.1	Fundamentos y tipologías.	10
1.3.2	Humedales artificiales frente a la contaminación por microplásticos.....	11
2	Objetivos.....	13
3	Áreas de estudio.	14
3.1	EDAR de Carrícola.....	14
3.2	EDAR de Urbanización Los Monasterios.....	16
4	Materiales y métodos.....	19
4.1	Muestreo de agua.....	19
4.2	Muestreo de fango.....	22
5	Extracción de microplásticos de las muestras.	24
5.1	Extracción en muestras de agua.....	24
5.2	Extracción en muestras de fango.....	29
6	Contabilización de microplásticos y caracterización.....	31
7	Garantía de calidad y prevención de la contaminación.	33
8	Resultados y discusión.....	35
8.1	Muestras de agua.....	35
8.1.1	Concentraciones.....	35
8.1.2	Eficiencia de eliminación.....	39
8.1.3	Distribución por forma y tamaño.....	41
8.1.4	Relación entre microplásticos y sólidos suspendidos.....	47
8.1.5	Indicador de microplásticos per cápita.....	48
8.2	Muestras de fango.....	49
8.2.1	Carrícola.....	49
8.2.2	Monasterios.....	51
8.3	Degradación en los microplásticos.....	54
9	Resumen y conclusiones.....	57
10	Bibliografía.....	58

1 Introducción.

1.1 Características, producción y aplicaciones de los plásticos.

Los plásticos son materiales usualmente sintéticos, a partir de derivados químicos del petróleo. La producción de plástico ha presentado un gran número de ventajas para la humanidad, desde su descubrimiento y comienzos de producción industrial en los años 50, debido a su buena maleabilidad, durabilidad o su bajo coste (Andrady & Neal 2009). Es por estas razones por lo que millones de toneladas de plástico son producidas anualmente (Thompson et al., 2009), con un crecimiento exponencial desde hace décadas y con unas expectativas de futuro mucho más elevadas (Figura 1).

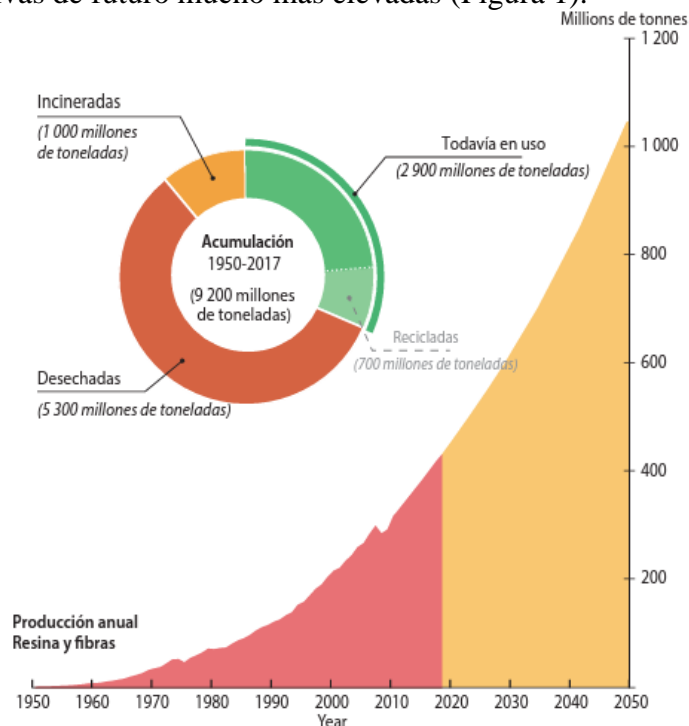


Figura 1. Producción mundial de plásticos, acumulación y tendencias futuras. Fuente: PNUMA (2021). From Pollution to Solution: A global assessment of marine litter and plastic pollution, adaptado de Jambeck et al. 2018; PlasticsEurope 2019; Geyer 2020.

En esa misma línea, entre los beneficios que aporta el plástico a la sociedad hay que añadir, lo revolucionario que ha sido para la industria como la alimentaria y médica debido a su seguridad sanitaria y sus cualidades higiénicas. Sin embargo, hoy en día se han convertido en un grave problema medioambiental, están catalogados como un problema contra la naturaleza desde hace décadas (Carpenter and Smith, 1972), así como un indicador de la huella antrópica y ha sido listado como contaminante de preocupación emergente (CEC) (Sarkar et al., 2020). Además, cabe destacar que la mala fama que obtiene en plástico desde las últimas décadas no viene causada por sus múltiples utilidades y versatilidad, más bien debido a su mala gestión, reutilización y reciclaje.

1.2 Microplásticos

1.2.1 Definición y problemática

Debido a ello, una gran cantidad de residuos plásticos se acumulan en la biosfera (terrestre y marítima) y estos pueden ser fragmentados en partículas de menor tamaño por la influencia de diferentes agentes (solar, viento, mecánicos, biológicos, o químicos) (Silva et al., 2018). Desafortunadamente la descomposición de los plásticos es extremadamente lenta por ser sustancias químicamente inertes y esto puede hacer que se acumulen en la naturaleza (Nguyen et al. 2019). Todas aquellas partículas plásticas menores de 5 mm son consideradas como microplásticos (MPs) y se clasifican como primarios, aquellos que son manufacturados directamente con ese tamaño (i.e. productos de higiene personal, pellets, etc.), o secundarios, aquellos que derivan de la descomposición o fragmentación de otro plástico de mayor tamaño (Bayo et al. 2016), como pueden ser las fibras de la ropa que salen de la lavadora, partículas de neumáticos de las carreteras (Ziajahromi et al. 2020), entre otros.

Una vez en el medio natural, los MPs además del peligro que suponen per se, pueden ser a su vez vectores de otras sustancias contaminantes como metales pesados (Sarkar et al., 2021), contaminantes orgánicos persistentes (POPs) u organismos patógenos entre otros, transportándolas grandes distancias, incluso a regiones en las que nunca se ha producido o utilizado, por ejemplo, se han encontrado MPs en los polos (Browne et al. 2011)). Al mismo tiempo, debido a su pequeño tamaño pueden ser ingeridos por peces, moluscos, insectos o aves, habiéndose detectado en más de 150 especies distintas (Jabeen et al., 2017) incluso en el interior de los seres humanos (Leslie et al., 2022), y de esta forma entrar en la cadena alimenticia, ocurriendo así un fenómeno de bioacumulación que se ve magnificado debido a su persistencia en el medio (Akhbarizadeh et al., 2019). Adicionalmente, ha salido a la luz que los MPs pueden causar daños directos en los organismos como: reducción de crecimiento, en la producción de biomasa y de la fotosíntesis en las plantas, cambios en la actividad de los microorganismos en medio natural así como en la simbiosis entre estos y las plantas, o en animales disminución de la capacidad reproductiva, así como daños en los intestinos o, lo que es más, la muerte por entre otros motivos una falsa sensación de llenado (Lu et al., 2016) (Wang et al., 2019) (Yang et al., 2020).

1.2.2 Fuentes de emisión de microplásticos.

Existen diversas fuentes de emisión de MPs que llegan al medio marino, su identificación y proveniencia constituyen un trabajo complejo. Se ha estimado que, un 80% del debris de plástico que llega a los ecosistemas acuáticos proviene de fuentes terrestres, siendo los contribuyentes mayoritarios las industrias y el suministro doméstico (Li et al., 2016). Por otra parte, del total que ingresa en los océanos, se estima, según un estudio realizado por EUNOMIA, que el 94% acaba en el fondo marino, lo que lo hace aún más imperceptible, ya que solo un 1% se encuentra flotando o cerca de la superficie. De este último, la mayoría se concentra cerca de las playas bien por vertido intencionado o debido al flujo que atrae las basuras a estas.

Conforme con un estudio del CEDEX publicado en 2017 y, en consonancia con lo anteriormente citado, las principales fuentes de MPs a considerar son: bolsas y envases, campos artificiales de deporte, degradación de neumáticos, pellets, pinturas, barnices y tintas, productos de cosmética, productos de limpieza, ceras, abrillantadores y productos textiles. Se ha llegado a estimar teóricamente la cantidad de MPs que se producen en diversos estudios realizados por los gobiernos en Europa, pero realmente cuantificar la cantidad de MPs que entran al medio natural es un problema complejo.

En lo que respecta a fuentes de emisión marina de MPs, que constituyen aproximadamente el otro 20% del debris plástico que llega a los ecosistemas acuáticos, hay que resaltar el aporte recibido de la industria pesquera como máximo exponente, siendo en torno a un 10% del aporte total de MPs en los medios marinos (Good et al., 2010).

1.2.3 Los microplásticos en las aguas residuales.

En la actualidad, los investigadores han descubierto que una de las fuentes más considerables de MPs en los hábitats acuáticos son las aguas residuales (Conley et al., 2019). Los MPs presentes en las aguas residuales pueden proceder de las pastas de dientes o cosméticos que contienen microesferas, fibras de los textiles sintéticos que se generan al lavarlos (Boucher & Friot, 2017), del desgaste de diversos artículos hechos de plástico, así como de otros artículos como las purpurinas, neumáticos, productos de limpieza o pinturas y resinas (Sheavly and Register, 2007). Una vez que llegan a las estaciones de depuración de aguas residuales (EDARs) una gran mayoría son retirados del agua, con unas eficiencias que oscilan entre el 80 y el 99% (Prata, 2018). Según Sun et al. (2019) en una planta convencional, tras el pretratamiento solo entre el 41 al 65% continúa en el agua respecto a la cantidad del influente, y después del sedimentador primario entre 2-50% salen de él, posteriormente, tras el tratamiento biológico entre un 0.2 y un 14% siguen en el agua, finalmente, tras el tratamiento terciario solo continúa en el efluente entre un 0.1-2% de los que entraban a la planta. Es decir, las eficiencias de las distintas etapas del tratamiento suelen situarse en: 35-60% para el pretratamiento, un 50-98% para el sedimentador primario, el tratamiento biológico presenta eficiencias de 85-99.8% y finalmente entre 98 al 99.9% de eficiencia ofrecen los tratamientos terciarios. Sin embargo, debido al gran volumen de agua que se tratan en las EDARs esto deriva en un gran aporte de MPs al medio. En EDARs de menor tamaño se han observado eficiencias de remoción por debajo del 90%. Todo esto, sumado al potencial de adsorción de otras sustancias presentes en las aguas residuales, como se comentó anteriormente, hace que constituyan un gran riesgo toxicológico en los efluentes de las plantas de tratamiento (Conley et al., 2019).

Por otra parte, el hecho de que las EDARs sean tan efectivas en la retirada de los MPs del agua se traduce en que las concentraciones en el fango son elevadas (van der Berg et al., 2020), tan es así que se reportan concentraciones mayores en el fango que en el influente de la misma planta (Xu et al., 2020). Esto puede suponer un grave problema al usar este fango como fertilizante como, por ejemplo, en Europa y Norte América cerca del 50% del fango producido es procesado para fines agrarios. Nizzetto et al. (2016) estiman que una cantidad de entre 125 a 850 toneladas de MP/millón de habitantes se están vertiendo a los suelos agrícolas anualmente en Europa y que, a su vez, estos suelos

presentan más del doble de contenido en plásticos que aquellos que no habían sido fertilizados con fango de depuradora, tal y como comprobaron van den Berg y colegas (2020). Esto nos permite verter luz sobre que el uso de estos fangos como fertilizante resulta en la acumulación de plásticos en los suelos, con las correspondientes consecuencias que esto supone. Aunque aún es preciso aumentar la información a cerca de estas consecuencias, se advierte que la presencia de MPs en los suelos puede cambiar los ecosistemas agrarios y la biodiversidad terrestre (de Souza et al., 2019) y de la misma manera, estudios han confirmado que la presencia de plásticos en los suelos agrarios puede afectar negativamente en la producción de los cultivos, así como suponer un agente tóxico para algunos de ellos (Hernández et al., 2021) (Jiang et al., 2019). Además, puede terminar alcanzando las masas de agua superficiales, a través de la escorrentía superficial que se produce en momentos de lluvia intensa o en eventos climáticos extremos (i.e. huracanes, inundaciones) (Barnes et al., 2009). Con relación a si podrían alcanzar las aguas subterráneas, algunos estudios han evaluado la penetración en los suelos, mostrando que los MPs quedan retenidos en la capa más superficial del suelo, penetrando un máximo de 7.5 cm (O'Connor et al., 2019).

1.3 Humedales artificiales.

1.3.1 Fundamentos y tipologías.

En las últimas décadas, los humedales artificiales (HA) se han estado investigando crecientemente como método para purificar las aguas residuales, debido a que son sistemas diseñados para realizar el tratamiento con un bajo mantenimiento requerido y bajo coste operacional (Vymazal, 2010). Estos humedales artificiales, también llamados humedales construidos o de tratamiento, están inspirados en el funcionamiento de los humedales naturales, con la diferencia de que se encuentran diseñados y operados para optimizar los procesos de depuración y asegurar el cumplimiento de los límites de vertido. Además de ser una tecnología con más de sesenta años de experiencia, representan una solución verde para la depuración de las aguas residuales en pequeñas poblaciones, aunque también se ha visto un buen rendimiento como tratamiento terciario en poblaciones mayores, incluso en condiciones frías (Vymazal, 2011) y para tratar con aguas pluviales (Rousseau et al., 2008) debido a su ratio de eliminación de sustancias contaminantes y que no genera fangos.

Un humedal artificial es una ecotecnología que, mediante procesos de biotransformación y mineralización, permite reducir la concentración de carbono, nitrógeno y fósforo, por debajo de lo establecido por la normatividad vigente (Luna y Aburto, 2014). Se les denomina artificiales porque son construidos mecánicamente e impermeabilizados para evitar pérdidas de agua al subsuelo, además se eligen tanto el sustrato como las plantas que se dispondrán para realizar los distintos procesos físicos, químicos y biológicos, y que actualmente aún se estudian los distintos materiales para la optimización de estos.

Los HA se clasifican según su flujo, se distinguen: los HA de flujo superficial, donde el agua circula de forma continua por encima del sustrato y el proceso de purificación se lleva a cabo a medida que el agua fluye a través de los tallos y raíces de las plantas. Los HA de flujo subsuperficial, el flujo se realiza a través de los materiales

granulares (i.e. gravas, arena), entra las ventajas frente a los de flujo superficial hay que mencionar su menor superficie de terreno requerida, menores olores y menor dependencia a las bajadas de temperatura; sin embargo, como desventajas hay que destacar su mayor coste de construcción y la colmatación de dicho lecho granular. Entre los HA de flujo subsuperficial se distinguen a su vez los de flujo horizontal y vertical (White, 2013), en la Figura 2 se presentan de forma esquematizada los distintos tipos de HA citados.

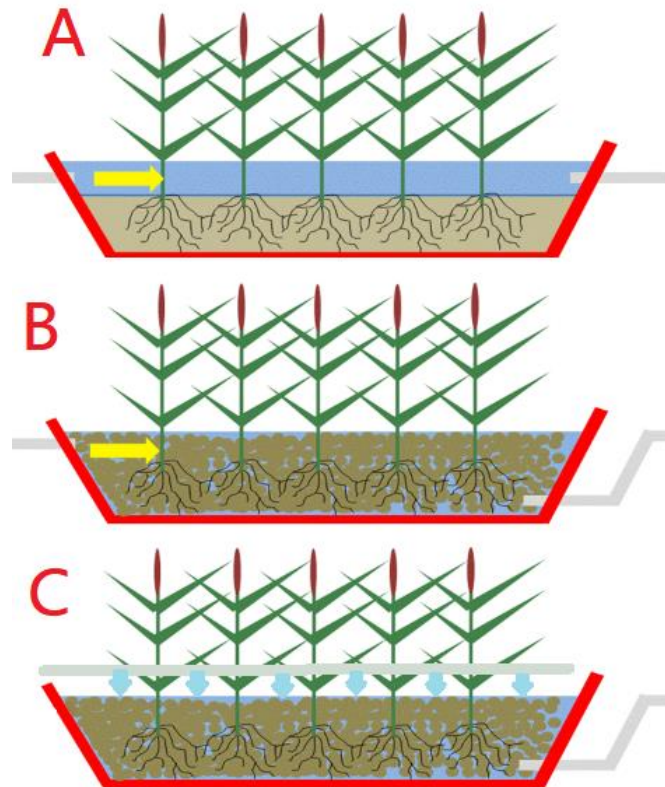


Figura 2. Esquemas de los distintos tipos de HA, donde: A, HA de flujo superficial; B, HA de flujo subsuperficial horizontal; C, HA de flujo subsuperficial vertical. Fuente: Morón, 2018.

1.3.2 *Humedales artificiales frente a la contaminación por microplásticos.*

Los HA han demostrado ser realmente competentes en la eliminación de MPs de las aguas residuales, presentando unas eficiencias de remoción del 88% ejerciendo el papel de tratamiento terciario además de aportar beneficios ecológicos y otros como los que se comentaban previamente (Wang et al., 2020).

Diversos estudios han demostrado una buena intercepción de MPs por la vegetación presente en los humedales, así como en hojas, raíces o adherido en forma de biopelícula (Yin et al., 2021, Duan et al., 2021). Asimismo, los macroinvertebrados juegan un papel nada despreciable en la distribución de los MPs entre las distintas partes del humedal. Los macroinvertebrados presentes en los humedales son por lo general lombrices y se ha descubierto que transportan los plásticos que toman del medio en sus aparatos digestivos (Rillig et al., 2017), lo que puede suponer una reducción de tamaño de los plásticos que puede ayudar a su eliminación y, lo que es más, existen bacterias presentes en sus órganos que pueden llegar a digerir los MPs a compuestos volátiles simples (Lwanga et al., 2018). Además, los animales presentes en HA de flujo superficial,

como pueden ser peces, aves, reptiles, pequeños mamíferos y crustáceos también promueven un papel importante en la eliminación de contaminantes, mejorando los rendimientos de las plantas y microorganismos presentes y creando un ecosistema alrededor del mismo (Li et al., 2021). Aunque la literatura a cerca de los MPs está creciendo exponencialmente (Zhou et al., 2021), los HA son aún un campo en el que es necesario mayor investigación para poder entender mejor los procesos y los beneficios que pueden prestar en este y otros campos.

Tradicionalmente la incineración y los vertederos eran las medidas tomadas para lidiar con los plásticos de gran tamaño, aunque también se intenta potenciar el reciclaje de estos. No obstante, estos métodos no son viables para los MPs presentes en las aguas residuales, debido precisamente a su pequeño tamaño y a la dificultad de separarlos y extraerlos. Debido a ello, se ha prestado mayor atención a los métodos de degradación, los dos más estudiados han sido la biodegradación y los procesos de oxidación avanzada (fotodegradación directa, fotocátalisis y oxidación electromecánica), desafortunadamente los procesos de oxidación no son definitivos por los posibles remanentes y la biodegradación es demasiado lenta (Du et al., 2021). Por eso, se puede hipotetizar que, debido al elevado tiempo de residencia de las partículas sólidas retenidas en los HA, unido a la actividad metabólica de las lombrices que crecen en ellos, es posible que los MPs se degraden por procesos de biodegradación.

Por todo lo expuesto anteriormente, la contaminación por MPs representa un gran reto al que buscar solución, en el que todos los países deben tomar medidas para controlar y reducir el consumo de plásticos. En este sentido, la Unión Europea aprobó la “Estrategia Europea para el Plástico y la Economía Circular” en enero de 2018 y muchas otras medidas han de ser tomadas por el resto del mundo. Debido al pequeño tamaño de los MPs y a su variación descontrolada en el medio ambiente, la eliminación de estos continúa siendo un campo emergente. Los humedales artificiales, empleados como tratamientos secundarios en pequeñas poblaciones o terciarios en medianas y grandes poblaciones, pueden contribuir sustancialmente a reducir la entrada de MPs en las aguas superficiales.

2 Objetivos.

El objetivo general de este estudio es mejorar el conocimiento sobre el potencial de los HA para combatir la contaminación por MPs presentes en las aguas residuales que finalmente son vertidas en las aguas superficiales. Para ello, se van a estudiar dos EDARs basadas en HA, ubicadas en localizaciones con estilos de vida diferentes entre sí: Carrícola y la urbanización Los Monasterios (Puçol). Carrícola es un pequeño pueblo cuya economía se basa en la agricultura y Los Monasterios es una urbanización residencial distinguida. Con esta comparación, el estudio pretende averiguar, además, si existe una correlación entre los diferentes estilos de vida y la cantidad y características de los MPs presentes en las aguas residuales.

Para alcanzar este objetivo general, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Determinar si existe un patrón diferente en cuanto a abundancia y características de los MPs presentes en las aguas residuales de estas dos EDAR, que depuran las aguas residuales de poblaciones muy diferentes entre sí y, con ello, detectar posibles estándares de comportamiento.
- Evaluar el contenido de MPs en el fango biológico y el potencial de retención tanto de las gravas como de las raíces, así como estudiar la distribución espacial de los MPs en las EDARs monitorizadas.
- Cuantificar la ratio de emisión de MPs en las dos poblaciones estudiadas.
- Calcular las eficiencias de remoción de MPs, distinguiendo por tamaños y formas, y evaluar posibles patrones.
- Determinar la abundancia y características de los MPs presentes en distintos puntos de la línea de tratamiento de las EDARs de Carrícola y Urbanización Los Monasterios.

3 Áreas de estudio.

3.1 EDAR de Carrícola.

La EDAR de Carrícola (Valencia, España) es una estación que sirve a una población de aproximadamente 113 habitantes equivalentes, con pocas variaciones en la población durante los últimos años. Se encuentra en el Municipio de Carrícola que a su vez se encuentra en la comarca del Valle de Albaida, y cuyo principal uso del suelo es agrícola, con cultivos de secano, aunque ha habido un auge en las últimas décadas en la plantación de árboles frutales. Destaca por contar con una larga trayectoria ecológica entre sus iniciativas de desarrollo sostenible. Otra de estas iniciativas es la de gestión municipal de los residuos sólidos orgánicos, mediante recogida selectiva y posterior compostaje.

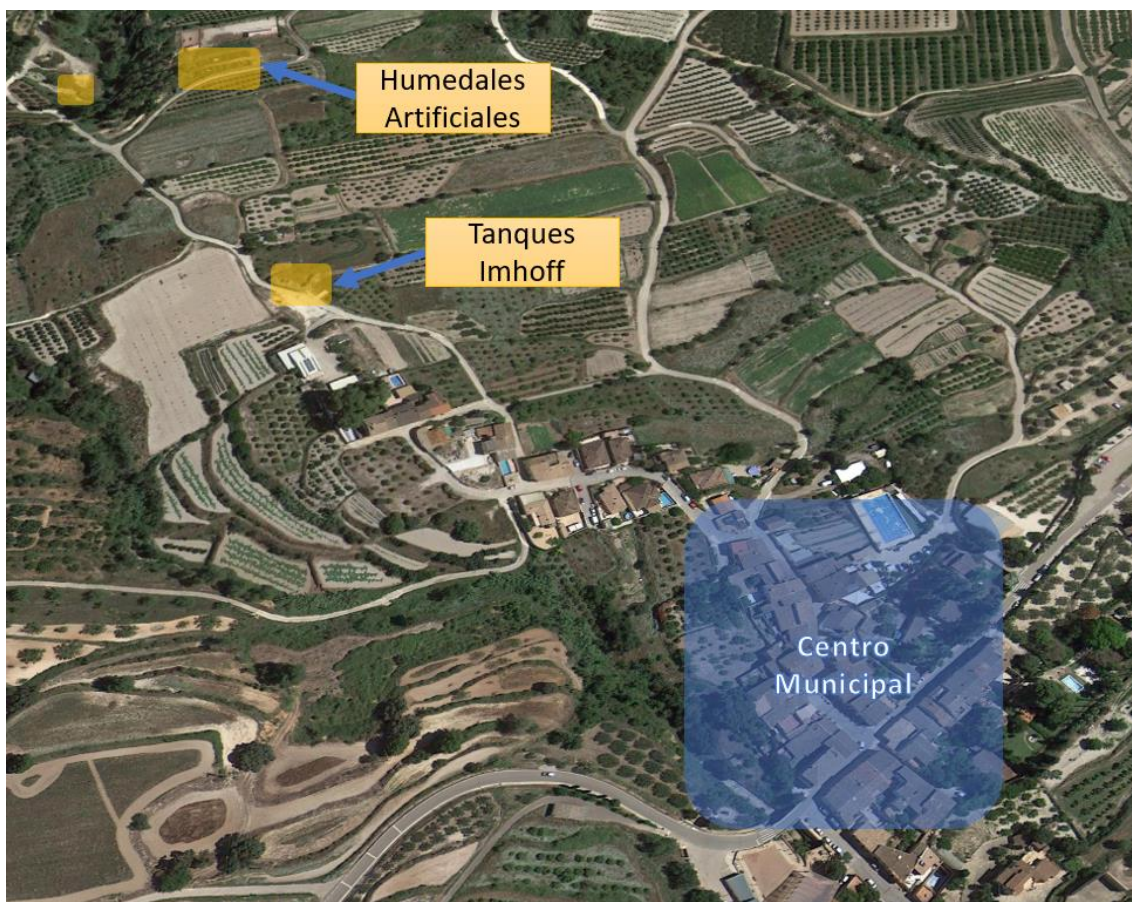


Figura 3. Imagen aérea del Municipio de Carrícola y las distintas parcelas de la EDAR. Fuente: Google Earth y elaboración propia.

En este marco se encuentra la planta de depuración a base de HA, en consonancia con el desarrollo sostenible que se pretende en el municipio. Dicha EDAR cuenta con 3 parcelas (Figura 3) donde se distribuyen las distintas instalaciones. Cabe destacar que, entre parcelas existe un desnivel importante, lo que permite que la circulación de agua de un punto a otro de la instalación se realice por gravedad, sin necesidad de bombas ni maquinaria externa. La planta está compuesta por un pretratamiento, para proteger y postergar la duración de las instalaciones, que cuenta con un canal de desbaste formado

por unas rejillas finas, que retienen los sólidos de gran tamaño y cuya limpieza se realiza periódicamente de forma manual. Seguidamente, se encuentra el tratamiento primario, compuesto de dos tanques Imhoff situados en serie para eliminar sólidos en suspensión, junto con sus contaminantes asociados y que no perjudiquen al funcionamiento biológico de los humedales. El correcto funcionamiento de esta etapa es clave porque ayuda a posponer el proceso de colmatación que sufren los HA. En medio de ambos tanques, se ubica un área de secado de fangos, donde son deshidratados tanto los fangos que se obtienen de la sedimentación en los tanques, como los flotantes.

En cuanto al tratamiento secundario, se dispone de dos humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal, que funcionan en paralelo, cada uno de ellos tiene unas dimensiones de 198 m² y una profundidad de 0.5 m. El material granular filtrante, se dispone de la siguiente manera: una franja inicial de grava gruesa de diámetro 4 cm, que ocupa todo su ancho y tiene de longitud 1 m y como se puede observar en la Figura 4, está siempre libre de vegetación precisamente para evitar su colmatación y facilitar su limpieza de mantenimiento, a partir de esta primera zona se estructura con alternancia entre grava gruesa de 2 cm de diámetro durante 5 m de longitud, intercalada con 1 m de longitud de grava fina (1 cm de diámetro) y así hasta rellenar el humedal por completo.



Figura 4. Entrada a los humedales en paralelo, donde se aprecia la zona inicial sin vegetación y el sistema de alimentación de ambos. Fuente: elaboración propia.

Posteriormente, el efluente de sendos HA se une para dirigirse a otro HA, que en un primer momento se diseñó para ser un humedal artificial vertical de flujo subsuperficial, pero que en la situación en la que se realizó el estudio se encontraba funcionando de forma idéntica a los otros dos HA de flujo horizontal. Éste tiene la misma superficie, aunque en este caso el relleno es uniforme de grava gruesa de 2 cm de diámetro. Cabe destacar que este humedal se encuentra a menor cota que los anteriores así que, de igual manera el agua se transfiere debido a la fuerza de la gravedad. Periódicamente, se realizan vaciados del sistema de tuberías de la planta, para eliminar posibles sólidos que hayan quedado sedimentados en ellas. El volumen vaciado en estas limpiezas va a parar en su totalidad a este tercer HA, lo que da en ocasiones mayores concentraciones de sólidos. Una vez pasado este último humedal, como tratamiento terciario y de renaturalización, se dispone de un humedal artificial de flujo superficial, al que se deriva una parte del caudal de salida y que sirve para la eliminación de patógenos, aunque este HA no va a ser objetivo de este estudio. En la Figura 5 queda reflejado de

forma esquematizada la distribución de la EDAR de Carrícola, donde se puede observar la organización citada.

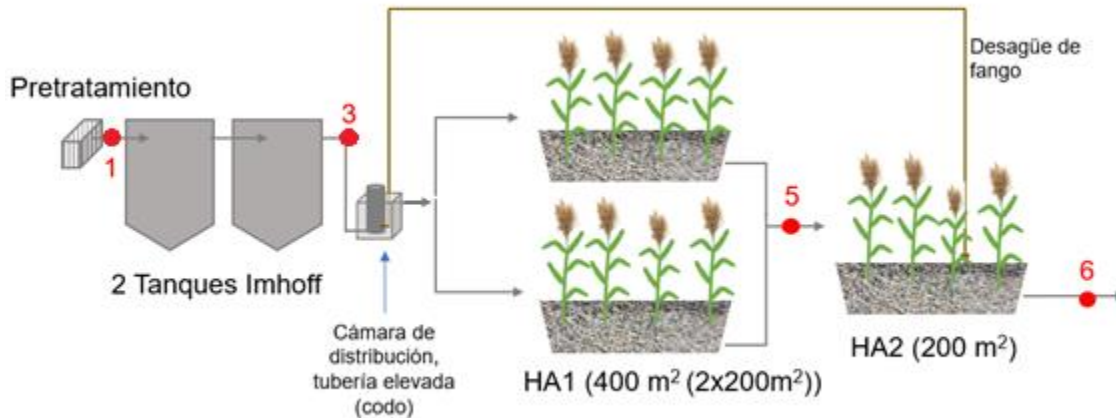


Figura 5. Esquema EDAR Carrícola, con los dos humedales horizontales en paralelo y el tercero en serie. Con los puntos a estudiar marcados con números en rojo.

La flora está compuesta por *Phragmites australis* o carrizo común, aunque desde su cultivo han aparecido otras especies de forma natural. La EDAR recibe un influente de caudal medio de $16 \text{ m}^3/\text{día}$ y se han reportado en estudios anteriores datos de eficiencia de remoción tanto de DQO como de sólidos suspendidos que se muestran en la Tabla 1 entre otros (Hernández-Crespo et al., 2022).

Tabla 1. Valores medios en el efluente y eficiencias globales medias en la EDAR de Carrícola medidas en el punto 6.

	DQO	DBO ₅	SST	N _T	P _T
Valor medio ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	42 ± 19	12.4 ± 12.9	3.1 ± 3.7	31.3 ± 13.5	5.2 ± 1.8
Eficiencia global media (%)	94.71	97.44	98.83	36.64	24.64

3.2 EDAR de Urbanización Los Monasterios.

La segunda zona por estudiar es la EDAR de la Urbanización Los Monasterios, situada en el término municipal de Puçol, sirve a una población de 1500 habitantes equivalentes. Las aguas tratadas son básicamente de las viviendas pertenecientes a la urbanización que trata sus propias aguas residuales, aunque también reciben agua de otros edificios secundarios que forman parte del mismo complejo, como un colegio y un club social con campo de golf. Cabe destacar que la mayoría de las viviendas poseen piscinas que vierten sus aguas a la EDAR también. En la Figura 6 se muestra la distribución de la urbanización.

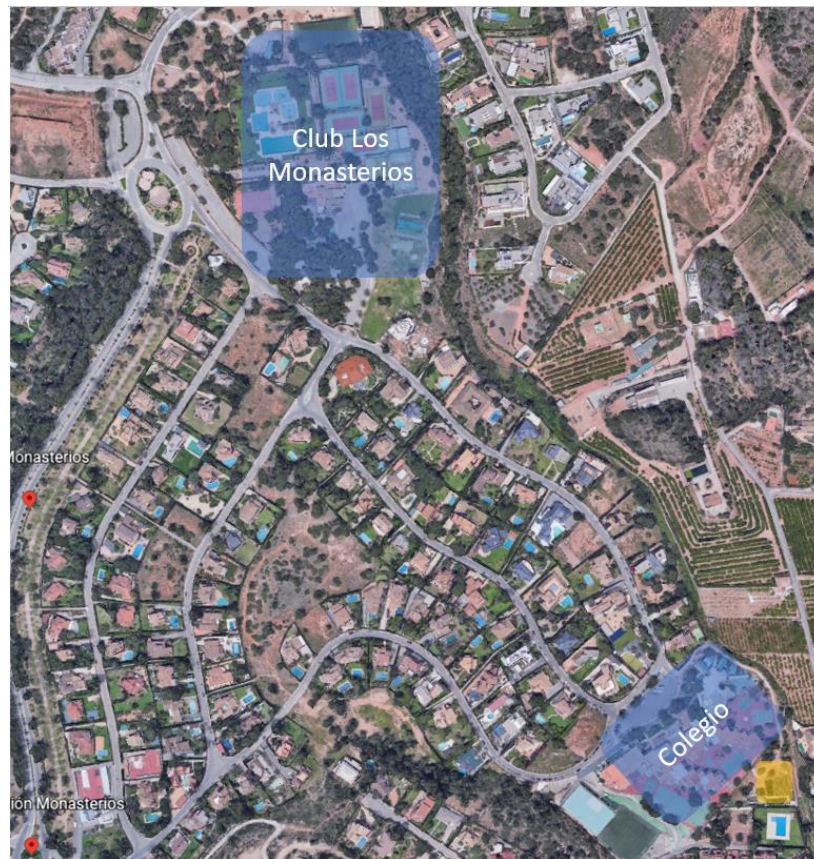


Figura 6. Imagen aérea de la Urbanización Los Monasterios, en amarillo se marca la EDAR.

La EDAR comienza con un pretratamiento en el que se realiza la eliminación mecánica de grandes sólidos y arenas, gracias a un enrejado y un desarenador para asegurar procesos posteriores como el tratamiento biológico. A continuación, existe una balsa de homogeneización y posteriormente se encuentra el tratamiento secundario, que consiste en un reactor biológico que funciona con un sistema convencional de fangos activados con aireación prolongada, de superficie 45 m^2 y un volumen de 180 m^3 . Este reactor cuenta con macrófitas en flotación (i.e. Typha, Phragmites, etc.) para mejorar la eficiencia del proceso y reducir el consumo eléctrico en aireación. Seguidamente poseen un sedimentador y para finalizar, para el tratamiento terciario se dispone de un HA con macrófitas en flotación de superficie 348 m^2 y un volumen de 557 m^3 que conecta en serie con otro HA de menor tamaño, de flujo subsuperficial horizontal, con una superficie de 68 m^2 y un volumen de 41 m^3 , relleno de grava gruesa de 2 cm de diámetro. En la Figura 7 se muestra el esquema de la planta.

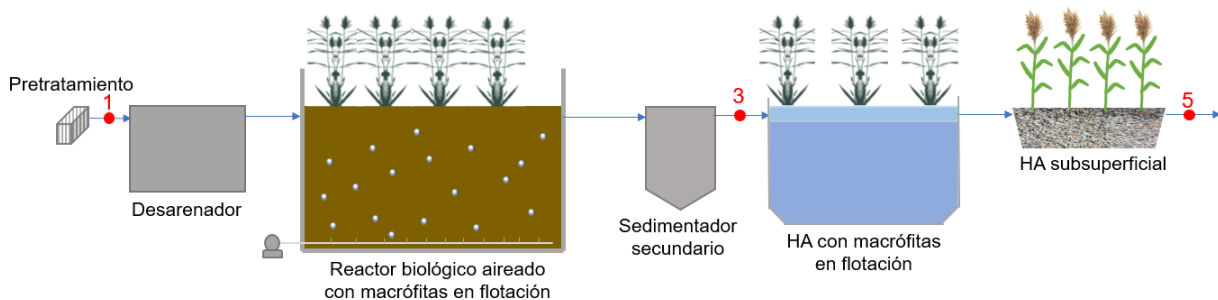


Figura 7. Esquema EDAR Los Monasterios, con los puntos a estudiar marcados en números rojos.

El caudal tratado en la EDAR varía entre 100 y 120 m³/día y en esta planta de tratamiento se pretende reutilizar todo el caudal del efluente para riego de jardines y el campo de golf y también para una fuente ornamental de la urbanización. Cabe destacar que para la reutilización cumplen con la normativa española sobre reutilización (RD 1620/2007). Los consumos energéticos asociados al bombeo de agua residual hasta la EDAR y a la aireación cubiertos por unas placas solares, que se disponen en los tejados de las instalaciones de la EDAR, por lo que podríamos decir que es autosuficiente energéticamente. Anteriormente se disponía de cloración en el efluente de la planta, pero actualmente se están cumpliendo los estándares permitidos y no es necesario este proceso para afinar. En la Tabla 2 se presentan algunos datos de rendimientos de eliminación de las últimas mediciones que se han tomado.

Tabla 2. Valores medios en el efluente y rendimiento de eliminación (%) de la EDAR de Los Monasterios para el sistema completo.

	DQO	SST	N _T	P _T
Valor medio (mg·L ⁻¹)	10	5	21	8.1
Eficiencia global media (%)	97.20	93.9	63.16	40.88

4 Materiales y métodos.

4.1 Muestreo de agua.

El agua residual fue recogida en diferentes localizaciones para cada planta. En la EDAR de Carrícola se escogieron cuatro puntos: el agua residual en bruto a la entrada de los sedimentadores (Punto 1), a su salida (Punto 3) que coincide con la entrada a los HA en paralelo, a la salida de estos HA (Punto 5) y que a su vez es la entrada del último HA subsuperficial, y a la salida de este (Punto 6) que coincide con el efluente de la planta. En cuanto a la EDAR de la Urb. Los Monasterios, se eligieron tres puntos de muestreo: al igual que en Carrícola, es importante saber la calidad del agua residual en bruto en el influente (Punto 1) para posteriormente poder ver la eficiencia de la planta por completo, la segunda localización elegida fue tras pasar el tratamiento secundario, a la salida del decantador (Punto 3), para así poder ver la eficiencia en la remoción de MPs del biorreactor, y si es capaz de captar MPs gracias a las macrófitas en flotación. Además, este punto coincide con la entrada a los HA, y por último a la salida de ambos humedales (Punto 5), que coincide con el efluente de la planta.



Figura 8. Día de muestreo, en el punto 5 de Carrícola, tomando muestra con el cubo metálico con todas las medidas para evitar la contaminación de la muestra.

Se realizaron varias campañas de muestreo durante los meses de estudio, de esta forma se pudieron obtener valores en duplicado y en distintos meses. Desafortunadamente, debido al corto plazo de tiempo del que se disponía para el estudio, no se pudieron hacer tantos muestreos en fechas diferentes para tener un estudio estacionario más representativo. En ambas localizaciones se realizaron dos muestreos en fechas diferentes y en algunos puntos de cada EDAR por duplicado, de esta forma se asegura una caracterización más específica en cada punto.

Se recogieron diferentes volúmenes de agua dependiendo del punto. Para los puntos iniciales (ambos puntos 1) se tomaron 2.5 L de agua residual por cada réplica, para los puntos intermedios (ambos puntos 3) se recogieron 7.5 L por cada réplica, y para los puntos de salida de los humedales (ambos puntos 5) se muestrearon 100 L de agua por

cada réplica. Esto fue así, porque se recoge más o menos volumen de forma inversamente proporcional a los sólidos esperados en cada punto, de esta forma evitamos que el procesamiento de las muestras sea muy complicado o demasiado extenso, incluso puede llegar a ser imposible debido al colapso de los tamices o los filtros. Con esta diferenciación por puntos se pretendía además que el volumen fuera suficiente para tener algún MP en cada muestra. Para el punto 6 de Carrícola se tomaron 60 L a pesar de ser uno de los puntos con menos sólidos esperados, debido a la dificultad existente para el muestreo en este punto. La salida de agua estaba en una arqueta donde no cabían los utensilios de muestreo típicos por lo que había que hacerlo de dos en dos litros cada vez y esto aparte de ser un proceso tedioso, posibilitaba la contaminación de las muestras, al estar tanto tiempo expuestas al aire que puede portar MPs.



Figura 9. Columna de tamices para separación de las muestras en distintos tamaños.

Todas las muestras fueron recogidas con un cubo metálico, tal y como se muestra en la Figura 8, y rápidamente pasadas por una columna de tamices colocados de mayor paso a menor, tal y como se muestra en la Figura 9 (5600 μm , 425 μm , 75 μm , 40 μm), de esta manera se crea un filtro de partículas mayores a 5 mm que no serían consideradas como MPs, por lo que todo aquello que se recoge en el mayor tamiz es desechado y sirve para no colmatar el resto de tamices, y en los otros tres tamices se recogen y se separan los posibles MPs por tamaño (Figura 10).



Figura 10. Ejemplo de tamiz recién tomada la muestra y antes de pasarla al vaso, en este caso el tamiz intermedio de 75 μm .

Este proceso fue realizado in situ. Tras la tamización de la muestra, los sólidos retenidos en cada tamiz se transferían directamente, con la ayuda de agua destilada del tamiz a un vaso de cristal debidamente numerado para su transporte al laboratorio, proceso que se puede ver en la Figura 11. Cabe destacar que en cada punto este proceso se realizaba por duplicado cada día de muestreo, para los dos días de muestreo que se tomaron, además se tomó un tercer día de muestreo solo con el tamiz más pequeño (40 μm) para su observación en el espectrofotómetro de transformada de Fourier (FTIR), ya que con esta herramienta no es necesario dividir por tamaños para facilitar la observación, sino que es capaz de identificar las partículas, aunque se encuentren en gran número. Pese a ello, hubo que dividir para algunas muestra en varios filtros, debido a la gran cantidad de materia orgánica que contenían las muestras.



Figura 11. Muestreo en Carrícola, en el punto 1, pasando muestra de tamiz al vaso de cristal para transportarla al laboratorio.

4.2 Muestreo de fango.

En cuanto al fango y las raíces se distinguieron dos tipos de fango distinto, aquel que se encontraba adherido a las raíces y el que estaba en suspensión (en la EDAR de la Urb. Los Monasterios), o adherido en las gravas (en la EDAR de Carrícola). En cuanto a las localizaciones de estos muestreos: en Carrícola se tomó en cada uno de los HA que trabajan en paralelo, que son los principales, y se tomó una muestra a una distancia de entre uno a dos metros de la entrada, y en la zona de la salida a aproximadamente dos a tres metros del canal de salida. En ambos puntos fue necesario excavar, una profundidad de entre 10 a 15 cm, para llegar a la zona donde se encontraba el nivel de agua y tomar muestra representativa. En Monasterios se consideró interesante el estudio de la retención de las raíces del biorreactor por lo que se tomaron muestras tanto de raíz como de fango, además se tomó muestra de raíces y gravas del HA de macrófitas en flotación, como punto de la zona final de la EDAR.



Figura 12. Toma de raíces de las macrófitas en flotación del biorreactor, en la EDAR de Urb. Los Monasterios.

Cabe destacar que, todas las muestras de gravas y raíces fueron tomadas por duplicado y se tomaron en una sola campaña de muestreo. Se puede apreciar en las Figuras 12 y 13 como se tomaban tanto muestras de raíces como de gravas. Una vez obtenidas las muestras se guardaban en botes de cristal cerrados para su transporte al laboratorio (Figura 14).



Figura 13. Campaña de muestreo de gravas en los HA de Carrícola, en este caso a la salida.



Figura 14. Botes de cristal que contienen las muestras tomadas tanto de raíz como de gravas para su posterior procesamiento en el laboratorio.

5 Extracción de microplásticos de las muestras.

5.1 Extracción en muestras de agua.

Para la extracción de los MPs de las muestras de agua se siguió un procesamiento similar al de Wang y colegas (2020), uno de los más extendidos en los estudios sobre MPs en aguas residuales. En la revisión bibliográfica se ha observado una gran variedad en los procesamientos y existe una necesidad de estandarización. Asimismo, el procesamiento que se siguió se detalla a continuación de forma pormenorizada para detallar las variaciones respecto al mencionado.



Figura 15. Muestras de agua residual recogidas in situ y pasadas a vaso de cristal para llevarlas al laboratorio. En este caso pertenecientes al punto 3 de Carrícola y se pueden observar los tres vasos correspondientes cada uno a un tamiz de los distintos tamaños.

Se comenzaba con la muestra en el laboratorio directamente en vaso de cristal, tal como se muestra en la Figura 15. Al haber recuperado directamente in situ del tamiz la muestra con agua destilada se tenía en el vaso una mezcla de las partículas muestreadas, cierta cantidad de materia orgánica, dependiendo del punto se tenía más por ejemplo en los iniciales (Puntos 1 y 3) y una mezcla más limpia en los puntos finales (Puntos 5 y 6). El primer paso era evaporar el agua en la estufa, siempre teniendo en cuenta, que todos los pasos de evaporación durante el procesamiento de las muestras se realizaban sobre los 60°C, ya que a mayores temperaturas se podrían dañar los propios plásticos y perder MPs de las muestras (Munno et al. 2018). Los vasos eran cubiertos con papel de aluminio con perforaciones muy pequeñas para favorecer la evaporación, pero reduciendo la probabilidad de contaminación de las muestras.

Una vez evaporada el agua, se realizaba el proceso de digestión, con el que se pretendía digerir y disgregar la materia orgánica, de tal forma que fuese más fácil de eliminarla de la muestra en siguientes pasos, por un lado, para mejorar la observación a microscopio de las muestras ya que, si no se realizara esa eliminación de materia orgánica, sería en muchos casos imposible de examinar y, por otro lado, para extraer los MPs que estuvieran ocluidos en la matriz de la materia orgánica. Este proceso se realizaba introduciendo peróxido de hidrógeno (H₂O₂ al 30%) en las muestras y se utilizaban distintas concentraciones: para el agua residual en bruto de la entrada a las plantas o en

puntos con grandes cantidades de materia orgánica se introducía una mezcla 1:1 con agua destilada, para los puntos con menos materia orgánica, generalmente la salida del HA, una mezcla 1:2. Para realizar este proceso, se introducían 20 mL de reactivo, aunque se podía introducir tanta mezcla como fuera necesaria para digerir toda la materia orgánica de la muestra. Es preciso mencionar, que este proceso en ocasiones hubo que repetirlo varias veces hasta conseguir que la muestra estuviera bien digerida. Tras este proceso se colocaba la muestra en la estufa en las mismas condiciones anteriormente citadas.



Figura 16. Sedimento tras la separación por densidad en el fondo del vial.

Posteriormente a la digestión, le sigue el proceso de separación por densidad, que consiste en introducir una disolución de alta densidad en el vaso de la muestra, mezclarlo bien, incluso con la ayuda de una varilla de vidrio para despegar las posibles partículas que hayan quedado adheridas a las paredes del vaso debido al secado. A continuación, se procedía a centrifugar la mezcla líquida para separar los sólidos de mayor densidad que la solución introducida y así, obtener un flotante con los MPs y un sedimento que normalmente son sustancias inorgánicas como restos minerales y el residuo de la digestión de la materia orgánica cuya densidad aproximada es de 2.7 g/cm^3 , según Prata et al. (2019). La separación se puede apreciar en la Figura 16.



Figura 17. Proceso de disolución del cloruro de calcio, reacción exotérmica.

De esta forma, la separación por densidad se realizó en dos pasos: en el primero se usó una solución de cloruro de calcio (CaCl_2) con una densidad aproximada de 1.34 g/cm^3 , mezclando 558 g de CaCl_2 en un litro de agua destilada (Figura 17), y en un segundo paso en el que se difiere del estudio de Wang y colegas (2020), se utilizó yoduro de potasio (KI) con una densidad aproximada de 1.72 g/cm^3 , añadiendo 520 g de KI en medio litro de agua destilada. Se añadían 30 ml de solución en el vaso de cada muestra y se removía para conseguir tomar todos los MPs, seguidamente se pasaba la mezcla a 3 viales (10 ml en cada uno) (Figura 16), y estos viales se disponían en la centrífuga para posterior procesamiento. En la Figura 18 se puede observar la disposición de la mesa de trabajo con ambas soluciones y los viales para la centrifugación.

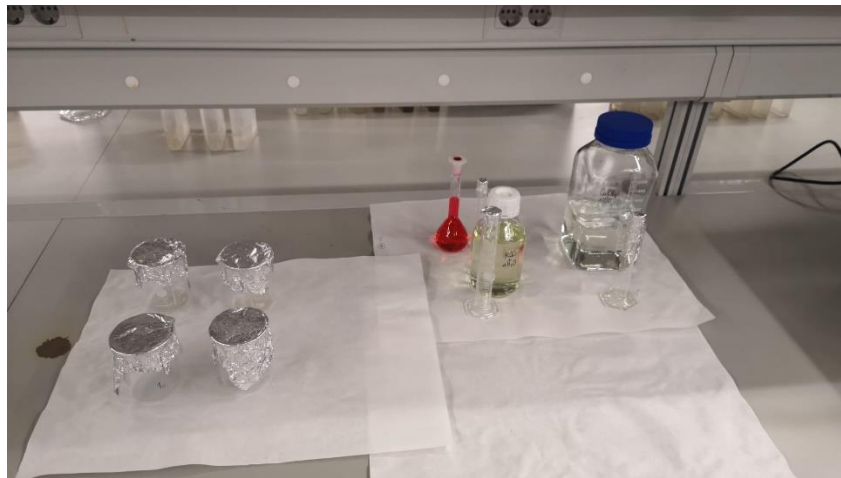


Figura 18. Mesa de trabajo para separación por densidad, con las muestras en los vasos de cristal y los reactivos en sus botes.

En cuanto a la centrifugación, se realizó a 3500 rpm durante 5 minutos con la centrífuga de Nahita, modelo 2652 (Figura 19). Este método de realizar dos pasos con distintas soluciones cada cual con mayor densidad es un procedimiento que cada vez se está usando más en las investigaciones sobre MPs y es precisamente porque se ha descubierto que mejora el rendimiento de recuperación de MPs de las muestras en gran medida ya que, hay muchos MPs de alta densidad que no se recuperarían con la solución de CaCl_2 . En la Tabla 3 podemos observar las densidades de los plásticos más usuales.



Figura 19. Centrífuga de Nahita modelo 2652 lista para el procesamiento de las muestras.

Tabla 3. Densidades de los distintos polímeros más típicos. Fuente: Prata et al., 2019.

Polímero	Densidad (g/cm ³)
Polipropileno	0.9-0.91
Poliétileno	0.92-0.97
Poliamida	1.02-1.05
Poliestireno	1.04-1.1
Acrílico	1.09-1.2
Polimetilmetacrilato	1.17-1.2
Poliuretano	1.2
Policloruro de vinilo	1.16-1.58
Acetato de polivinilo	1.19-1.31
Resinas alquídicas	1.24-2.1
Polyester	1.24-2.3
Tereftalato de polietileno	1.37-1.45
Polioximetileno	1.41-1.61

Finalmente, se procede a la filtración del sobrenadante de los viales centrifugados, tal y como se muestra en la Figura 20. Primero el vial del CaCl₂ en uno de los dispositivos de filtrado que se ve en la imagen y seguidamente el mismo vial se rellenaba de KI para volver a centrifugar y pasar el filtro al dispositivo de filtración contiguo y filtrar el KI ahí, de esta forma se obtenían ambas soluciones por separado, y se podían recuperar para ser reutilizadas hasta 8 veces. En algunos estudios se han reutilizado hasta 10 veces sin que pierda potencial de recuperación de MPs (Prata et al., 2019). Esta recuperación es conveniente, debido al elevado precio de las soluciones, especialmente la de KI.



Figura 20. Los dos dispositivos de filtración, uno para cada solución, preparados para ser usados.

El filtro, tras ser filtrado en el segundo paso de la separación por densidad, se lavaba con 25 ml de agua destilada y se le añadían 5 ml de una solución de Rosa de Bengala (0.2 mg/ml) (Ziajahromi et al., 2017), que es un tinte que solo reacciona con la materia orgánica, dejando ésta con un pigmento rojo/púrpura que la hace más fácilmente

reconocible, ante la duda para la posterior observación en el conteo de MPs. En la figura 21 se aprecia la solución preparada.



Figura 21. Solución de Rosa de Bengala (0.2 mg/ml) preparada en el laboratorio para teñir la materia orgánica presente en los filtros.

Una vez procesada la muestra, se tenía el filtro húmedo por lo que había que dejarlo 5 minutos en la estufa en las condiciones anteriormente descritas, y ya estaba listo para su observación al microscopio. En la Figura 22 se puede ver un filtro listo para su observación, estos filtros presentan las siguientes características: paso de 1 micra y diámetro del filtro 47 mm.



Figura 22. Filtro de una de las muestras listo para su observación.

Además de este tipo de filtro, se tuvieron que usar unos específicos para poder realizar la examinación con el FTIR, estos nuevos filtros se pueden apreciar en la Figura 23 (25 mm de diámetro y paso de 2.2 micras) y se procesaron mediante un nuevo equipo de filtración debido a la diferencia de diámetro existente entre ambos, dicho equipo se puede ver en la Figura 24.

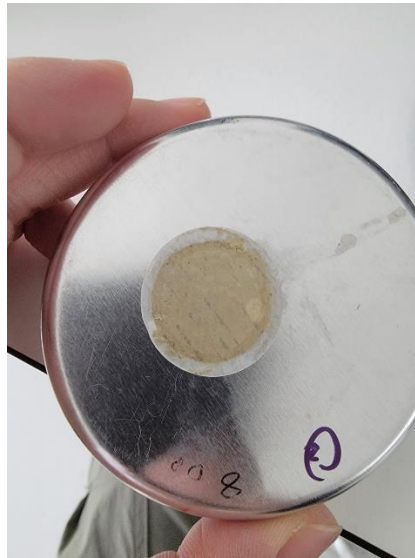


Figura 23. Nuevos filtros de menor diámetro para observación mediante FTIR.



Figura 24. Nuevo equipo de filtración para FTIR (izquierda) junto al anteriormente usado.

Con respecto al tiempo empleado para tomar y procesar cada conjunto de muestras, se debe mencionar que tras la primera campaña de muestreo y hasta que se consiguieron observar y contabilizar esas mismas muestras, transcurrieron cuatro semanas.

5.2 Extracción en muestras de fango.

En relación con las muestras de fango, el primer paso fue la recuperación del fango tanto en raíces como en grava, para ello se utilizó el menor de los tamices (40 μm), ya que en este caso las muestras se observaron visualmente con el microscopio y después se tomaron los filtros para observar también en el FTIR. No obstante, puesto que estas muestras son las más cargadas de materia que había (i.e. fango, restos de raíces, restos inorgánicos de minerales, etc.), hizo que su procesamiento fuera notablemente más

duradero que las muestras de agua. Se colocó el tamiz en una pila del laboratorio y sobre él y mediante un chorro de agua destilada se lavaban tanto las gravas como las raíces, recogiendo así todo el fango que estas tenían adherido. De igual manera que con las muestras de agua residual, se pasaban posteriormente a un vaso de cristal. Se puede notar la diferencia de materia comparando la Figura 15 con la Figura 25 que se muestra a continuación.

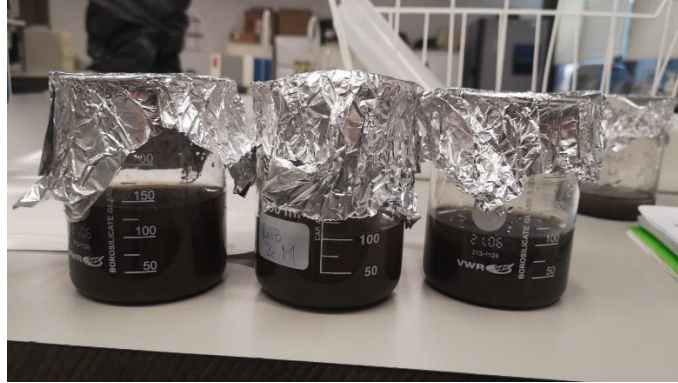


Figura 25. Muestras de fango en vaso de cristal para su procesamiento, concretamente de las raíces del biorreactor de Monasterios.

En cuanto al procesamiento de estas muestras, llegados a este punto fue muy similar al de las muestras de agua. La principal diferencia fue la digestión, para la que en este caso se utilizó peróxido de hidrógeno al 30% sin diluir, para descomponer tal cantidad de materia orgánica. En cuanto a los filtros, éstos quedaron más colmatados, lo que dificultó y ralentizó la contabilización de MPs.

6 Contabilización de microplásticos y caracterización.

Para observar los filtros se siguieron los pasos marcados por Hidalgo-Ruz et al. (2012), se realizó la lectura de los filtros de izquierda a derecha y bajando poco a poco, y cubriendo así, líneas hasta llegar al límite de los filtros. Se realizó haciendo uso del estereomicroscopio SZ30, Olympus, Japón (Figura 26) y con aumentos de x20 a x40. Además, basándose en las experiencias de De Witte et al. (2014), se usó también el método de la aguja caliente o test de fundición, calentando la aguja con la ayuda de una llama y acercándola bajo el estereomicroscopio a las partículas dudosas. En este caso, habría que observar la reacción del material, ya que el plástico usualmente reacciona envolviendo la aguja o curvándose si es film o partícula y en el caso de las fibras se retraen sobre sí mismas. Por otro lado, la materia orgánica normalmente reacciona al calor cambiando su color a negro y rompiéndose directamente. La caracterización que se le dio a los MPs durante su contabilización se dividió entre fibras, films y partículas, las tres formas más comunes de encontrar. Además, también se clasificaron por tamaño, según el tamiz en el que se quedaban retenidas, excepto en el último muestreo, que solo se tomaron muestras con el tamiz más pequeño.



Figura 26. Equipo de observación mediante estereomicroscopio usado en laboratorio para examinar filtros visualmente o con ayuda de la aguja caliente.

Como se mencionó anteriormente para la observación mediante FTIR (Thermo Nicolet FTIR, Nexus) (Figura 27). Se utilizó además el accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) y su uso fue posible en la Universidad de Gante, en el Campus de Kortrijk.

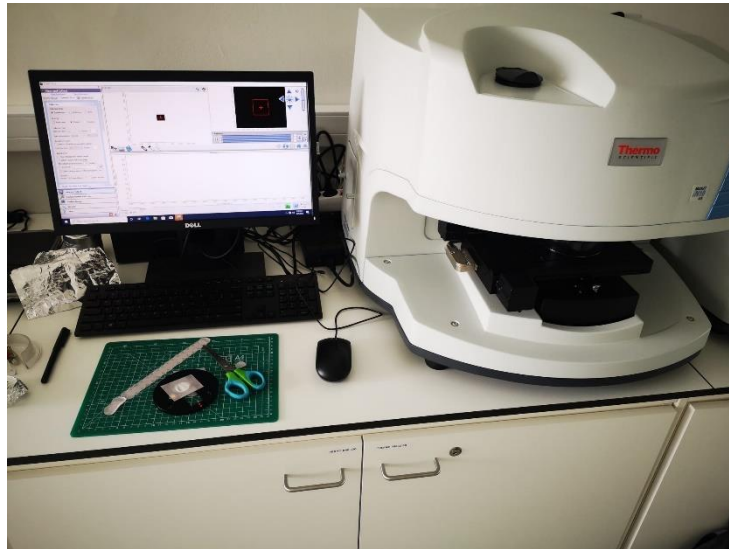


Figura 27. Espectrofotómetro de transformada de Fourier (FTIR) usado, en la Universidad de Gante, Campus de Kortrijk.

7 Garantía de calidad y prevención de la contaminación.

Para evitar la posible contaminación durante los muestreos y el procesamiento de las muestras, se adoptaron medidas de control de calidad. La más importante de ellas fue evitar al máximo, todos aquellos materiales plásticos o que pudieran tener plástico (i.e. vasos, botes, viales y varillas de vidrio, cubeta y herramientas de metal, etc.). Además, todo el tiempo que no se estuviera manipulando una muestra, ésta permanecía tapada con papel de aluminio, incluso al guardarlas en los armarios al finalizar la jornada se les cubría con otra capa de papel de aluminio por encima para asegurarnos al máximo que no entrasen posibles plásticos que se transportasen por el aire o que estuvieran ya directamente en el laboratorio. Así mismo, se cubrían los accesorios usados para filtrar, los viales y la centrífuga después de la separación por densidad, y en general todo aquello que pudiera ser potencialmente contaminado durante el proceso.

Con relación a la limpieza, el laboratorio, al igual que todos los materiales a usar, se lavaban a conciencia con agua destilada y etanol para las superficies antes de ser usadas, es más, para los accesorios que se fueran a usar después del lavado se recubrían con papel de aluminio para que no pudieran contaminarse durante la espera hasta ser usados. Durante todos los pasos, incluidos los muestreos in situ, se llevaba puesta una bata de laboratorio de algodón y guantes de látex. Cabe mencionar que, para la recogida de las muestras de sustrato, todo el material usado fue de metal y madera para los agarres (pico, pala y tijeras).

Para cada localización de muestreo se realizaron blancos de campo por duplicado para poder contabilizar la posible contaminación del medio. En cada caso, se tamizaron in situ 10 litros de agua destilada llevada desde el laboratorio en botes de vidrio, que estuvieron tapados todo el tiempo posible, y se recogió muestra de cada tamiz de la columna. Además, todas las muestras de control se sometieron al mismo procesamiento que las muestras reales. Se obtuvieron unas concentraciones de 0.9 MP/l en Carrícola, y 1.5 MP/l en Monasterios, si bien es verdad que con volúmenes mayores de agua se podrían haber conseguido concentraciones menores, estos valores son comparables a los de otros estudios (Conley et al., 2019, Wang et al., 2020). La diferencia de los resultados se puede justificar ya que, en Carrícola la EDAR se encuentra alejada del núcleo urbano y rodeada de naturaleza y plantaciones, mientras que en Monasterios, la EDAR se encuentra junto a un colegio de primaria y tiene viviendas cercanas. También, como medida de control de calidad, se realizó un blanco de microscopio, que consiste en dejar un filtro limpio y destapado junto al estereomicroscopio, durante el tiempo que se tarda en observar un filtro perteneciente a una muestra real, de esta forma se puede comprobar si existe contaminación en el aire del laboratorio a pesar de todas las medidas de seguridad tomadas, y así fue, se encontraron cuatro fibras de media, ya que se hizo por duplicado, y es que como se puede comprobar es prácticamente imposible evitar por completo la contaminación de MPs.

Como última prueba de control de calidad se realizaron cuatro ensayos de recuperación, que consistieron en generar artificialmente MPs e introducirlos en un vaso de cristal de tal forma que se sepa la cantidad exacta de cada tipología (films, fibras y partículas) que se encuentra en él. En este caso se introdujeron veinticinco MPs en cada vaso de la siguiente forma: diez fueron fibras obtenidas de prendas de ropa, las más típicas

en las aguas residuales urbanas, compuestas por poliuretano y eran de color negro, otras diez partículas azules de HDPE de color azul y, por último, cinco films de LDPE de color amarillo. Los colores se seleccionaron para que fueran fácilmente reconocibles, para contabilizar correctamente y no confundir con otros posibles MPs que provengan de la contaminación. Estos ensayos de recuperación pasaron por los mismos pasos que todas las muestras. Los resultados del ensayo se muestran clasificados por tipo de MP y de forma global en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de los ensayos de recuperación, tanto por forma como en total. Se indica el valor medio y la desviación estándar.

	Fibras	Partículas	Films	Total
Recuperación media (MPs)	9.75 ± 0.5	8.75 ± 1.26	3.75 ± 0.96	22.25 ± 0.5
Eficiencia recuperación (%)	97.5	87.5	75	89

8 Resultados y discusión.

8.1 Muestras de agua.

8.1.1 Concentraciones.

Las concentraciones de MPs fueron calculadas para cada uno de los puntos de muestreo. Se obtuvieron valores con un alto grado de variabilidad a la entrada, que se ve altamente atenuada en el efluente (Figuras 28 y 29), poniendo de manifiesto la capacidad amortiguadora de los humedales, propiedad resaltada en numerosos estudios (Hernández-Crespo et al., 2022a, b). La alta variabilidad entre muestreos puede ser debida, entre otras cosas, a que los muestreos se realizaron en momentos con tiempo seco antecedente diferente. En ambas localizaciones, el primer muestreo se realizó en días que no había llovido recientemente, mientras que el segundo muestreo fue tras días de precipitación abundante (Figura 30). Hay que tener en cuenta, que el tiempo de retención hidráulico de estos sistemas de tratamiento es de unos diez días para Carrícola y para Monasterios un poco menor, por ello se han mostrado los datos de precipitación de los 10 días anteriores al muestreo. La influencia de las lluvias puede afectar de forma significativa, especialmente en las características del influente, ya que como se ha comentado el efluente es bastante constante gracias al papel amortiguador de los sistemas de tratamiento. Tras días de precipitación abundante, la red de saneamiento, que en ambos casos es unitaria, podría haber sido lavada, lo que podría ayudar a explicar el hecho de que en el segundo muestreo las concentraciones de entrada fueran significativamente menores. Por otro lado, esta alta variabilidad del influente ya fue observada en estudios anteriores (Wang et al., 2020; Zhou et al., 2020; Correia Prata, 2018). Así mismo, cabe destacar que la variabilidad de las muestras durante un mismo muestreo fue sensiblemente menor que la variabilidad entre muestreos, tal y como queda reflejado por las barras de error de los puntos en los que se tomó réplica (Figuras 28 y 29).

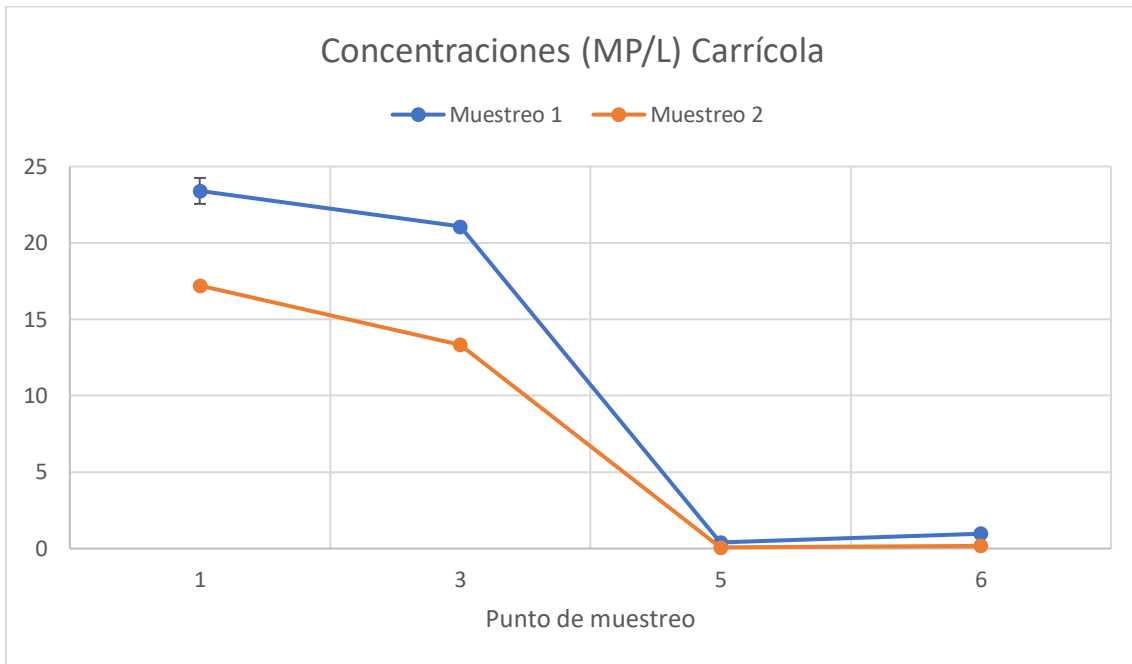


Figura 28. Concentraciones medias en MP/L y desviaciones estándar (barras de error) para los puntos muestreados en Carrícola en las dos campañas realizadas. Réplicas realizadas para todas las muestras del Muestreo 1, en las que no se aprecian las barras de error es debido a que las desviaciones estándar fueron muy pequeñas.

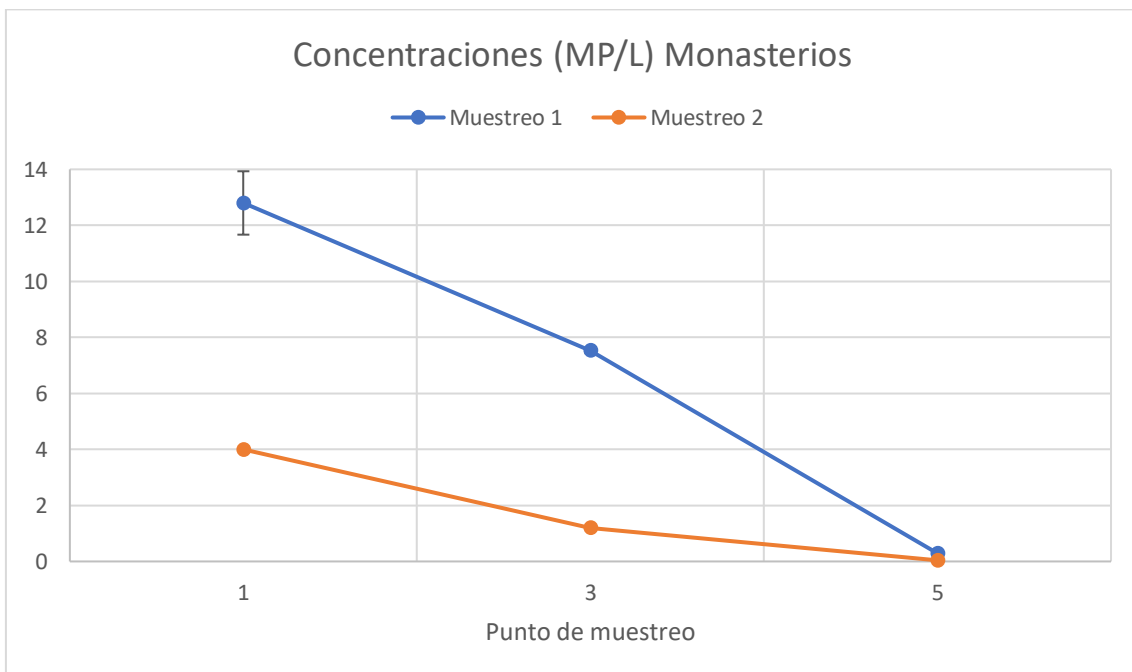


Figura 29. Concentraciones medias en MP/L y desviaciones estándar (barras de error) para los puntos muestreados en Monasterios en las dos campañas realizadas. Réplicas realizadas para todas las muestras del Muestreo 1, en las que no se aprecian las barras de error es debido a que las desviaciones estándar fueron muy pequeñas.

En ambas plantas de tratamiento se puede apreciar una reducción importante de las concentraciones. En el caso de Carrícola, a la entrada se midió una concentración

media de 20.3 ± 3.1 MP/L, al pasar los tanques Imhoff se reduce hasta 17.2 ± 3.8 MP/L, resultando en una eficiencia de eliminación inferior al de un sedimentador primario en una planta de tratamientos convencional (Sun et al., 2019). Seguidamente, tras los primeros humedales en paralelo la reducción ya es bastante notable, disminuye hasta 0.24 ± 0.16 MP/L, demostrando ya la capacidad depuradora de los HA en este campo. Sin embargo, tras el último HA pasa a 0.58 ± 0.4 MP/L. Este aumento, puede ser debido al vaciado de la tubería que conecta el tratamiento primario con los humedales, cuyo drenaje es enviado directamente a unos pocos metros de la salida de este HA. Esta operación, que se realiza con una periodicidad mensual, arrastra gran parte de los MPs que salen de los sedimentadores hasta allí, dejándole poco margen para actuar al humedal. De igual manera, cabe destacar que las concentraciones obtenidas en ambas salidas de los humedales son apreciablemente menores incluso que los blancos de campo que se realizaron in situ, cuyos valores de concentración son de 0.9 MP/L para la EDAR de Carrícola, y 1.5 MP/L para la EDAR de Los Monasterios. Esto puede ser debido a que los volúmenes filtrados para los blancos fueron de diez litros, mientras que para los puntos de salida de las plantas de tratamiento fueron de cien litros, resultando así en unas concentraciones menores, pero en un número de MP total mayor en las muestras de los efluentes de ambas plantas que en los blancos.

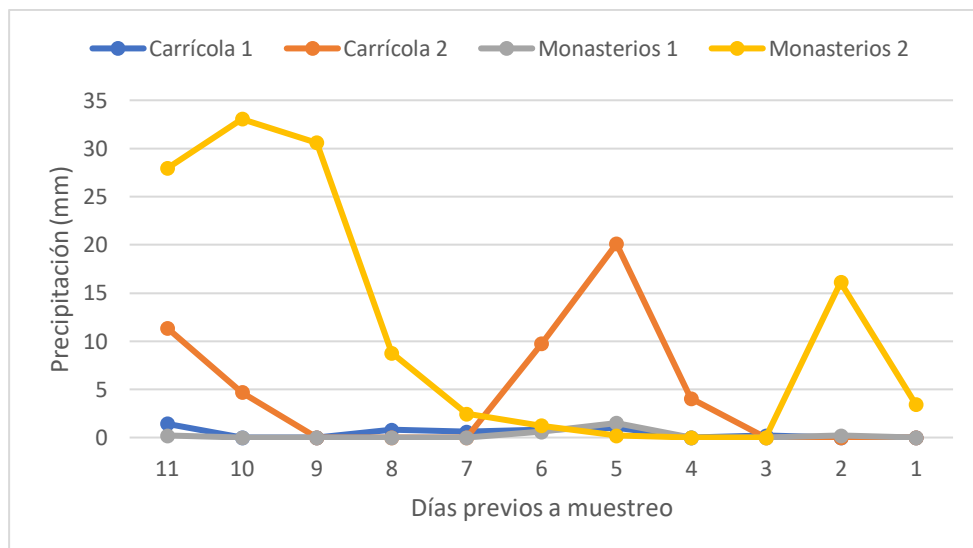


Figura 30. Precipitaciones en los días previos a las fechas de campaña de muestreo.

En el caso de la EDAR de Los Monasterios, en el influente se midieron 8.4 ± 4.4 MP/L de media, una cantidad ya bastante menor que en la entrada de Carrícola. Según avanzaba en el sistema, la concentración se vio reducida hasta 4.37 ± 4.2 MP/L tras el biorreactor con macrófitas en flotación, unos valores acordes a los de una planta convencional, y finalmente 0.17 ± 0.11 MP/L en el efluente después de pasar por los HA del tratamiento terciario. Se puede observar que la variabilidad en Monasterios es superior a la presente en Carrícola, esto puede justificarse debido a que las precipitaciones previas al segundo muestreo de Monasterios fueron las más fuertes de entre todas las campañas de muestreo, o puede deberse al modo de vida urbano, que presenta mayores variaciones temporales, ya que en momentos puntuales pueden existir grandes picos de consumo y esto afectar directamente a la EDAR, mientras que el modo de vida rural tiende a ser más estable.

Finalmente se presenta la comparación entre la contabilización realizada en estereomicroscopio mediante examinación visual, apoyado como el método de la aguja caliente, y las realizadas por el software del FTIR (Figuras 31 y 32). Hay que tener en cuenta que las muestras fueron trasladadas y tuvieron que ser parcialmente reprocesadas al llegar a la Universidad de Gante en Bélgica, por lo que los valores podrían fluctuar debido a ello. A pesar de todo, se considera que las diferencias son aceptables, ya que los valores están bastante próximos entre sí. Este trabajo de colaboración fue de gran utilidad, ya que gracias a éste se pudieron validar los resultados, lo que confiere al estudio otra garantía de calidad. Sobre todo, en los valores finales los errores fueron prácticamente nulos.

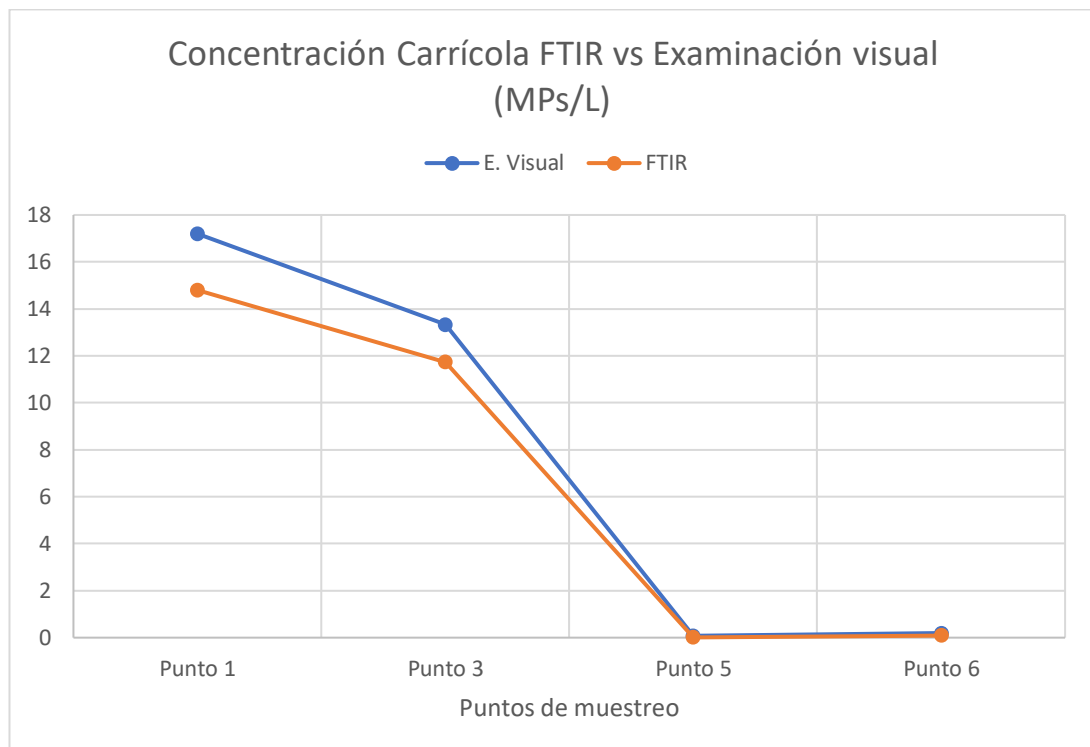


Figura 31. Comparación entre la contabilización realizada con estereomicroscopio y FTIR para Carrícola.

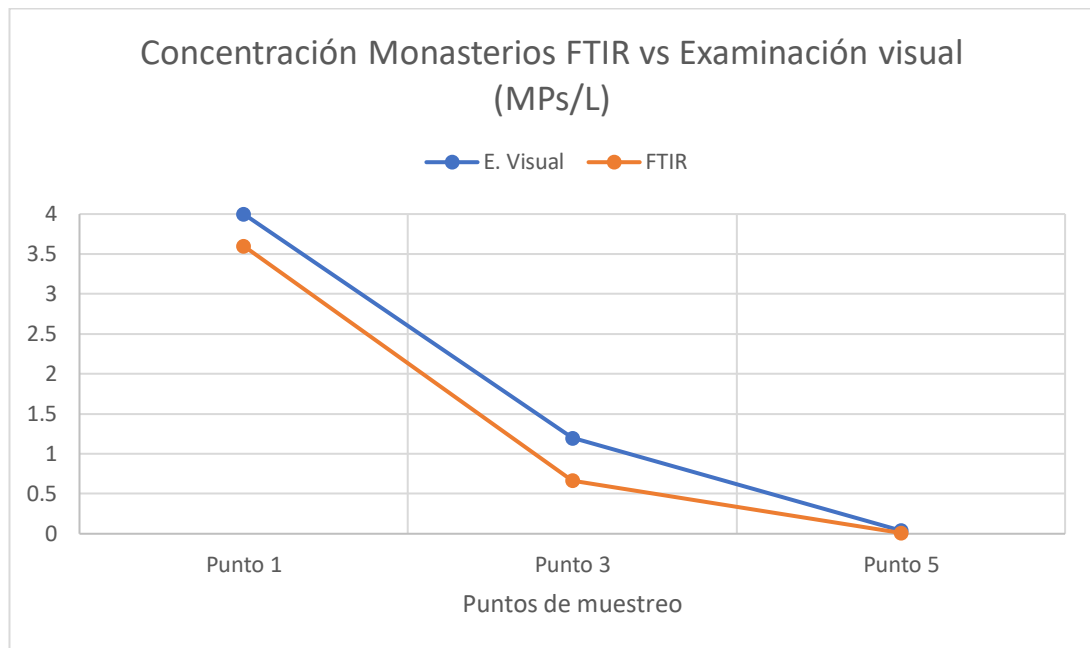


Figura 32. Comparación entre la contabilización realizada con estereomicroscopio y FTIR para Monasterios.

8.1.2 Eficiencia de eliminación.

En materia de eficiencias de eliminación, los resultados medios de remoción para cada uno de los puntos de ambas plantas de tratamiento son los que se muestran en la Tabla 5. Se puede observar, que en Carrícola el tratamiento primario está retirando menos del 20% de los MPs que entran en la planta, en cuanto a los HA que trabajan en paralelo, muestran un porcentaje de eliminación muy positivo, prácticamente retiran el 99% de los MPs que ingresan en ellos, por lo que componen, en esta EDAR, el mayor filtro a la hora de controlar la emisión de MPs al medio natural. Finalmente, y como ya se comentaba anteriormente, se puede ver como la eficiencia en la eliminación se ve reducida, adoptando un valor negativo, debido a que salen mayores concentraciones de MPs por el efluente final que por el efluente de los HA anteriores. Aun así, la eficiencia global de la EDAR presenta un porcentaje más elevado que muchos tratamientos convencionales, ya que en plantas de tratamiento convencionales pequeñas los porcentajes de remoción que se han estudiado suelen ser menores al 90% (Sun et al., 2019), mientras que en los dos sistemas en los que se enfoca este estudio, a pesar de ser pequeños, gracias a la tecnología de los HA logran unos porcentajes de remoción muy prometedores, como se puede ver en la Tabla 5.

Tabla 5. Eficiencias de eliminación (%) de MPs para cada punto y global, en ambas localizaciones de estudio.

	Carrícola	%	Monasterios	%
Eficiencia punto apunto	Punto 3	17.35	Punto 3	53.33
	Punto 5	98.63	Punto 5	96.16
	Punto 6	-123.84		
Eficiencia global	Punto 3	17.35	Punto 3	53.33
	Punto 5	98.83	Punto 5	98.13
	Punto 6	97.42		

En lo que respecta a Monasterios, a la salida del reactor biológico se han eliminado más del 50% de los MPs que entran a la planta, en este caso no se pueden contabilizar, por optimización de tiempos, los tratamientos primario y secundario por separado, aunque sería interesante, asimismo, tras el paso por los HA prácticamente se eliminan los MPs que ingresan en ellos por completo. Como se puede ver, en las eficiencias de remoción totales de ambas plantas, los porcentajes son equiparables y además excelentes en comparación con otros estudios como algunos que quedan resumidos en la Tabla 6, donde también se utiliza la tecnología basada en HA, se puede comprobar que las eficiencias son superiores a la media de otros estudios actuales.

Tabla 6. Eficiencias de eliminación (%) en HA para otros estudios.

Tipo estudio	Tipo diseño	Eficiencia eliminación (%)	Referencia
Laboratorio	HAFS	81.61	Chen et al. (2021)
Laboratorio	HAFSSH	100	Chen et al. (2021)
Campo	HAFV	82.8-88.9	Zhou et al. (2022)
Campo	HAFS	27.3-60	Zhou et al. (2022)
Laboratorio	HAFV	100	Wang et al. (2021)
Campo	HAFSSH	88	Wang et al. (2021)
Campo	HAF	>70	Ziajahromi et al. (2020)
Campo	HAFSSH	45-100	Wei et al. (2020)
Campo	HAFSSH	72.38-68.1	Long et al. (2022)

Nota: HAFS para HA de flujo superficial, HAFSSH para HA de flujo subsuperficial horizontal, HAFV para HA de flujo vertical, HAF para HA de flotación.

En un primer momento se hipotetizó que, en una población moderna y más urbana como Monasterios, las concentraciones de MPs a la entrada de la planta serían mayores. Sin embargo, fueron las concentraciones de Carrícola sustancialmente superiores en la entrada, esto puede deberse, entre otras causas, a la cantidad de población residente, ya que las aguas de Carrícola llegarán más concentradas al ser una población tan reducida. Esto se puede corroborar con las concentraciones de DQO y SST de los influentes de cada EDAR, mientras que en Los Monasterios encontramos unos valores de 357 y 82 mg·L⁻¹ respectivamente, en Carrícola se registraron 794 y 266 mg·L⁻¹. De igual manera, esto se pudo comprobar en otros estudios como Wei et al. (2020), que analizaron distintas plantas de tratamiento, que se encontraban en localizaciones distintas como: cerca de ciudades, en zonas rurales y en zonas montañosas alejadas de los grandes núcleos urbanos, y eran en estas zonas menos urbanizadas donde las concentraciones fueron mayores. Por lo general, en las zonas rurales el consumo por habitante es menor que en las ciudades, debido a los aportes industriales y comerciales. Sin embargo, en este caso de estudio, la Urb. Los Monasterios es un complejo residencial, pero la EDAR recibe además de las aportaciones domésticas, las derivadas del riego, tanto de jardines como del campo de golf, y las provenientes de las piscinas, lo que puede ser la causa de la diferencia de concentraciones existente.

Es cierto que, a pesar de que el plástico tiene cada vez una importancia mayor en el día a día de la sociedad, son cada vez más las iniciativas para reducir su uso como puede ser la reducción de uso de bolsas de plástico para comprar, el uso creciente de ropa de algodón 100%, la reutilización de productos plásticos como botellas, y a su vez una

especialización cada vez mayor con más producción de plásticos de alta calidad para diversidad de usos novedosos como la electrónica, y que por consiguiente es más resistente y libera menos partículas al medio. Sin embargo, en la sociedad rural estos cambios tardan más en llegar y existe una concienciación menor en ciertos campos, y por lo general el poder adquisitivo es menor por lo que también se usan más productos de plástico de baja densidad que son más favorables al desgaste, además de la ropa con alto contenido en polímeros como el poliéster. Por otro lado, en la población rural está menos extendido el uso de cosméticos que se ha comprobado que aportan gran cantidad de MPs granulares (Napper et al., 2015).

Del mismo modo, esto cobra mayor importancia en las plantas de tratamiento en medios rurales ya que sus aguas normalmente son reutilizadas (Long et al., 2022). Como se pudo ver anteriormente, en Monasterios se reutiliza la totalidad de sus aguas depuradas. Sin embargo, sin un control de los MPs, esto puede ser contraproducente en el caso de riegos, ya se ha estudiado los riesgos ecológicos que los MPs producen en los suelos (Li et al., 2020), alterando las propiedades de ellos, en los animales que los habitan, en la producción de cultivos, incluso alcanzando aguas subterráneas. Si bien es cierto que estos factores pueden afectar a la cantidad de MPs que se encuentran en las aguas residuales rurales, realmente depende de muchos otros, por lo que son necesarios más estudios sobre el tema para expandir el conocimiento en este campo.

8.1.3 Distribución por forma y tamaño.

A cerca de la caracterización de MPs que se ha llevado a cabo en este estudio, principalmente se dividieron los plásticos encontrados en fibras, partículas y films. En la Figura 33 se pueden ver algunos ejemplos cosechados en este estudio donde se muestra cada una de las distintas formas. A su vez, en las Figuras 34 y 35 se puede observar la distribución por forma en ambas localizaciones.



Figura 33. Ejemplos de MPs encontrados en las muestras. A) partículas; B) film; C) fibra.

Como en otros estudios contemporáneos previos (Long et al., 2022) (Wang et al. 2020), la forma predominante es en la gran mayoría fibra, tanto en entrada como en salida. Para ambos humedales se puede ver que la retención de partículas fue total, y esto se puede deber a que las partículas son más propicias a ser retenidas por el efecto filtrante de los HA. En cuanto a los films son la segunda forma más típica en ambos casos de estudio, lo que no concuerda con otros estudios, en los que suele ser el de menor

proporción. Si se realizaran más estudios periódicos en estas plantas de tratamiento, es posible que los resultados cambiasen. Como se afirmó anteriormente, gracias a estos gráficos se puede comprobar como el contenido en fibras de Carrícola es más importante que en Monasterios, teniendo en cuenta que una gran parte de las fibras que llegan a las EDARs provienen del textil (Cesa et al., 2017).

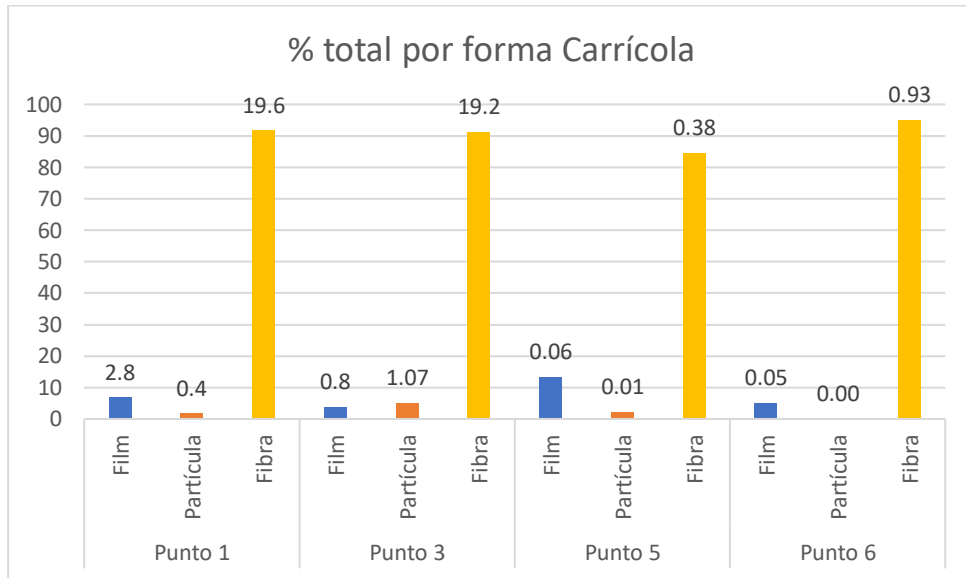


Figura 34. Distribución por forma (% en barras) y concentración de cada una (etiquetas sobre barras) de los MPs a lo largo de la EDAR de Carrícola.

En cuanto a Carrícola, se puede comprobar como después de los tanques Imhoff sube su porcentaje en partículas respecto a la entrada, esto puede deberse a que los tanques estuvieran colmatados y al pasar el flujo se produjera una resuspensión de las partículas que son las más favorables a la sedimentación y salieran directas hacia los humedales, aunque pasado los HA todas fueran captadas y no saliera ninguna por el efluente. Esto se puede observar de mejor manera en la Figura 34, donde se exponen los porcentajes de distribución por forma.

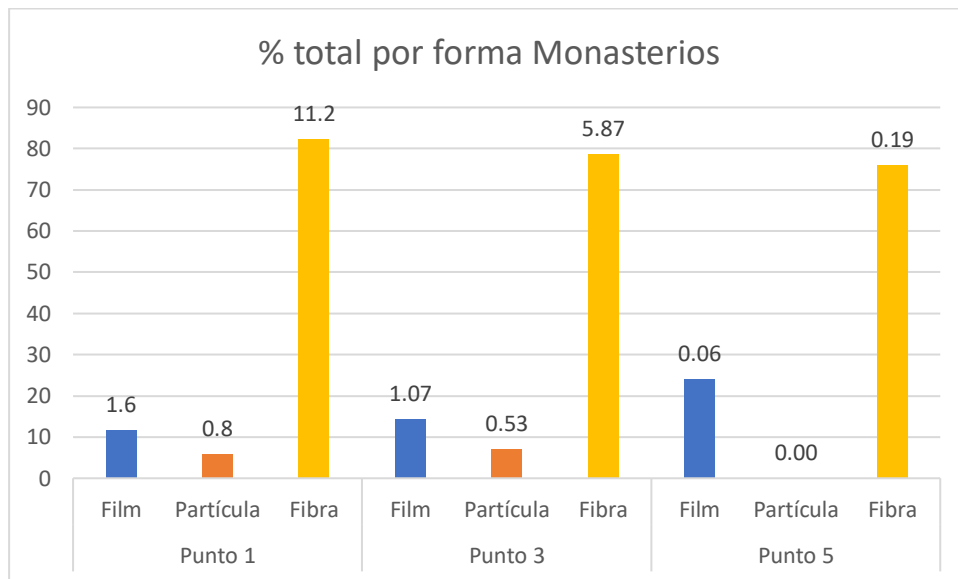


Figura 35. Distribución por forma (% en barras) y concentración de cada una (etiquetas sobre barras) de los MPs a lo largo de la EDAR de Monasterios.

A su vez, hay que tener en cuenta, el importante efecto que desempeña el biofilm en la retención de MPs en los HA, dado que la retención y la adsorción son mecanismos importantes para la eliminación de contaminantes en los humedales (Hernández-Crespo et al., 2017). El biofilm, actúa como un catalizador de estos mecanismos en la retención de MPs en los humedales, aumentando su superficie y la densidad de estos, además, el biofilm adherido a la vegetación y las raíces de los humedales, también mejora la retención. Este efecto, sobre todo, cobra gran importancia en la eliminación de fibras. Debido a su elevada relación superficie frente a volumen, las fibras son más propicias a la colonización de los microorganismos que las otras formas de MPs consideradas (Chen et al., 2021). También cobra gran importancia cuando se tratan polímeros de baja densidad (menor que el agua) que de otra forma podrían escapar de los sedimentadores mediante flotación. En la Figura 36, se pueden observar varias fibras encontradas durante este estudio con biofilm adherido, el cual se reconoce por su color rosado/rojizo, debido al tinte de Rosa de Bengala. Asimismo, otra función muy importante del biofilm es la biodegradación, identificada en algunos estudios como el principal método de degradación de los MPs (Du et al., 2021). Este proceso se potencia de igual manera gracias al biofilm adherido a los plásticos.

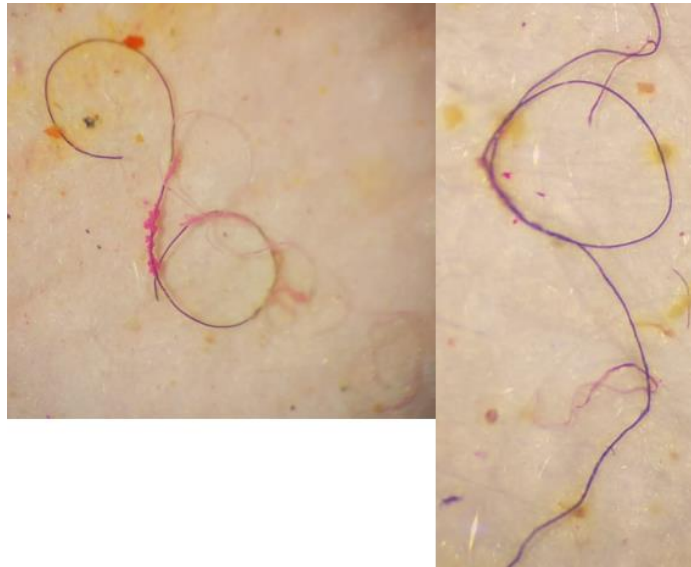


Figura 36. Fibras con biofilm adherido y con signos de degradación encontradas durante el estudio.

De igual manera que con el biofilm, se ha estudiado la diferencia de rendimiento en la retención de MPs por los HA dependiendo del sustrato por el que estén formados, como en la revisión realizada por Xu et al. (2022). Por ejemplo, los rellenos de arena en HA verticales, se ha comprobado que captan mejor los MPs que las gravas, aunque éstos presentan otras limitaciones. Incluso, introducir otros materiales minerales, como por ejemplo la caolinita o la goethita, ha dado resultados positivos en la captación de MPs con otros contaminantes adheridos, aunque aún es un campo de estudio en el que es necesaria mayor investigación. Una de las soluciones óptimas es siempre una combinación de varios tipos de HA en serie (Nguyen et al., 2018).

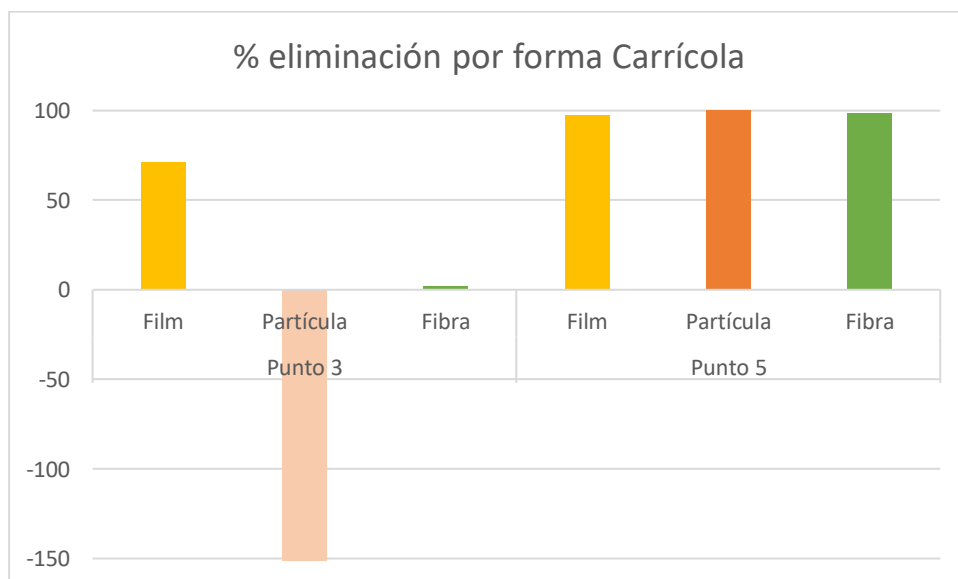


Figura 37. Porcentajes de eliminación según la forma para cada punto de Carrícola con respecto al punto anterior.

Como se ha mencionado, el punto 3 de Carrícola presenta un aumento en la concentración y como se puede comprobar en la Figura 37, esto es debido a una posible resuspensión de las partículas en los tanques Imhoff, sin embargo, tras este proceso se ha podido comprobar que los HA que trabajan en paralelo prácticamente eliminan el resto de MPs independientemente de su forma, aunque específicamente en las partículas llega al 100% de la eliminación. En lo que respecta a Monasterios (Figura 38), se observa que el conjunto compuesto por pretratamiento, reactor biológico y sedimentador secundario eliminan un porcentaje moderado de fibras. En cuanto a los reactores biológicos convencionales, no presentan tasas de remoción tan positivas, lo que puede significar, que las macrófitas en flotación están realizando una no despreciable función en la retención de fibras por parte de sus raíces. Por lo que se refiere a los HA de Monasterios, presentan porcentajes de eliminación positivos, aunque se puede observar que los films están consiguiendo escapar del sistema en mayor medida que, por ejemplo, en Carrícola, la cantidad de estos que escapan de la planta de tratamiento es muy pequeña.

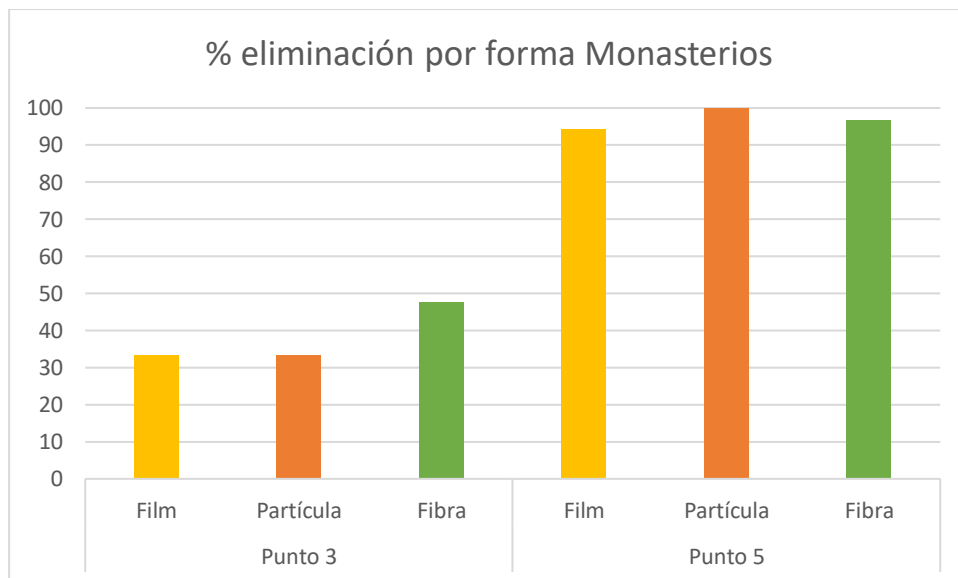


Figura 38. Porcentaje de eliminación según la forma para cada punto en Monasterios con respecto al punto anterior.

Los resultados siguen una clara tendencia en lo que respecta a la categorización por tamaño de los MPs. Ésta era una de las hipótesis iniciales, y es que a medida que los MPs avancen por el sistema de tratamiento, especialmente en los HA, vieran cada vez más reducido su tamaño. Esto cobra gran importancia, ya que los MPs de menor tamaño serán más favorables a la biodegradación. Así mismo, pueden ser ingeridos por los macroinvertebrados presentes en los humedales, entre los cuales abundan las lombrices (Wang et al., 2021), para posteriormente facilitar su degradación por microorganismos, tanto presentes en las lombrices como en los propios humedales (Lwanga et al., 2018; Yuan et al., 2020).

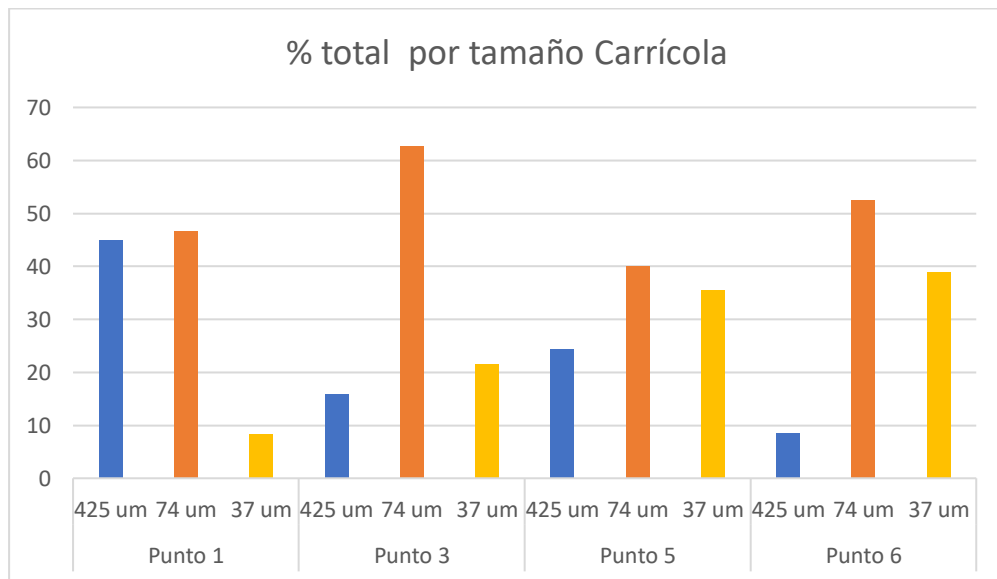


Figura 39. Porcentaje de MPs clasificados por tamaño en cada uno de los puntos de la EDAR de Carrícola.

En ambos casos, como se muestra en las Figuras 39 y 40, los MPs recogidos en el tamiz de mayor tamaño, se vieron reducidos en proporción según avanzaban en el sistema, excepto para el punto 5 de Carrícola, que al pasar por los HA en paralelo se veía aumentado su número, posiblemente por acumulación. Sin embargo, hay algo claro en ambos casos, y es que los MPs de menor tamaño aumentan porcentualmente tras su paso por los HA, esto puede ser debido entre otras cosas a los ya mencionados macroinvertebrados, aunque también al desgaste mecánico que sufren los MPs a su paso por las gravas.

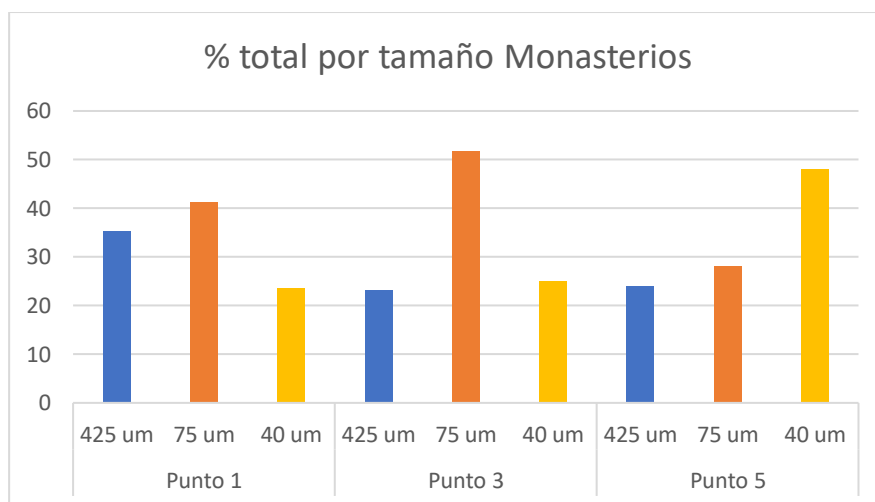


Figura 40. Porcentaje de MPs clasificados por tamaño en cada uno de los puntos de la EDAR de Monasterios.

Para concluir, se considera más interesante añadir un tamiz intermedio adicional entre el de mayor tamaño y el mediano, ya que ahí es donde se concentra la gran mayoría

de MPs. Por otro lado, esto conllevaría a un mayor tiempo de procesamiento, añadiendo una muestra más a cada punto. De igual manera, hay que señalar que esta clasificación por tamaño es sobre todo válida para partículas y films, pero en el caso de las fibras es algo más complicado, ya que estas pueden quedar atrapadas en un tamiz que no les corresponde e incluso, pasar a través de los tamices dado que su relación largo-diámetro es muy diferencial.

8.1.4 Relación entre microplásticos y sólidos suspendidos.

Generalmente, en los estudios a cerca de MPs se suele representar la relación entre estos y los SST ya que, de esta forma, si existiese una correlación clara, se podría obtener un indicador mucho más sencillo y rápido de obtener. En cualquier caso, en la actualidad aún no se ha utilizado la variable SST como indicador, ya que hay variedad de opiniones al respecto, y las relaciones obtenidas son diferentes en cada estudio, con lo que no existe todavía una ecuación empírica consensuada. Existen estudios que han encontrado una buena correlación como Wang et al. (2020) o Zhou et al. (2022). Sin embargo, en este caso, al igual que expone Wei y colegas (2020) y como se puede apreciar en la Figura 41 para Carrícola y la Figura 42 para el caso de Monasterios, no se ha conseguido demostrar que exista una relación lineal entre ambas, lo suficientemente fuerte como para poder estimar la concentración de MPs a partir de la de SST. Realmente, en este caso de estudios, sería conveniente realizar más campañas de muestreo para tener datos suficientes como para poder estudiar esta relación debidamente, por lo que hay que destacar que los resultados no son concluyentes.

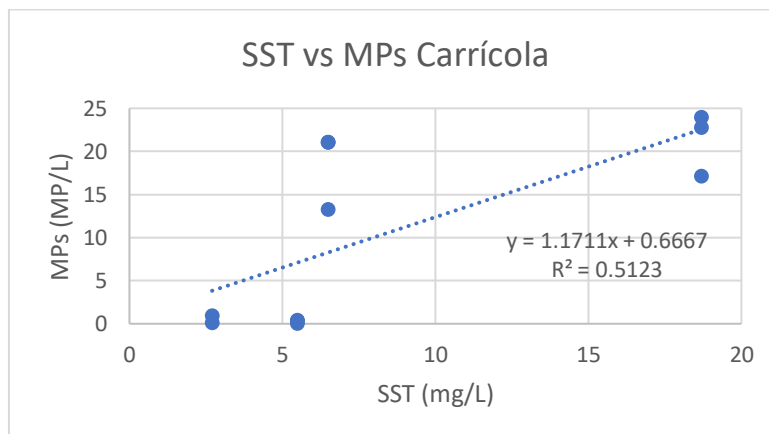


Figura 41. Relación entre SST y MPs. Datos de dos campañas de muestreo para Carrícola.

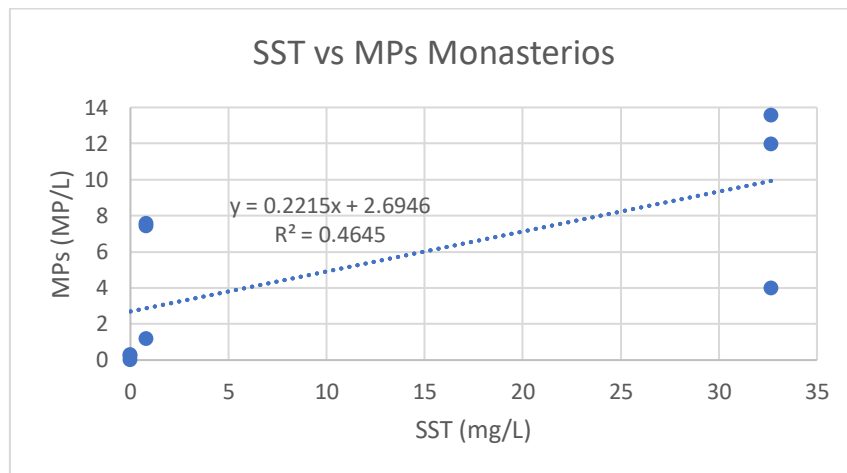


Figura 42. Relación entre SST y MPs. Datos de dos campañas de muestreo para Monasterios.

8.1.5 Indicador de microplásticos per cápita.

Dada la información obtenida en este estudio se pueden calcular parámetros muy importantes para cuantificar, por ejemplo, la cantidad de MPs que cada planta de tratamiento está liberando al medio natural por día y por habitante equivalente. A este parámetro se le conoce como emisión de MPs per cápita y los resultados de ambos sistemas de estudio quedan reflejados en la Tabla 7.

Tabla 7. Emisión de MPs per cápita y total de cada una de las localizaciones de estudio, junto con otros parámetros para calcularlo.

Parámetro	Carrícola	Monasterios
Q (L/d)	16000	110000
Hab. Eq.	113	1500
MP/cápita/día	139.23	21.27
MP/día	9333.33	18150

Como se puede comprobar, a pesar de que la emisión de MPs per cápita de Carrícola, es sustancialmente mayor a la de Los Monasterios, a causa de su pequeño tamaño, la carga total de MPs al día que esta planta supone, es muy inferior. Definitivamente, los datos obtenidos son realmente inferiores a otros estudios, como el de Wang et al. (2020), donde también se calcularon las emisiones de MPs per cápita, resultando en 428 MPs/cápita/día, para una población de 494 H.E., lo que es una cifra intermedia entre las dos poblaciones estudiadas en esta investigación. Estas variaciones, pueden deberse a las distintas formas de consumo de las diferentes sociedades estudiadas.

8.2 Muestras de fango.

8.2.1 Carrícola.

Para el estudio de los MPs del fango en Carrícola, se distinguió entre fango en gravas y fango en raíces. Con esto se buscaba poder comparar en que estrato se moverían más los MPs, y se hipotetizó a cerca de que el entramado de raíces formado por las plantas del humedal pudiera tener un efecto de retención en ellos. Por lo que se encontraría una concentración mayor en el fango recogido de las raíces que en el de las gravas.

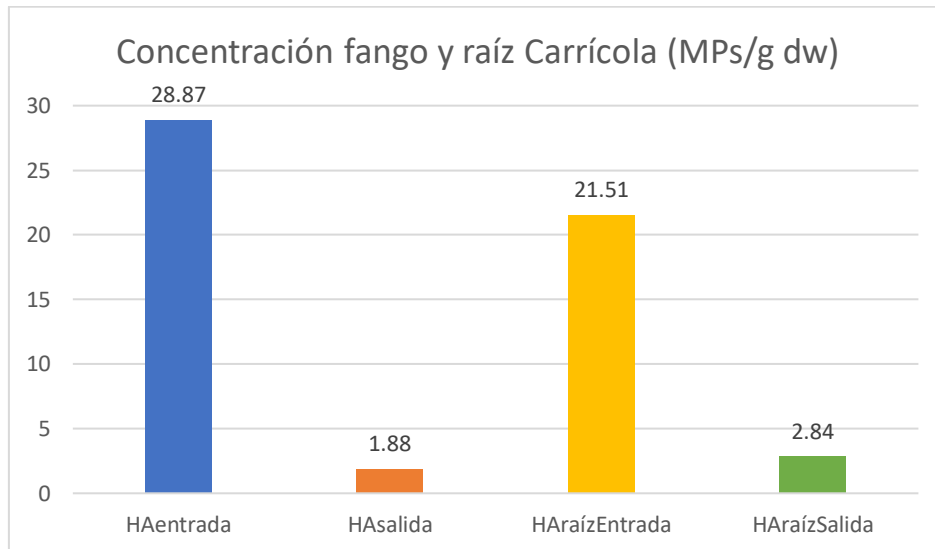


Figura 43. Concentraciones medidas en el Fango de Carrícola, medidas en MPs por gramo seco de fango. HAEntrada para muestra media de fango en grava al inicio de los humedales; HASalida para muestra media de fango en grava a la salida de los humedales; HAraízEntrada para muestra media de fango en raíz al inicio de los humedales; HAraízSalida para muestra media de fango en raíz al inicio de los humedales.

Como se puede comprobar en la Figura 43, la hipótesis inicial no fue acertada en la entrada. Comparando ambas entradas, el fango de grava tuvo mayor concentración de MPs por gramo seco de fango, puede ser por facilidad de flujo por la parte inferior de las raíces por lo que se arrastran más MPs a esa zona. Sin embargo, en la zona final si se puede comprobar que el efecto de las raíces fue bastante positivo como última filtración, por lo que aquí sí se cumple la hipótesis. Hay que tener en cuenta que, la diferencia de concentración en la entrada es de 1.34 veces mayor para el fango de grava frente al de raíz, mientras que, a la salida la concentración en el fango de raíz es 1.51 veces mayor que el fango de gravas, por lo que cobra una relevancia considerable. Cabe destacar que, las concentraciones halladas en este estudio, en el fango, son considerablemente superiores a las de otros estudios de raíz (Yin et al., 2021; Duan et al., 2021), que reportaban cantidades de 4 MPs/g y 5.11 ± 2.95 MPs/g de fango seco respectivamente, aunque dichos estudios se realizaron en medio natural, que probablemente esté menos contaminado. Sin embargo, las concentraciones en la salida, sí que se asemejan a las encontradas en medio natural en estos estudios, llegando a ser incluso inferiores. No se han encontrado estudios de evaluación de MPs en diferentes puntos del medio filtrante de HAs.

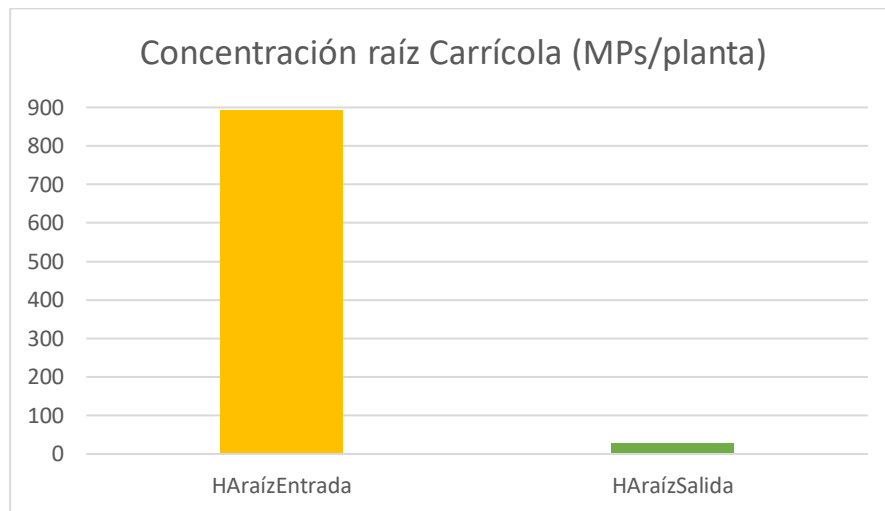


Figura 44. Concentración en fango de raíz de Carrícola expresado como MPs por planta.

De forma suplementaria, se incluyen para las muestras de raíces las concentraciones expresadas en MPs por planta (Figura 44), que en este caso se consideró una por muestra, como ya se comentó, y las concentraciones de MPs por gramo de raíz seca (Figura 45), debido a que hay otros estudios que han utilizado anteriormente estas valoraciones.

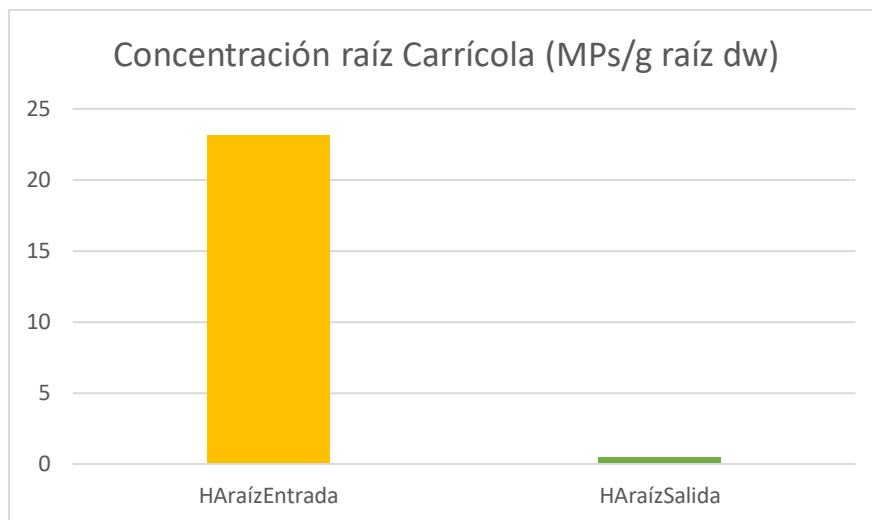


Figura 45. Concentración en fango de raíz de Carrícola expresado como MPs por gramo de raíz seca.

Finalmente se muestra una comparativa (Figura 46), al igual que en las concentraciones en agua residual, entre las concentraciones tomadas al estereomicroscopio y las tomadas por el FTIR, se podría concluir de la misma manera que con las anteriores, a pesar de que la diferencia inicial fue algo mayor, para los puntos de muestreo siguientes fue muy aproximada, con lo cual se pueden dar por válidos los resultados obtenidos con el método de examinación visual.

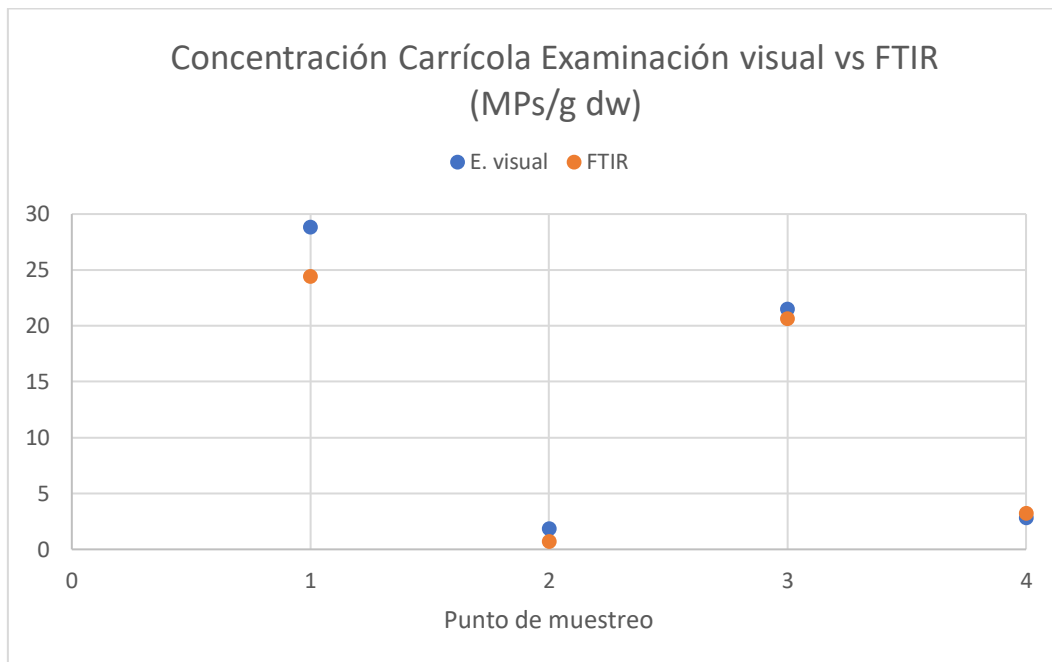


Figura 46. Comparación entre la contabilización realizada con estereomicroscopio y FTIR para los fangos de Carrícola. Punto 1 coincide con HAentrada; punto 2 para HASalida; punto 3 para HAraízEntrada; punto 4 para HAraízSalida.

8.2.2 *Monasterios.*

Para el caso de Monasterios se actuó de forma diferente, en este caso se tomó fango del reactor mientras se aireaba, y de igual manera se tomaron raíces de las macrófitas en flotación. En la Figura 47 se puede apreciar la alta diferencia, más del doble, que existe entre las concentraciones medidas en el fango de raíces y el fango suspendido en el biorreactor. Esta diferencia es muy positiva ya que puede ocurrir que se esté reduciendo la cantidad de MPs en los fangos gracias a la retención por parte de las macrófitas, lo que aliviaría la cantidad de MPs que salen de las plantas de tratamiento junto con el fango, a parte de otros beneficios adicionales que aportan las macrófitas en el reactor.

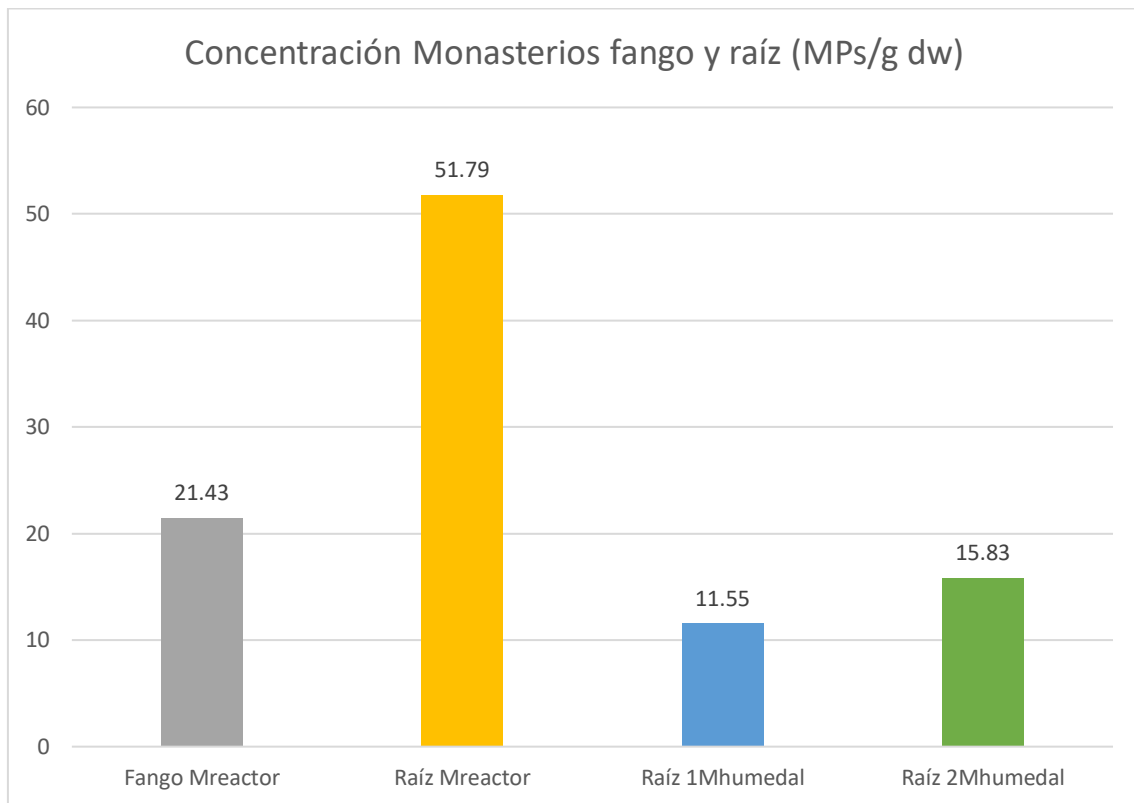


Figura 47. Concentraciones medidas en el fango de Monasterios para los distintos puntos de muestreo. FangoMreactor para fango libre del reactor; RaízMreactor para el fango obtenido de las raíces del biorreactor; Raíz1Mhumedal para el fango de las raíces de la entrada al humedal de flotantes; Raíz2Mhumedal para el fango tomado de las raíces de otro punto de entrada de agua al humedal de flotantes.

Por otro lado, para el HA con macrófitas en flotación, se tomaron muestras en dos entradas, una en cada esquina del humedal. Adicionalmente, se puede señalar que las concentraciones en el fango son ampliamente superiores a las del agua residual a la entrada de los HA, debido a un efecto de acumulación por el mayor tiempo de retención de los fangos. Para comparar concentraciones se usa una concentración típica para el fango biológico de oxidación total de 4 g/L (Jenkins et al., 2003). De esta forma, se pueden comparar los 4.37 MPs/L de agua residual que llegan al HA con las concentraciones que las raíces son capaces de contener y así poder comprobar la contribución que están ejerciendo, siendo las concentraciones de 10 y 15 veces mayores a las del agua de entrada. En el efluente, la concentración de Monasterios es muy próxima a 0, estos plásticos que quedan sujetos a las raíces tienen un tiempo de retención significativo, siendo esto positivo a la hora de su degradación.

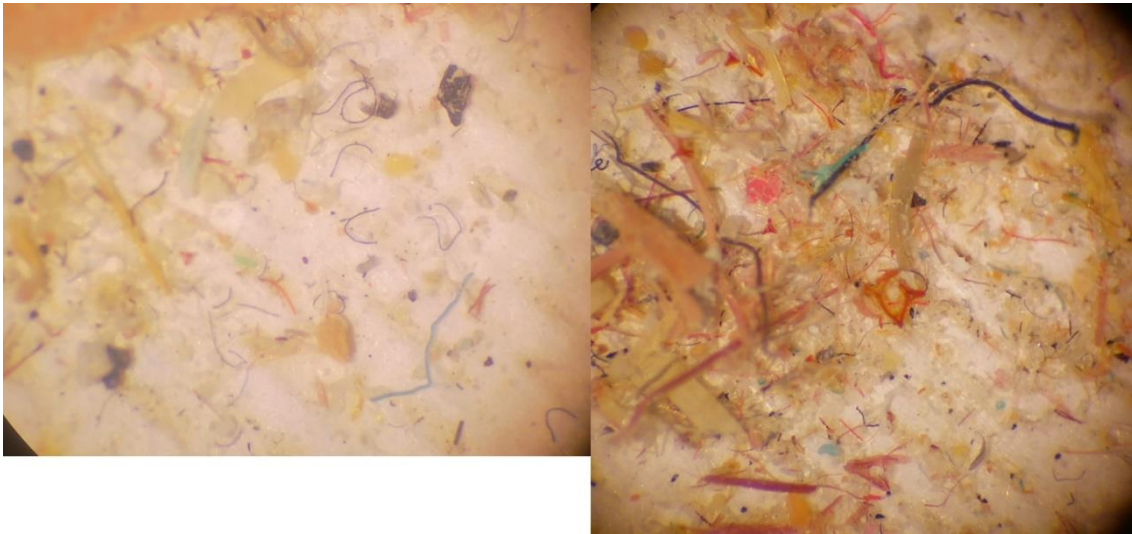


Figura 48. Muestras de fango vistas al estereomicroscopio. Presentan alta carga de microplásticos y materia.

Finalmente, se ha comparado con los resultados encontrados en otros estudios que se centraban en los MPs encontrados en el fango de EDARs convencionales, como ya se comentó, no hay estudios en fango de HAs hasta el momento. Dentro de las investigaciones realizadas, existe un amplio rango de resultados, también dependiendo de la población a la que sirve cada una de las plantas de tratamiento estudiadas. Así como Magni et al. (2019), o Liu et al. (2019), notifican valores de 113 ± 57 MPs/g de fango seco y 240.3 ± 31.4 MPs/g de fango seco respectivamente, unos valores superiores a los calculados en este estudio, otras investigaciones como las de Li et al. (2018), en el que se estudiaron 79 muestras de fango, recolectadas en 28 EDARs distintas, reportan resultados que varían entre 1.6 y 56.4 MPs/g de fango seco, unos valores que se alinean más con los resultados obtenidos. Cabe destacar, que el tamaño de todas las plantas estudiadas variaba enormemente, y en su totalidad eran plantas que servían a una población muy superior a la de las localizaciones estudiadas. Sin embargo, en el sedimento de los HA la concentración puede llegar a ser mucho mayor que la del fango de EDARs convencionales, entre otras cosas debido al elevado tiempo de retención de MPs que presentan, además de la gran capacidad filtrante que ofrecen los HA por la que mayor cantidad de MPs se almacenan en ellos, por lo que se obtenían filtros colmatados por materia y MPs, tal y como se aprecia en la Figura 48.

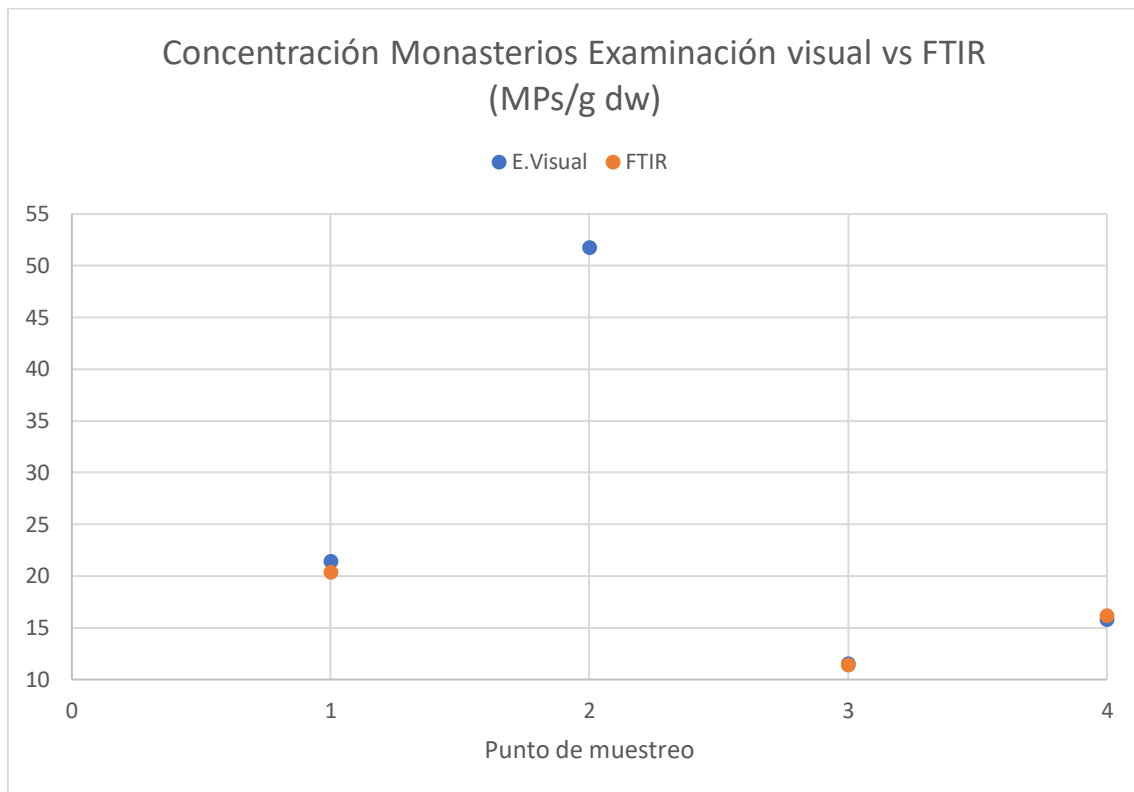


Figura 49. Comparación entre la contabilización realizada con estereomicroscopio y FTIR para los fangos de Monasterios. Punto 1 coincide con FangoMreactor; Punto 2 coincide con RaízMreactor; Punto 3 coincide con Raíz1Mhumedal; Punto 4 coincide con Raíz2Mhumedal.

En esta ocasión los datos, como se puede comparar en la Figura 49, fueron prácticamente idénticos entre la examinación visual en estereomicroscopio realizada en el laboratorio, con la ayuda en ocasiones de la aguja caliente, y los resultados obtenidos mediante el FTIR en la Universidad de Gante.

8.3 Degradación en los microplásticos.

Generalmente los plásticos presentan una superficie lisa y uniforme, tras esta premisa se buscan signos de degradación comparando plásticos a la entrada y la salida de los HA. Al pasar por el sustrato, los MPs experimentan transformaciones que les causan agujeros a los films (Figura 50), grietas, escamas y agujeros a las partículas (Figura 50), así como roturas y distorsiones en las fibras, formando nudos con ellas mismas (Figura 51).

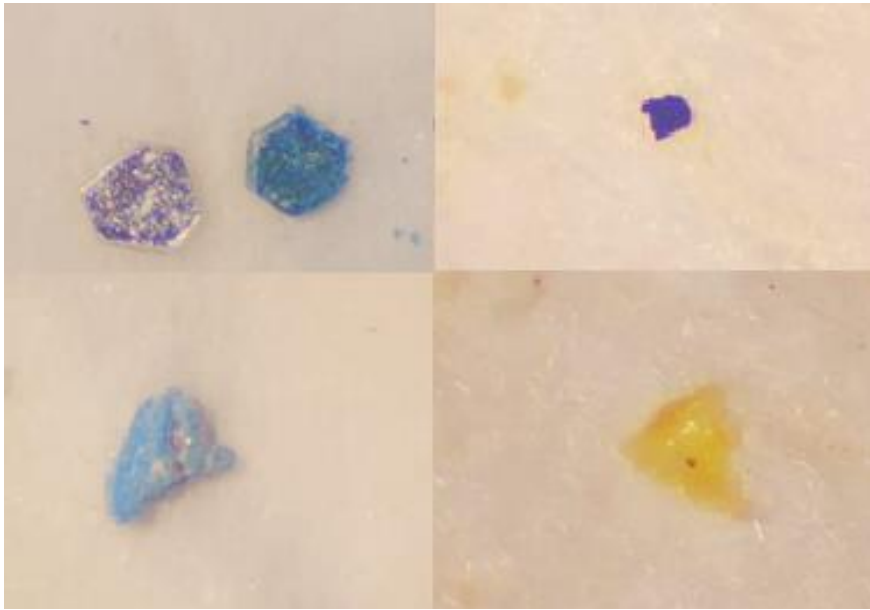


Figura 50. Distintas partículas y film que presentan símbolos de degradación en muestras posteriores a los humedales artificiales.

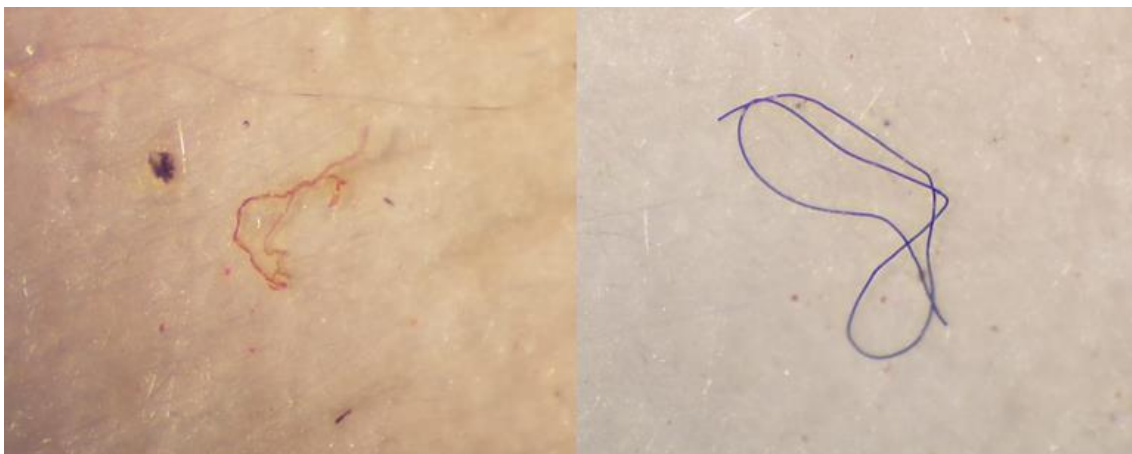


Figura 51. Fibras desgastadas (izquierda) y enredadas (derecha) tras su paso por los humedales artificiales.

Como se presentó en la Figura 36, se observaron colonias de microorganismos asentadas en la superficie de los plásticos, que pueden provocar cambios morfológicos debido a un proceso de degradación (Chen et al., 2021). Además, como se mencionaba anteriormente, las fibras son propicias a enredarse consigo mismas e incluso con otras fibras a lo largo de su paso por los HA, lo cual, a pesar de dificultar en gran medida su contabilización, es positivo porque ayuda a mejorar su retención en las gravas del humedal y a sedimentar al crecer su densidad y superficie. Algunos ejemplos de estas marañas que se han descubierto durante el estudio se pueden ver en la Figura 52.

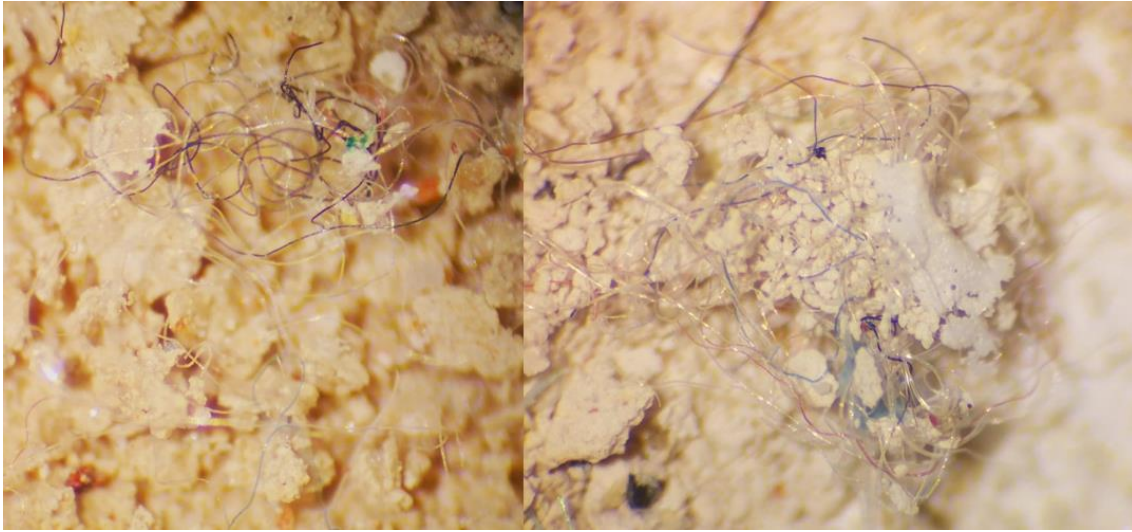


Figura 52. Ejemplo de marañas de fibras encontradas en las muestras de fango.

9 Resumen y conclusiones.

A partir de lo expuesto durante el estudio realizado, se sacan las siguientes conclusiones:

- Los HA, bien como tratamiento secundario en EDARs de pequeñas poblaciones, o bien como tratamiento terciario en EDARs de mayor tamaño, pueden contribuir a reducir las emisiones de MPs hacia las aguas superficiales de manera significativa.
- Se ha visto una intervención positiva en el desempeño de las raíces para captar mayor cantidad de MPs, tanto en HA contruidos como introduciendo macrófitas en flotación en el biorreactor. Por tanto, es importante mantener una adecuada densidad de vegetación en los humedales contruidos y es de gran interés instalar macrófitas en flotación en los reactores biológicos de EDARs de fangos activados, ya que éstas pueden contribuir significativamente a retener mayor cantidad de MPs.
- Los MPs muestran símbolos de degradación tras cruzar los HA, lo cual puede significar un refuerzo positivo en cuanto a su potencial para favorecer la descomposición de los plásticos que llegan al medio natural.
- No se pudo concretar una relación fuerte entre MPs y los sólidos suspendidos totales. Por tanto, sería necesario obtener más datos para poder llegar a utilizar los SST como indicador fiable de la abundancia de MPs.
- Gracias a los indicadores per cápita podemos ver la gran cantidad de MPs que se libera al medio, aun siendo los HA unos buenos filtros para su captación. Por tanto, disponer de una zona o celda final con un material filtrante más fino, podría ayudar a reducir todavía más las emisiones de MPs y favorecer su biodegradación.
- Es necesaria una estandarización internacional de la metodología para el procesamiento de los distintos tipos de muestra, ya que se ha observado una gran variabilidad en los métodos utilizados por los distintos estudios. Ello permitiría una mejor comparabilidad de los datos entre estudios.
- Se observó una disminución en el tamaño a su paso por ambas plantas de tratamiento estudiadas, lo cual puede indicar una mayor eficiencia de retención de los MPs de mayor tamaño o bien una fragmentación de los MPs en el interior de los humedales.
- En cuanto a la forma, no se aprecia una distribución porcentual diferente entre la entrada y la salida, lo que puede deberse a la gran mayoría de fibras existentes. Sin embargo, sí que se aprecia una retención total de las partículas en los HA, siendo nula su concentración en el efluente final de ambas EDARs.

10 Bibliografía.

- Akhbarizadeh, R., Moore, F., Keshavarzi, B., 2019. Investigating microplastics bioaccumulation and biomagnification in seafood from the Persian Gulf: a threat to human health? *Food Addit. Contaminants - A Chem. Anal. Control Expos. Risk Assess.* 36 (11), 1696–1708.
- Andrady, A. L. & Neal, M. A., 2009. Applications and societal benefits of plastics. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364, 1977–1984.
- Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philos. Trans. R. Soc., B* 364, 1985–1998.
- Bayo, J., Olmos, S., López-Castellanos, J., & Alcolea, A., 2016. Microplastics and microfibers in the sludge of a municipal wastewater treatment plant. *International Journal of Sustainable Development and Planning*, 11(5), 812-821.
- Boucher, J., Friot, D., 2017. *Primary Microplastics in the Oceans: A Global Evaluation of Sources*. IUCN, Gland, Switzerland.
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., & Thompson, R., 2011. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. *Environmental science & technology*, 45(21), 9175-9179.
- Carpenter, E.J., Smith, K.L., 1972. Plastics on the Sargasson sea surface. *Science* 175 (4027), 1240–1241.
- Cesa, F. S., Turra, A., & Baroque-Ramos, J., 2017. Synthetic fibers as microplastics in the marine environment: a review from textile perspective with a focus on domestic washings. *Science of the total environment*, 598, 1116-1129.
- Chen, Y., Li, T., Hu, H., Ao, H., Xiong, X., Shi, H., & Wu, C., 2021. Transport and fate of microplastics in constructed wetlands: A microcosm study. *Journal of Hazardous Materials*, 415, 125615.
- Conley, K., Clum, A., Deepe, J., Lane, H., & Beckingham, B., 2019. Wastewater treatment plants as a source of microplastics to an urban estuary: Removal efficiencies and loading per capita over one year. *Water research X*, 3, 100030.
- Correia Prata, Joana, 2018. Microplastics in wastewater: state of the knowledge on sources, fate and solutions. *Mar. Pollut. Bull.* 129 (1).
- de Souza Machado, A. A., Lau, C. W., Kloas, W., Bergmann, J., Bachelier, J. B., Faltin, E., Becker, R., Görlich, A. S., & Rillig, M. C., 2019. Microplastics can change soil properties and affect plant performance. *Environmental science & technology*, 53(10), 6044-6052.
- De Witte, B.; Devriese, L.; Bekaert, K.; Hoffman, S.; Vandermeersch, G.; Cooreman, K.; Robbens, K., 2014 – Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1):146-155.
- Du, H., Xie, Y., & Wang, J., 2021. Microplastic degradation methods and corresponding degradation mechanism: Research status and future perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, 418, 126377.

- Duan, J., Han, J., Cheung, S. G., Chong, R. K. Y., Lo, C. M., Lee, F. W. F., Xu, S. J., Yang, Y., Tam, N. F., & Zhou, H. C., 2021. How mangrove plants affect microplastic distribution in sediments of coastal wetlands: Case study in Shenzhen Bay, South China. *Science of the Total Environment*, 767, 144695.
- Good, T.P., June, J.A., Etnier, M.A., Broadhurst, G., 2010. Derelict fishing nets in Puget Sound and the Northwest Straits: patterns and threats to marine fauna. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 39–50.
- Hernández-Arenas, R., Beltrán-Sanahuja, A., Navarro-Quirant, P., & Sanz-Lazaro, C., 2021. The effect of sewage sludge containing microplastics on growth and fruit development of tomato plants. *Environmental Pollution*, 268, 115779.
- Hernández-Crespo, C., Gargallo, S., Benedito-Durá, V., Nácher-Rodríguez, B., Rodrigo-Alacreu, M. A., & Martín, M., 2017. Performance of surface and subsurface flow constructed wetlands treating eutrophic waters. *Science of the Total Environment*, 595, 584-593.
- Hernández-Crespo, C., Oliver Rajadel, N., Peña, M., Añó-Soto, M., Martín Monerris, M., 2022. Valorisation of drinking water treatment sludge as substrate in subsurface flow constructed wetlands for upgrading treated wastewater. *Process Safety and Environmental Protection* (158)486 - 494.
- Hernández-Crespo, C., Fernández-Gonzalvo, M. I., Miglio, R. M., & Martín, M., 2022. Escherichia coli removal in a treatment wetland-pond system: A mathematical modelling experience. *Science of The Total Environment*, 156237.
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M., 2012. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environmental science & technology*, 46(6), 3060-3075.
- Jabeen, K., Su, L., Li, J., Yang, D., Tong, C., Mu, J., & Shi, H., 2017. Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of China. *Environmental Pollution*, 221, 141-149.
- Jenkins, D., Richard, M. G., & Daigger, G. T., 2003. *Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems*. Crc Press.
- Jiang, X., Chen, H., Liao, Y., Ye, Z., Li, M., & Klobučar, G., 2019. Ecotoxicity and genotoxicity of polystyrene microplastics on higher plant *Vicia faba*. *Environmental Pollution*, 250, 831-838.
- Leslie, H. A., Van Velzen, M. J., Brandsma, S. H., Vethaak, A. D., Garcia-Vallejo, J. J., & Lamoree, M. H., 2022. Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment international*, 163, 107199.
- Li, W. C., Tse, H. F., & Fok, L., 2016. Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Science of the total environment*, 566, 333-349.
- Li, X., Chen, L., Mei, Q., Dong, B., Dai, X., Ding, G., & Zeng, E. Y., 2018. Microplastics in sewage sludge from the wastewater treatment plants in China. *Water research*, 142, 75-85.
- Li, J., Song, Y., Cai, Y., 2020. Focus topics on microplastics in soil: analytical methods, occurrence, transport, and ecological risks. *Environ. Pollut.* 257, 113570.

- Li, Q., Long, Z., Wang, H., & Zhang, G., 2021. Functions of constructed wetland animals in water environment protection—A critical review. *Science of The Total Environment*, 760, 144038.
- Liu, X., Yuan, W., Di, M., Li, Z., & Wang, J., 2019. Transfer and fate of microplastics during the conventional activated sludge process in one wastewater treatment plant of China. *Chemical Engineering Journal*, 362, 176-182.
- Long, Y., Zhou, Z., Yin, L., Wen, X., Xiao, R., Du, L., Zhu, L., Liu, R., Xu, Q., Li, H., Nan, R. & Yan, S., 2022. Microplastics removal and characteristics of constructed wetlands WWTPs in rural area of Changsha, China: A different situation from urban WWTPs. *Science of The Total Environment*, 811, 152352.
- Lu, Y., Zhang, Y., Deng, Y., Jiang, W., Zhao, Y., Geng, J., Ding, L., Ren, H., 2016. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver, *Environ. Sci. Technol.* 50, 4054.
- Luna, V., y Aburto, S., 2014. Sistema de humedales artificiales para el control de la eutroficación del lago del Bosque de San Juan de Aragón. *TIP*, 17(1), 32-55.
- Lwanga, E. H., Thapa, B., Yang, X., Gertsen, H., Salánki, T., Geissen, V., & Garbeva, P., 2018. Decay of low-density polyethylene by bacteria extracted from earthworm's guts: A potential for soil restoration. *Science of the Total Environment*, 624, 753-757.
- Magni, S., Binelli, A., Pittura, L., Avio, C. G., Della Torre, C., Parenti, C. C., Gorbi, S., & Regoli, F., 2019. The fate of microplastics in an Italian Wastewater Treatment Plant. *Science of the total environment*, 652, 602-610.
- Mariño Salguero, C. E., 2021. Evaluación de la eficiencia de desinfección de los humedales artificiales de la estación depuradora de aguas residuales de Carrícola (Valencia).
- Morón, E., 2018. Determinación de la constante cinética para el diseño de sistemas de tratamiento biológico.
- Munno, K., Helm, P. A., Jackson, D. A., Rochman, C., & Sims, A., 2018. Impacts of temperature and selected chemical digestion methods on microplastic particles. *Environmental toxicology and chemistry*, 37(1), 91-98.
- Napper, I.E., Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2015. Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Mar. Pollut. Bull.* 99 (1), 178e185.
- Nguyen, X.C., Chang, S.W., Nguyen, T.L., Ngo, H.H., Kumar, G., Banu, J.R., Vu, M.C., Le, H.S., Nguyen, D.D., 2018. A hybrid constructed wetland for organic-material and nutrient removal from sewage: process performance and multi-kinetic models. *J. Environ. Manag.* 222, 378–384.
- Nguyen, B., Claveau-Mallet, D., Hernandez, LM., Xu, EG., Farner, JM., Tufenkji, N., 2019. Separation and analysis of microplastics and nanoplastics in complex environmental samples. *Acc Chem Res* 52:858-866
- Nizzetto, L., Futter, M., & Langaas, S., 2016. Are agricultural soils dumps for microplastics of urban origin?

- O'Connor, D., Pan, S., Shen, Z., Song, Y., Jin, Y., Wu, W. M., & Hou, D., 2019. Microplastics undergo accelerated vertical migration in sand soil due to small size and wet-dry cycles. *Environmental Pollution*, 249, 527-534.
- Prata, J. C., 2018. Microplastics in wastewater: State of the knowledge on sources, fate and solutions. *Marine pollution bulletin*, 129(1), 262-265.
- Prata, J. C., da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T., 2019. Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment: a critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110, 150-159.
- Rillig, M. C., Ziersch, L., & Hempel, S., 2017. Microplastic transport in soil by earthworms. *Scientific reports*, 7(1), 1-6.
- Rousseau, D. P., Lesage, E., Story, A., Vanrolleghem, P. A., & De Pauw, N., 2008. Constructed wetlands for water reclamation. *Desalination*, 218(1-3), 181-189.
- Sarkar, D.J., Das Sarkar, S., Mukherjee, S., Das, B.K., 2020. Impact and Fate of Microplastics in the Riverine Ecosystem. In: *Contaminants in Drinking and Wastewater Sources*. Springer, Singapore, pp. 95–115.
- Sarkar, D. J., Sarkar, S. D., Das, B. K., Sahoo, B. K., Das, A., Nag, S. K., Manna, R. K., Behera, B. K., & Samanta, S., 2021. Occurrence, fate and removal of microplastics as heavy metal vector in natural wastewater treatment wetland system. *Water Research*, 192, 116853.
- Sheavly, S.B., Register, K.M., 2007. Marine debris & plastics: environmental concerns, sources, impacts and solutions. *J. Polym. Environ.* 15, 301–305.
- Silva, A. B., Bastos, A. S., Justino, C. I. L., da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. A. P., 2018. Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry – A review. *Analytica Chimica Acta*, 1017, 1-19.
- Sun, J., Dai, X., Wang, Q., van Loosdrecht, M. C., & Ni, B. J., 2019. Microplastics in wastewater treatment plants: Detection, occurrence and removal. *Water research*, 152, 21-37.
- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W., McGonigle, D., Russell, A.E., 2004. Lost at sea: where is all the plastic? *Science*. 304, 838–839.
- Thompson, R. C., Swan, S. H., Moore, C. J., & Vom Saal, F. S., 2009. Our plastic age.
- van den Berg, P., Huerta-Lwanga, E., Corradini, F., & Geissen, V., 2020. Sewage sludge application as a vehicle for microplastics in eastern Spanish agricultural soils. *Environmental Pollution*, 261, 114198.
- Vymazal, J., 2010. Constructed wetlands for wastewater treatment. *Water* 190 (3), 69–96.
- Vymazal, J., 2011. Constructed wetlands for wastewater treatment: five decades of experience. *Environmental science & technology*, 45(1), 61-69.
- Wang, W., Ge, J., & Yu, X., 2019. Bioavailability and toxicity of microplastics to fish species: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, (November), 109913.

- Wang, Q., Hernández-Crespo, C., Santoni, M., Van Hulle, S., & Rousseau, D. P., 2020. Horizontal subsurface flow constructed wetlands as tertiary treatment: Can they be an efficient barrier for microplastics pollution? *Science of the Total Environment*, 721, 137785.
- Wei, S., Luo, H., Zou, J., Chen, J., Pan, X., Rousseau, D. P., & Li, J., 2020. Characteristics and removal of microplastics in rural domestic wastewater treatment facilities of China. *Science of the Total Environment*, 739, 139935.
- White, S. A., 2013. Wetland technologies for nursery and greenhouse compliance with nutrient regulations. *HortScience*, 48(9), 1103-1108.
- Xu, Q., Gao, Y., Xu, L., Shi, W., Wang, F., LeBlanc, G. A., Cui, S., An, L., Lei, K., 2020. Investigation of the microplastics profile in sludge from China's largest Water reclamation plant using a feasible isolation device. *Journal of Hazardous Materials*, 388, 122067.
- Yang, X., He, Q., Guo, F., Sun, X., Zhang, J., Chen, M., Vymazal, J., & Chen, Y., 2020. Nanoplastics disturb nitrogen removal in constructed wetlands: Responses of microbes and macrophytes. *Environmental science & technology*, 54(21), 14007-14016.
- Yin, L., Wen, X., Huang, D., Zeng, G., Deng, R., Liu, R., Zhou, Z., Tao, J., Xiao, R., & Pan, H., 2021. Microplastics retention by reeds in freshwater environment. *Science of The Total Environment*, 148200.
- Yuan, J., Ma, J., Sun, Y., Zhou, T., Zhao, Y., & Yu, F., 2020. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics. *Science of the Total Environment*, 715, 136968.
- Zhou, M., Wang, R., Cheng, S., Xu, Y., Luo, S., Zhang, Y., & Kong, L., 2021. Bibliometrics and visualization analysis regarding research on the development of microplastics. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-15.
- Zhou, X., Zhao, Y., Pang, G., Jia, X., Song, Y., Guo, A., Wang, A., Zhang, S. & Ji, M., 2022. Microplastic abundance, characteristics and removal in large-scale multi-stage constructed wetlands for effluent polishing in northern China. *Chemical Engineering Journal*, 430, 132752.
- Ziajahromi, S., Neale, P. A., Rintoul, L., & Leusch, F. D., 2017. Wastewater treatment plants as a pathway for microplastics: development of a new approach to sample wastewater-based microplastics. *Water research*, 112, 93-99.
- Ziajahromi, S., Drapper, D., Hornbuckle, A., Rintoul, L., & Leusch, F. D., 2020. Microplastic pollution in a stormwater floating treatment wetland: Detection of tyre particles in sediment. *Science of the Total Environment*, 713, 136356.