

## ATENUACIÓN DE CONTAMINANTES DE PREOCUPACIÓN EMERGENTE Y MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN LA ZONA NO SATURADA: FILTROS VERDES Y EFECTO DE ENMIENDAS

V. Martínez-Hernández<sup>1\*</sup>, R. Meffe<sup>1</sup>, I. López-Heras<sup>1</sup>, J.A. Hernández-Martín<sup>1</sup>, C. Alonso-Alonso<sup>1</sup>, B. Huidobro<sup>1</sup>, A. de Santiago-Martín<sup>1</sup>, I. Martín<sup>4</sup>, G. Teijón-Ávila<sup>1</sup>, R. Pradana<sup>1</sup>, I. de Bustamante<sup>2&1</sup>, L. Nozal<sup>1&3</sup>, M. Leal<sup>5</sup>, F. Carreño<sup>5&1</sup>, J. Lillo<sup>5&1</sup>, J.J. Salas<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instituto IMDEA Agua Avda Punto Com, 2 28805 Alcalá de Henares (Madrid). [virtudes.martinez@imdea.org](mailto:virtudes.martinez@imdea.org), [isabel.lopez@imdea.org](mailto:isabel.lopez@imdea.org), [covadonga.alonso@imdea.org](mailto:covadonga.alonso@imdea.org), [blanca.huidobro@imdea.org](mailto:blanca.huidobro@imdea.org), [raffaella.meffe@imdea.org](mailto:raffaella.meffe@imdea.org), [ana.desantiago@imdea.org](mailto:ana.desantiago@imdea.org), [gloria.teijon@imdea.org](mailto:gloria.teijon@imdea.org), [raul.pradana@imdea.org](mailto:raul.pradana@imdea.org) (<https://www.soilwaterquality.es/>)

<sup>2</sup> Departamento de Geología, Geografía y Medio Ambiente. 28802. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares (Madrid). [irene.bustamante@uah.es](mailto:irene.bustamante@uah.es) ([www3.uah.es/filtrosverdes/](http://www3.uah.es/filtrosverdes/))

<sup>3</sup> Centro de Química Aplicada y Biotecnología (CQAB). Ctra. Madrid-Barcelona (A-2), Km 33, 28871. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares (Madrid). [leonor.nozal@uah.es](mailto:leonor.nozal@uah.es)

<sup>4</sup> Fundación Centro de Nuevas Tecnologías del Agua (CENTA), Autovía Sevilla-Huelva (A-49), Km. 28, 41820. Carrión de los Céspedes (Sevilla). [imartin@centa.es](mailto:imartin@centa.es), [jjsalas@centa.es](mailto:jjsalas@centa.es)

<sup>5</sup> Departamento de Biología y Geología, Física y Química Inorgánica. Campus de Móstoles. Universidad Rey Juan Carlos. Móstoles (Madrid). [maria.leal@urjc.es](mailto:maria.leal@urjc.es), [francisco.carreño@urjc.es](mailto:francisco.carreño@urjc.es), [javier.lillo@urjc.es](mailto:javier.lillo@urjc.es)

**RESUMEN.** Los filtros verdes (FVs) utilizan la zona no saturada (ZNS) como agente depurador de aguas residuales aprovechando procesos naturales que ocurren en el conjunto suelo-planta-microorganismos. En el presente trabajo se analiza la atenuación de contaminantes de preocupación emergente (CPEs) y microorganismos patógenos en FVs. Además, se ha estudiado a escala laboratorio el efecto de dos enmiendas (astillas de madera y biochar) incorporadas al suelo como medida de mejora de la capacidad de tratamiento de CPEs. Los resultados demuestran que tanto para CPEs como *E.coli* existe una reducción de las concentraciones en el agua durante la infiltración a través de la ZNS. Los antiinflamatorios naproxeno y ketoprofeno son los CPEs que presentan una mayor persistencia. El uso de una enmienda de biochar en el suelo mejora la capacidad de tratamiento de los CPEs estudiados, siendo el naproxeno y el ketoprofeno los compuestos que presentan diferencias significativas.

**ABSTRACT.** Vegetation filters (VFs) use the vadose zone to treat wastewater by taking advantages of the processes that occur naturally during infiltration. In this paper, we analyze the attenuation of contaminants of emerging concern (CECs) and pathogenic microorganisms in VFs. In addition, two soil amendments (woodchips and biochar) have been tested as a measure to improve the treatment capacity of the CECs at laboratory scale. The results show that the concentration of both, CECs and *E. coli* decreases in the water during the infiltration through the vadose zone. The anti-inflammatories naproxen and ketoprofen present the higher persistence. The use of biochar as soil amendment improves the treatment capacity of the selected CECs, with naproxen and ketoprofen being the compounds that present significant differences.

### 1.- Introducción

Los Filtros Verdes (FVs) son plantaciones arbóreas, dimensionadas en función del caudal a tratar, que se riegan generalmente con agua residual pretratada. El agua, al infiltrarse a través de la zona no saturada (ZNS), se depura aprovechando los procesos naturales que ocurren en el conjunto suelo-planta-microorganismos. Esta técnica presenta numerosas ventajas: la regeneración del efluente, la reutilización del agua (para riegos, recarga de acuíferos y producción de biomasa), la mejora paisajística, la creación de nichos ecológicos, la mitigación de los efectos del cambio climático (fijación de carbono atmosférico) y su bajo coste de instalación y mantenimiento.

Sin embargo, los FVs también pueden introducir en el medio ambiente contaminantes presentes en los efluentes que no están regulados en la actual legislación de vertidos de aguas residuales urbanas. Uno de los retos a los que se enfrentan los FVs es la potencial lixiviación de contaminantes de preocupación emergente (CPEs) y de microorganismos patógenos hacia el acuífero subyacente. Por ello, se hace indispensable el control y el seguimiento de la calidad del agua durante la infiltración tanto a su paso por la ZNS como a su llegada a la zona saturada.

A pesar de que el uso del terreno como agente depurador de aguas residuales es una práctica muy antigua, pocos son los estudios que han analizado el comportamiento de CPEs durante la infiltración (McEachran *et al.*, 2016 y 2017, Karnjanapiboonwong *et al.*, 2011 y Martínez-Hernández *et al.*, 2018). En estos sistemas, la calidad del agua residual a tratar, las propiedades del suelo y las condiciones climáticas son factores que afectan a la calidad del agua final. Para poder asegurar la eficacia del tratamiento es fundamental disponer de un conjunto de datos que ayuden a entender los procesos que afectan a la atenuación de CPEs en estos sistemas.

La infiltración de microorganismos, que afectan a la salud pública, a través del suelo puede implicar la aparición de estos contaminantes en las aguas superficiales por movimientos de agua sub-superficiales, en las aguas subterráneas en acuíferos someros y limitar

su uso para agua de abastecimiento (WHO, 2016; IWA, 2006). La capacidad de tratamiento de los FVs no se encuentra bien estudiada para este tipo de contaminantes y sólo algunos artículos abordan el tema, sobre todo a escala de laboratorio (Engström *et al.* 2014; Madumathi *et al.* 2017).

Para mejorar la capacidad de tratamiento de los FVs, es necesario favorecer los procesos de atenuación de los contaminantes. El empleo de enmiendas que se incorporen al suelo y potencien la biodegradación y la adsorción podría implicar esta mejora. La adición de materia orgánica, con alta relación C/N, que complemente lo aportado en el agua residual urbana, estimula la actividad microbiana. Este es el caso de las astillas de madera, cuya incorporación al suelo mejora los procesos de desnitrificación y la eliminación del nitrato (Meffe *et al.* 2016). Por otro lado, el uso de enmiendas que incrementen la superficie de adsorción en el suelo también podría ayudar a la eliminación de CPEs y de microorganismos patógenos del agua.

En este contexto surge el proyecto FILVER+, que tiene como objetivo el desarrollo de un filtro verde enmendado (FVE) que actúe como tratamiento secundario y terciario de aguas residuales, maximizando la eliminación de nutrientes, CPEs y microorganismos patógenos. Las enmiendas a evaluar son materiales de bajo coste y fácil adquisición que proceden del propio FV. Su empleo para la mejora del tratamiento del agua residual en FVs se alinea con el concepto de economía circular y del uso sostenible de recursos.

Los objetivos de este estudio son: i) determinar el comportamiento de 5 CPEs durante la infiltración a través de la ZNS de 2 FVs; ii) determinar el grado de eliminación de microorganismos patógenos (*E.coli* y huevos de helmintos intestinales) en uno de los FVs y iii) evaluar a escala de laboratorio el efecto de la adición de dos enmiendas en la atenuación de los CPEs.

## 2.- Metodología

En el presente trabajo se comparan los resultados obtenidos en términos de capacidad de tratamiento de CPEs en dos FVs instalados en dos ubicaciones: IMDEA-Agua en Alcalá de Henares (Madrid) y CENTA en Carrión de los Céspedes (Sevilla). Para el FV de CENTA también se presentan los datos de eliminación de *E. coli* y huevos de helmintos intestinales. Ambos sistemas, con una densidad de plantación de 10.000 chopos por hectárea reciben aguas residuales pretratadas mediante un tanque Imhoff. El suelo fue nivelado previamente y se excavaron los surcos con una pendiente de aproximadamente un 3% que permite la llegada del agua al final de los mismos. Cada FV está dividido en surcos (5 en IMDEA y 10 en CENTA) donde se aplica el agua de riego por inundación. En el caso de CENTA el riego se realiza por gravedad según se genera el agua residual. En el caso de IMDEA, la aplicación se realiza por bombeo en volúmenes de aproximadamente 300 L. Cada día laborable se riega un surco (IMDEA) o dos surcos (CENTA). Los surcos se separan por caballones donde los

árboles están plantados. La Fig.1 representa de forma esquemática cada una de las instalaciones.

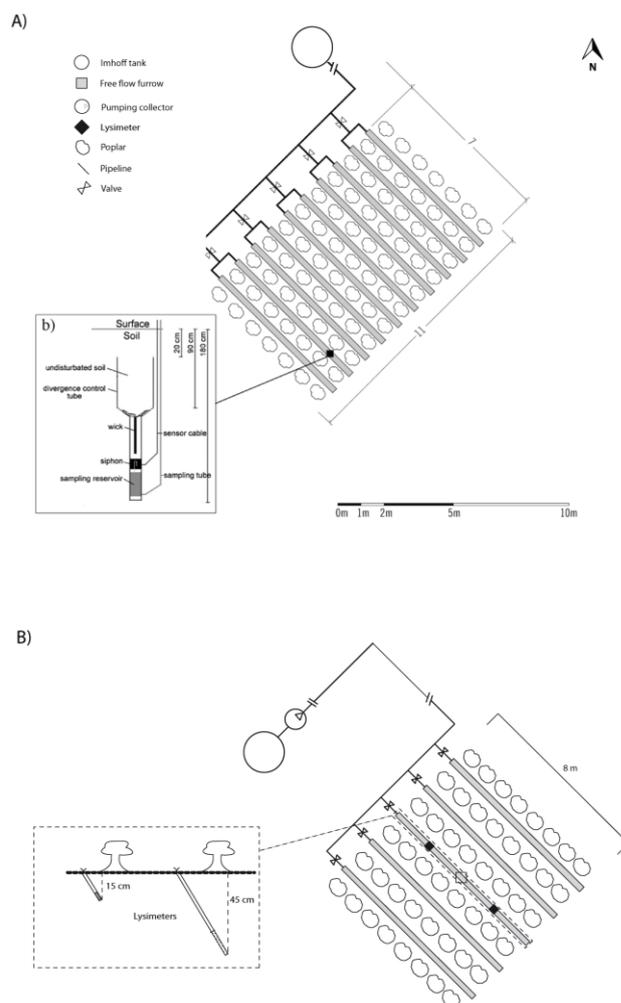


Fig. 1. Esquema de las instalaciones: A) CENTA y B) IMDEA.

La calidad del agua residual utilizada para riego, del agua infiltrada y del agua subterránea ha sido monitorizada en ambos FVs. La red de calidad de agua subterránea en la parcela del FV de IMDEA consta de 4 piezómetros: P7 y P9 aguas arriba del FV y P8 y P11 aguas abajo. En el FV de CENTA, el agua subterránea se muestrea en un único piezómetro, el P25, ubicado aguas abajo. La Tabla 1 describe los equipos y la profundidad de muestreo, el volumen y la calidad del agua residual utilizada para el riego, así como las propiedades fisicoquímicas y la textura del suelo de ambos FVs. La calidad del agua residual se monitorizó durante el periodo de muestreo y los valores medios junto con su desviación estándar se recogen en la Tabla 1. El suelo de ambos FVs se muestreó al principio del experimento. En el caso de CENTA, se presenta el valor medio de 6 muestras de suelo con su desviación estándar. En IMDEA, se realizó un único muestreo compuesto de 6 submuestras, por lo que no se puede presentar ninguna desviación estándar.

**Tabla 1.** Datos de equipamiento y funcionamiento de los dos FVs

Parámetro	IMDEA	CENTA	
Equipamiento ZNS	Lisímetro de succión <sup>(1)</sup>	Lisímetro de succión pasiva <sup>(2)</sup>	
Profundidad muestreo ZNS (cm) y nomenclatura	15 y 45 (C15 y C45)	90 (L90)	
Profundidad muestreo piezómetros (m) y nomenclatura	10 (P8, P11 y P9) 15 (P7)*	10 (P25)*	
Volumen de agua aplicada (m <sup>3</sup> /año)**	238,00	46,95	
Precipitación anual (m <sup>3</sup> /año)**	21,60	33,99	
Evapotranspiración de referencia (m <sup>3</sup> /año)**	65,99	106,84	
Calidad del agua residual utilizada para el riego	DQO (mg/L)	98,33±34,84	157,88±85,85
	N <sub>i</sub> (mg/L)	49,13±17,76	133,86±14,94
	P <sub>i</sub> (mg/L)	4,22±1,49	13,77±1,94
	C/N	2,07±0,49	1,26±0,76
Propiedades fisicoquímicas del suelo	CCC (cmol/kg)	11,1	18,20±5,91
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	45,5	67,77±62,91
	CE (dS/m)	0,14	0,16±0,06
	pH (1:5)	8,24	7,88±0,45
Textura del suelo	MO (%)	1,69	2,12±1,18
	Arenas (%)	50,9	50,0±10,0
	Limos (%)	22,5	25,0±8,7
	Arcillas (%)	26,6	25,0±5,0

(1) Soil Measurement Systems, Tucson AZ, USA

(2) Decagon Devices, Pullman, Washington, USA

\*Los piezómetros P8, P11 (IMDEA) y P25 (CENTA) están aguas abajo del FV. Los piezómetros P7 y P9 (IMDEA) se encuentran aguas arriba.

\*\*Valores medios de los dos años de estudio de cada FV.

Las muestras de agua (residual, de infiltración y subterránea) se tomaron utilizando botellas de vidrio ámbar de 1 L y se conservaron a -20°C hasta su análisis. Para llevar a cabo la cuantificación de los CPEs, las muestras de agua se filtraron a través de un filtro de fibra de vidrio de 0,7 µm de tamaño de poro y se sometieron a un proceso de extracción en fase sólida (*solid phase extraction-SPE*) utilizando los cartuchos Oasis HLB (200 mg, 6 cc, Waters, Mildford, MA, USA) para realizar la limpieza y preconcentración de la muestra. Los análisis fueron realizados mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas empleando el analizador triple cuadrupolo (LC-MS/MS) y el analizador cuadrupolo con tiempo de vuelo (LC-QTOF) para las muestras de IMDEA y CENTA, respectivamente. Los CPEs estudiados son paracetamol, naproxeno, ketoprofeno y 2 productos de transformación (PTs) de estimulantes, la paraxantina (procedente de la cafeína) y la cotinina (procedente de la nicotina).

Los resultados que se presentan a continuación pertenecen a un periodo de control y seguimiento de 2 años. En el caso del FV de IMDEA, este periodo abarca desde enero de 2017 hasta enero de 2019. Las muestras del agua de infiltración a través de la ZNS fueron tomadas a partir de enero de 2018 (15 cm de profundidad) y julio de 2018 (45 cm de profundidad), cuando los equipos de muestreo fueron

instalados en el FV. En el FV de CENTA, el periodo de toma de muestra abarca de marzo de 2013 a marzo de 2015.

Para evaluar la capacidad de atenuación de microorganismos patógenos en el FV de CENTA, paralelamente al muestreo de los CPEs, se llevó a cabo el muestreo para el análisis de *E. coli* y huevos de helmintos intestinales. Las muestras para *E. coli* se tomaron en duquesas estériles de 100 mL. Las correspondientes a huevos de helmintos intestinales se tomaron en garrafas de 10L. En ambos casos, se procedió a las determinaciones microbiológicas en un periodo no superior a 24 horas después del muestreo. Para *E. coli*, se empleó el método de filtración por membrana (ISO 9308-1:2000), cultivo en agar para coliformes (Chromocult) y recuento de bacterias β-Glucuronidas positiva. Para huevos de helmintos intestinales se siguió el método modificado de Bailingier, 1979 (Bouhoum y Schwartzbrod, 1989), incluyendo modificaciones en el volumen y tiempo de sedimentación, de acuerdo a Sanz *et al.* (2008).

Finalmente, con el objetivo de identificar qué enmienda, mejorará el tratamiento en los FVs, se llevaron a cabo 3 ensayos de infiltración a escala de laboratorio simulando de la forma más realista posible las condiciones de campo. En concreto, se utilizó suelo del FV instalado en IMDEA para rellenar una columna de acero inoxidable con, aproximadamente, la misma densidad aparente del campo (columna de control sin enmienda). Por otro lado, se rellenó otra columna con el mismo suelo añadiendo el 3% en peso de astillas de madera de chopo procedentes del propio FV. Por último, se rellenó una tercera columna con el mismo suelo al que se le agregó un 3% en peso de biochar procedente de la pirólisis de astillas de madera de chopo. La incorporación de cada enmienda al suelo se realizó fuera de la columna hasta alcanzar una mezcla homogénea, que se utilizó para el relleno de las mismas. Las características de cada uno de los sistemas se describen en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Características de los tres ensayos de infiltración llevados a cabo en laboratorio con el suelo de IMDEA.

	Suelo	Suelo + Astillas	Suelo + Biochar
Diámetro de la columna (cm)	8,49	8,49	8,49
Altura del relleno (cm)	15,40	18,00	18,00
Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	1,53	1,34	1,34
Porosidad total (cm <sup>3</sup> /cm <sup>3</sup> )	0,49	0,52	0,51

Una vez por semana, a cada columna se le añadió un volumen de 500 ml (en dos tandas de 250 ml) de agua residual sintética (ARS) enriquecida con una concentración de 1 mg/L de una mezcla de los CPEs estudiados. El ARS fue preparada semanalmente, simulando la misma calidad en cuanto a iones, nutrientes y materia orgánica que el agua residual pretratada que se aplica al FV de IMDEA y se estableció el mismo patrón de riego. La salida de las columnas está conectada a una

cámara de vacío que aplica una succión para simular las condiciones hidrodinámicas de la ZNS. Tras cada evento de riego, se tomaron 5 muestras de agua (con un volumen de 100 mL, aproximadamente) a la salida de cada una de las tres columnas. Los resultados presentados en este trabajo se corresponden a 6 eventos de riego.

Los porcentajes de atenuación fueron calculados utilizando los valores de la mediana de todas las muestras analizadas tanto en el campo como en el laboratorio.

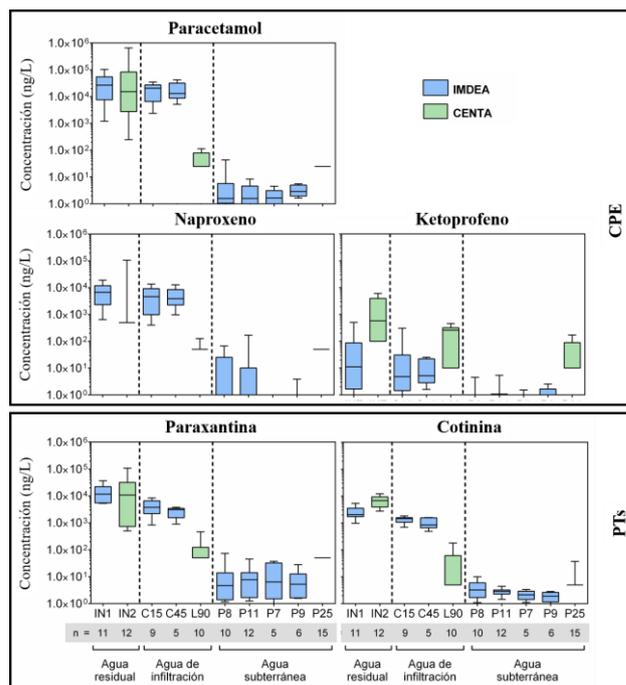
Para comparar la eficiencia de las enmiendas se calculó el porcentaje de atenuación de cada pareja de datos (entrada y salida) presentando la media y desviación estándar de estos valores. Además, se aplicó un test estadístico ANOVA usando un *post hoc* test (Tukey) para determinar si existen diferencias significativas ( $n=6$ ) en el porcentaje de eliminación para cada una de las enmiendas. La homogeneidad de la varianza fue verificada por el test Levene. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v.17 (SPSS, Inc.) software.

### 3.- Resultados y discusión

- Comparación de FVs

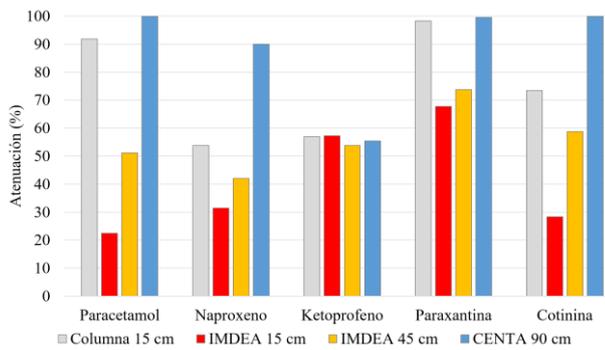
Las concentraciones medidas de cada uno de los compuestos estudiados en las diferentes matrices (agua residual, agua de infiltración y agua subterránea) de ambos FVs se muestran en la Fig. 2. Se puede observar que la variabilidad de las concentraciones suele ser elevada abarcando, en la mayor parte de los casos, entre uno y dos órdenes de magnitud dentro de la misma matriz. Sin embargo, no se ha encontrado un patrón temporal de las concentraciones en el agua residual, ni en el agua de infiltración, ni en el agua subterránea que pudiera explicar esa variabilidad (datos no mostrados). Se desconocen las bases de la variabilidad de estos compuestos a lo largo del año. Es importante destacar que los compuestos estudiados son sustancias pertenecientes a los grupos de analgésicos, antiinflamatorios y estimulantes, cuyo consumo está bastante generalizado e independiente de la época del año.

La presencia de concentraciones similares de paracetamol, paraxantina y cotinina en el agua subterránea, independientemente del punto de muestreo, indica la existencia de una contaminación de base en el acuífero. Sin embargo, en el caso del naproxeno, los resultados obtenidos llevan a una conclusión diferente. Los piezómetros donde aparece esta sustancia son únicamente los que se encuentran aguas abajo del FV (P8 y P11) sugiriendo que se lixivia del propio sistema. De hecho, los porcentajes de eliminación del naproxeno en el FV de IMDEA superan solo ligeramente el 30% y el 40% a 15 y 45 cm, respectivamente (Fig. 3). El ketoprofeno aparece en el agua subterránea de manera puntual en todos los piezómetros, tanto aguas arriba como aguas abajo, por lo que no se puede considerar que el FV sea la fuente de origen de este contaminante.



**Fig. 2.** Concentraciones en ng/L de los CPEs (Contaminantes de Preocupación Emergente) y PTs (Productos de Transformación) estudiados en el agua residual utilizada para el riego (IN1 de IMDEA e IN2 de CENTA), en el agua de infiltración a 15, 45 y 90 cm y en el agua subterránea (P8 y P11 aguas abajo y P7 y P9 aguas arriba del FV de IMDEA y P25 aguas abajo del FV de CENTA).

Las concentraciones en el agua de infiltración del FV de CENTA son inferiores y significativamente diferentes al agua residual para todos los compuestos (Fig. 3), con la excepción del ketoprofeno. El FV de IMDEA presenta concentraciones en el agua de infiltración inferiores al agua residual para todos los compuestos. Sin embargo, no se puede confirmar que sean significativamente diferentes ni a 15 ni a 45 cm. A pesar de ello, para comparar con el FV de CENTA, se han utilizado los valores de las medianas para calcular los porcentajes de atenuación. Hay que destacar que, por un lado, en el FV de CENTA las concentraciones se han analizado a 90 cm de profundidad, lo que otorga 45 cm más de tratamiento en la ZNS. Por otro lado, el volumen de agua aplicada en el FV de IMDEA ha sido sustancialmente mayor (Tabla 1), implicando una posible reducción de la capacidad de tratamiento. En el caso del ketoprofeno, a pesar de presentar concentraciones en el agua residual bastante inferiores a lo cuantificado en el agua residual de CENTA, también presenta unas concentraciones en el mismo orden de magnitud en el agua de infiltración. De hecho, la capacidad de atenuación se encuentra entre el 50-60% no mostrando una mejora durante su infiltración más allá de los primeros 15 cm (Fig. 3). La potencial lixiviación del ketoprofeno ha sido demostrada por otros autores (Onesios y Bouwer, 2012, Xu *et al.*, 2009).



**Fig. 3.** Porcentajes de atenuación de los CPEs (Contaminantes de Preocupación Emergente) y PTs (Productos de Transformación) estudiados a la salida de la columna de laboratorio con suelo y a las diferentes profundidades de la ZNS.

Si se observa la Fig. 3, a excepción del ketoprofeno, en el resto de CPEs se aprecia un aumento de la capacidad de atenuación durante la infiltración en la ZNS. El porcentaje de eliminación en los primeros 45 cm es mayor del 50% en todos los casos, exceptuando el naproxeno que supera ligeramente el 40%.

Tanto el naproxeno como el ketoprofeno se encuentran ionizados negativamente a pH ambiental (en torno a 7-8). Su capacidad de ser adsorbidos es más limitada debido a las fuerzas de repulsión electrostática por la carga negativa de las arcillas (Xu *et al.*, 2009; Martínez-Hernández *et al.*, 2017).

En el caso del paracetamol, su capacidad de atenuación se ha visto sustancialmente reducida en el FV de IMDEA si lo comparamos con los resultados encontrados en el FV de CENTA y en la bibliografía. Anteriormente, se ha descrito la facilidad de degradación del paracetamol bajo condiciones aerobias (Martínez-Hernández *et al.*, 2016 y 2017). La mayor carga hidráulica en el FV de IMDEA ha podido propiciar no solo unos menores tiempos de retención sino condiciones anaerobias puntuales que hayan limitado la degradación de este compuesto.

#### • Microorganismos patógenos

La concentración de *E.coli* en el agua residual, el agua de infiltración y el agua subterránea se presenta en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Concentraciones de *E.coli* (mínimo, primer cuartil, mediana, segundo cuartil y máximo) en las diferentes matrices durante la infiltración en la ZNS (agua residual, agua de infiltración y agua subterránea) durante el periodo de estudio.

	Agua residual		Agua de infiltración		Agua subterránea	
	CFU/100 ml	Log CFU/100 ml	CFU/100 ml	Log CFU/100 ml	CFU/100 ml	Log CFU/100 ml
Mínimo	1,E+03	3,0	4,E+00	0,6	4,E+00	0,6
Primer cuartil	1,E+04	4,1	4,E+00	0,6	1,E+01	1,0
Mediana	4,E+04	4,5	1,E+01	1,0	1,E+01	1,0
Segundo cuartil	3,E+05	5,0	1,E+01	1,0	3,E+01	1,4
Máximo	2,E+07	6,8	5,E+03	3,7	8,E+02	2,9

Los resultados de concentración de *E.coli* indican que hay diferencias significativas entre el agua residual y el agua de infiltración y la subterránea. La concentración media de *E.coli* fue significativamente menor en el agua de infiltración y la subterránea ( $3,8E+02$  CFU/100 ml, 2,6 Log CFU/100 ml y  $7,0E+01$  CFU/100 ml, 1,8 Log CFU/100 ml; respectivamente).

Las tasas de eliminación superiores al 99,9% evidencian el rol del suelo de la ZNS en el tratamiento adicional del agua residual durante la infiltración hacia el agua subterránea, así como su capacidad como tecnología natural de regeneración para la recarga de acuíferos por percolación a través del terreno.

En relación a los huevos de helmintos, durante el periodo de estudio, no se detectaron en ninguna de las muestras analizadas, ni del agua residual, ni del agua de infiltración, ni de la subterránea.

#### • CPEs: campo vs laboratorio

La capacidad de atenuación de todos los CPEs en los 15 cm de suelo a escala laboratorio supera sustancialmente la observada en campo, incluso a 45 cm de profundidad. Esto indica que los ensayos de laboratorio son muy útiles cuando se pretende realizar una comparativa de tratamientos, pero presentan en ocasiones limitaciones de escalado. Esto se debe principalmente a que a escala laboratorio la temperatura está controlada a 20-25°C y, por tanto, los procesos de biodegradación se ven favorecidos. Los resultados demuestran que es fundamental escalar el estudio de la ZNS y de los procesos que se dan en ella a escala de campo para obtener una mayor fiabilidad en la cuantificación de los procesos.

La excepción vuelve a ser el ketoprofeno que no presenta cambios sustanciales después de los primeros 15 cm en ninguno de los estudios (campo o laboratorio), indicando su marcado carácter recalcitrante.

#### • Enmiendas en el tratamiento de CPEs

La comparación entre los porcentajes medios de atenuación de los CPEs seleccionados en los 3 ensayos de infiltración se presentan en la Tabla 4. A pesar de que la atenuación es diferente entre compuestos, se puede observar que la enmienda de biochar consigue porcentajes de eliminación mayores para todos los compuestos. La eficiencia en el tratamiento, con diferencias significativas, se consigue para el naproxeno y el ketoprofeno, que en presencia del biochar presentan un porcentaje de eliminación que aumenta un 22% y un 17%, respectivamente. La mayor superficie de adsorción parece ser la responsable de esa atenuación. Sin embargo, las astillas de madera disminuyen los porcentajes de atenuación de media un 9%, encontrándose diferencias significativas en el paracetamol, la paraxantina y la cotinina.

**Tabla 4.** Porcentajes medios de atenuación de cada compuesto en el suelo y el suelo enmendado con astillas y biochar.

Compuesto	Suelo (%)	Suelo + Astillas (%)	Suelo + Biochar (%)
Paracetamol	92,46±5,54 <sup>(a)</sup>	77,70±6,98 <sup>(b)</sup>	97,90±1,64 <sup>(a)</sup>
Naproxeno	56,95±16,12 <sup>(b)</sup>	51,36±17,27 <sup>(b)</sup>	78,97±6,13 <sup>(a)</sup>
Ketoprofeno	60,57±11,04 <sup>(b)</sup>	56,49±9,81 <sup>(b)</sup>	77,70±3,94 <sup>(a)</sup>
Paraxantina	98,47±1,03 <sup>(a)</sup>	91,52±2,24 <sup>(b)</sup>	98,96±0,71 <sup>(a)</sup>
Cotinina	76,24±8,44 <sup>(a)</sup>	63,03±10,39 <sup>(b)</sup>	87,73±3,32 <sup>(a)</sup>

Las diferentes letras indican diferencias significativas a  $p < 0,05$ .

La reducción de la eficiencia del tratamiento en presencia de las astillas puede estar relacionada con el establecimiento de un ambiente más anaerobio como consecuencia del incremento de la actividad microbiana que reduce los niveles de oxígeno en el agua. Además, las astillas de madera mejoran la capacidad de infiltración del terreno reduciendo el tiempo de residencia en el mismo y, por tanto, la magnitud de la atenuación.

### 3.- Conclusiones

La presencia en las aguas naturales de CPE y microorganismos patógenos procedentes del agua residual puede alterar las condiciones ambientales y afectar de forma directa o indirecta a la salud pública. En este trabajo se ha evaluado la capacidad de atenuación de CPE y microorganismos patógenos mediante el uso de FVs en distintos emplazamientos, a distintas escalas (laboratorio y campo) y aplicando diferentes enmiendas. Los resultados muestran una elevada variabilidad en las concentraciones de los CPE y como decrece la concentración de estas sustancias y de *E.coli* durante la infiltración a través de la ZNS. Las sustancias con mayor consumo, como es el caso del paracetamol y los PTs de estimulantes como cotinina y paraxantina, muestran una aparición en el agua subterránea que está relacionada con una concentración regional de base en el acuífero, independiente de la presencia del FV. Los antiinflamatorios naproxeno y ketoprofeno presentan una atenuación más limitada tanto a escala de campo como a escala de laboratorio. Las diferencias encontradas al comparar los diferentes emplazamientos demuestran que la dinámica de flujo y las condiciones de la ZNS controlan la eficiencia de degradación de los CPE y PTs en el FV. El uso del biochar como enmienda en el suelo incrementa la capacidad de tratamiento de los CPEs estudiados, siendo el naproxeno y el ketoprofeno los que presentan una mejora significativa. Las astillas de madera, cuando son añadidas al suelo, tienden a disminuir la atenuación de los CPEs seleccionados como consecuencia, probablemente, del establecimiento de condiciones más reductoras y de tiempos de residencia más cortos.

Para determinar de una forma más concluyente cuáles son los parámetros que condicionan en mayor medida el tratamiento es necesario acoplar, al estudio de la parte química, el estudio de la hidrología y las propiedades fisicoquímicas de la ZNS. Por ello, actualmente se está monitorizando parámetros como la humedad, la temperatura, la conductividad eléctrica y la presión de

succión a escala de campo. Además, con los datos sobre la hidrodinámica obtenidos a escala de laboratorio se desarrollarán modelos de flujo y transporte que permitan entender el comportamiento de estos compuestos cuando la humedad es variable como ocurre durante la infiltración a través de la ZNS.

Este trabajo demuestra que, aunque los FVs se caractericen por su sencillez de operación, la lixiviación de contaminantes puede representar un riesgo sobre todo en ausencia de un seguimiento apropiado del sistema. Al ser una tecnología basada en la naturaleza, el tratamiento depende de muchos factores que tienen que tenerse en cuenta cuando se procede a su diseño. Los FVs siguen siendo opciones interesantes para pequeñas poblaciones, pero el éxito de estos sistemas depende de la posibilidad de adaptar el sistema conforme cambian los condicionantes ambientales.

*Agradecimientos.* Esta investigación ha sido financiada parcialmente por una ayuda de la Comunidad de Madrid para ayudantes de investigación (CPI/0613/2008), el Programa de Atracción de Talento de la Comunidad de Madrid (2016T2/AMB1426), el proyecto FILVER+ (CTM2016-79211-C2-1-R), el proyecto REAGUA2 (CGL2012-39520-C03-01) y el proyecto REAGUAM (CGL2009-13168-C03-01-02-03) del Ministerio de Economía y Competitividad de España.

### 4.- Bibliografía

- Bouhoum K., Schwartzbrod J., 1989. Quantification of helminth eggs in wastewater. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 188, 322-330.
- Engström, E., Thunvik, R., Kulabako, R., Balfors, B., 2014. Water Transport, Retention, and Survival of *Escherichia coli* in Unsaturated Porous Media: A Comprehensive Review of Processes, Models, and Factors. *Critical reviews in Environmental Science and Technology*, 45, Issue 1, 1-100.
- ISO 9308-1:2000 en UNE-EN ISO 9308-1:2001. Calidad del agua. Detección y recuento de *Escherichia coli* y de bacterias coliformes. Parte 1: Método de filtración en membrana. (ISO 9308-1:2000).
- IWA, 2006. Protecting Groundwater for Health. Managing the Quality of Drinking- water Sources.
- Madumathi, G., Philip, L., Bhallamudi, S.M., 2017. Transport of *E. coli* in saturated and unsaturated porous media: effect of physiological state and substrate availability. *Sādhanā*. 42(6), 1007–1024. Published by *Indian Academy of Sciences*.
- McEachran, A.D., Shea, D., Nichols, E.G., 2017. Pharmaceuticals in a temperate forest-water reuse system. *Sci. Total Environ.* 581–582, 705–714.
- McEachran, A.D., Shea, D., Bodnar, W., Nichols, E.G., 2016. Pharmaceutical occurrence in groundwater and surface waters in forests land-applied with municipal wastewater. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 898–905.
- Karnjanapiboonwong, A., Suski, J., Shah, A., Cai, Q., Morse, A., Anderson, T., 2011. Occurrence of PPCPs at a wastewater treatment plant and in soil and groundwater at a land application site. *Water Air Soil Pollut.* 216, 257–273.
- Martínez-Hernández, V., Leal, M., Meffe, R., De Miguel, Á., Alonso-Alonso, C., De Bustamante, I., Lillo, J., Martín, I., Salas, J. J., 2018. Removal of emerging organic contaminants in a poplar vegetation filter. *J. Hazardous Mater.*, 342, 482-491.
- Martínez-Hernández, V., Meffe, R., Kohfahl, C., de Bustamante, I., 2017. Investigating natural attenuation of pharmaceuticals through unsaturated column tests. *Chemosphere*, 177, 292-302.
- Martínez-Hernández, V., Meffe, R., Herrera López, S., de Bustamante, I., 2016. The role of sorption and biodegradation in the removal of acetaminophen, carbamazepine, caffeine, naproxen and

- sulfamethoxazole during soil contact: a kinetics study. *Sci. Total Environ.* 559, 232-241.
- Meffe, R., de Miguel, Á., Hernández, V. M., Lillo, J., de Bustamante, I., 2016. Soil amendment using poplar woodchips to enhance the treatment of wastewater-originated nutrients. *Journal of environmental management*, 180, 517-525.
- Onesios, K. M., y Bouwer, E. J., 2012. Biological removal of pharmaceuticals and personal care products during laboratory soil aquifer treatment simulation with different primary substrate concentrations. *Water research*, 46(7), 2365-2375.
- Sanz, J., de Montoliu, I., Gracenea, M., Mujeriego, R., 2008. Validación del sistema Hydrotech Dicfilter para la eliminación de huevos de helmintos parásitos en aguas regeneradas. *Tecnología del agua*, 297, 66-74.
- WHO, 2016. Protecting surface water for health. Identifying, assessing and managing drinking-water quality risks in surface-water catchments, WHO Library. <https://doi.org/10.1002/9780470172926.ch2>
- Xu, J., Chen, W., Wu, L., Chang, A. C., 2009. Adsorption and degradation of ketoprofen in soils. *Journal of environmental quality*, 38(3), 1177-1182.