

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**



**“TRATAMIENTO DE DRENAJE ÁCIDO DE MINA, MEDIANTE
HUMEDAL ARTIFICIAL EN CONDICIONES DE
LABORATORIO”**

**Presentada por:
EVER NÚÑEZ BUSTAMANTE**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Lima - Perú

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**“TRATAMIENTO DE DRENAJE ÁCIDO DE MINA,
MEDIANTE HUMEDAL ARTIFICIAL EN CONDICIONES DE
LABORATORIO”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:
EVER NÚÑEZ BUSTAMANTE**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Lic.Rer.Reg. Víctor Aguilar Vidangos
PRESIDENTE

Dr. Víctor Meza Contreras
ASESOR

Mg.Sc. Rosa Miglio Toledo
MIEMBRO

Dr. Ever Menacho Casimiro
MIEMBRO

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida, ser mi guía espiritual, por todas sus bendiciones, y estar conmigo en cada momento.

A mis padres Belarmino y Antonia, por confiar en mí y brindarme todo su amor y comprensión en todo momento, por su tiempo, dedicación, esfuerzo y sacrificio que pusieron durante mi formación personal y académica, y ser el motor que me impulsa a seguir adelante.

A mis hermanos Isaul, Bilmer, Lucelina, Anibal y Nelve, por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional en todo, y me guían por el buen camino.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

A mi familia, por toda su comprensión, su amor, confianza, por estar conmigo en cada momento de mi vida, porque son mi apoyo moral y siempre están dándome fuerzas y aliento.

Expresar mi gratitud al Dr. Víctor Meza Contreras, por su orientación y apoyo en la realización de esta tesis.

A Lic. Edgar A. Giraldo y a la Ing. Karina B. Ccapa, por el apoyo brindado en el análisis químico de los elementos en el Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ) de la UNALM.

Al Dr. Jorge Chávez, por facilitarnos con un ambiente en las instalaciones del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la UNALM.

A mi colega y gran amigo Hipólito Murga Orrillo, por el apoyo brindado en la realización de dicha tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. EL AGUA Y LA MINERÍA.....	3
2.1.1. Efectos hidrológicos de las actividades mineras.....	3
2.2. AGUAS GENERADAS EN LAS ACTIVIDADES MINERAS.....	3
2.2.1. Aguas alcalinas.....	3
2.2.2. Drenajes ácidos de mina (DAM) o aguas ácidas de mina.....	4
2.3. TIPOS DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE DAM.....	8
2.3.1. Tratamientos activos.....	9
2.3.2. Tratamientos pasivos.....	9
2.3.3. Tratamientos mixtos.....	10
2.4. TRATAMIENTOS PASIVOS DE DAM.....	11
2.4.1. Tratamientos pasivos abióticos.....	11
2.4.2. Tratamientos pasivos bióticos.....	13
2.4.3. Tratamientos mixtos.....	16
2.5. HIDROLOGÍA DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES.....	17
2.5.1. Sistemas de flujo libre (SFL).....	18
2.5.2. Sistemas de flujo subsuperficial (SFS).....	18
2.6. MICRORGANISMOS EFICACES (EM).....	18
2.7. COMPONENTES DE LOS HUMEDALES PARA EL TRATAMIENTO DE DAM.....	20
2.7.1. Vegetación.....	20
2.7.2. Compuestos orgánicos.....	21
2.7.3. Caliza.....	21
2.7.4. Bioaumentación mediante la utilización de EM.....	22
2.8. PARÁMETROS ANALIZADOS.....	22
2.8.1. Ion hidrógeno pH y Eh.....	22
2.8.2. Hierro y Manganeso.....	24
2.9. REMOCIÓN DE CONTAMINANTES CON HUMEDALES CONSTRUIDOS.....	25
2.9.1. Remoción de sulfatos.....	25
2.9.2. Mecanismos de remoción de metales.....	26
2.10. CRITERIOS QUE PERMITEN ELEGIR UN SISTEMA DE TRATAMIENTO PASIVO.....	35
2.11. ECUACIONES DE DISEÑO DE HUMEDALES.....	37
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
3.1. UBICACIÓN.....	39
3.2. DURACIÓN.....	39
3.3. MATERIALES.....	39
3.3.1. Compost.....	39
3.3.2. Roca caliza.....	40
3.3.3. Tatora (<i>Schoenoplectus californicus</i>).....	40
3.3.4. Drenaje ácido artificial.....	41

3.3.5. Potenciómetros digitales.....	41
3.3.6. Espectrofotómetro	41
3.4. METODOLOGÍA.....	41
3.4.1. Elaboración del drenaje ácido artificial.....	42
3.4.2. Diseño y construcción del sistema experimental	42
3.4.3. Instalación de las unidades experimentales.....	45
3.4.4. Operación y evaluación	47
3.5. CUANTIFICACIÓN DE PARÁMETROS DURANTE EL EXPERIMENTO	49
3.5.1. Medición de pH y Eh	49
3.5.2. Medición de Fe y Mn	50
3.5.3. Fe y Mn en vegetación	52
3.6. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN.....	52
3.7. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE ACUMULACIÓN DE METALES EN BIOMASA DE LA TOTORA.....	52
3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
4.1. ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS QUÍMICOS EN EL SISTEMA DE TRATAMIENTO.....	54
4.1.1. Análisis de varianza (ANOVA) para el potencial de hidrógeno (pH).....	54
4.1.2. Análisis de varianza (ANOVA) para el potencial de redox (Eh)	56
4.1.3. Análisis de varianza (ANOVA) para el Fe.....	58
4.1.4. Análisis de varianza (ANOVA) para el manganeso (Mn)	60
4.2. EFICIENCIA DE CAMBIO Y REMOCIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS	63
4.2.1. Eficiencia de cambio del pH.....	63
4.2.2. Eficiencia de cambio del Eh	64
4.2.3. Eficiencia de remoción del Fe	65
4.2.4. Eficiencia de remoción del Mn	66
4.3. RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LA VEGETACIÓN.....	67
4.3.1. Concentración de Fe y Mn evaluados en plantas del sustrato R+C+EM+T (S3). 67	
V. CONCLUSIONES.....	70
VI. RECOMEDACIONES.....	72
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
VIII. ANEXOS.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Minerales de sulfuro metálico que generan aguas ácidas en minería.	5
Tabla 2: Matriz de parámetros a considerar para el análisis de la calidad de agua antes de implementar un sistema de tratamiento.	35
Tabla 3: Características físicas y químicas del compost utilizado.	40
Tabla 4: Composición y características de alcalinidad de la roca caliza.	40
Tabla 5: Concentración inicial de Fe y Mn en las plantas utilizadas.	40
Tabla 6: Insumos utilizados en la elaboración del drenaje ácido artificial.	42
Tabla 7: Características del drenaje ácido artificial utilizado durante el experimento.	42
Tabla 8: Composición de cada sustrato utilizado en los humedales artificiales.	46
Tabla 9: Cálculo del tiempo de retención del agua en el humedal.	47
Tabla 10: Volúmenes y concentraciones utilizadas para determinar la curva estándar para el hierro.	50
Tabla 11: Volúmenes y concentraciones utilizadas para determinar la curva estándar para el manganeso.	51
Tabla 12: ANOVA para la variable pH por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.	54
Tabla 13: ANOVA para la variable Eh por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.	57
Tabla 14: ANOVA para la variable Fe por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.	58
Tabla 15: ANOVA para la variable Mn por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.	61
Tabla 16: Determinación del factor de bioconcentración en la biomasa de la planta de totora con relación Fe.	68
Tabla 17: Determinación del factor de bioconcentración en la biomasa de la planta de totora con relación Mn.	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Proceso de oxidación que sufre la pirita.....	7
Figura 2: Rango óptimo de aplicación de los sistemas de tratamiento de DAM.	11
Figura 3: Esquema del funcionamiento de un ALD.	12
Figura 4: Esquema de un canal o dren revestido de caliza.	13
Figura 5: Esquema de un humedal artificial aerobio.	14
Figura 6: Esquema de un humedal artificial anaeróbico.....	15
Figura 7: Esquema de un humedal artificial SAPS.....	17
Figura 8: Mecanismos de remoción de metales en humedales.	27
Figura 9: Mecanismos intercambio iónico.....	28
Figura 10: Partículas con capacidad de intercambio catiónico.....	29
Figura 11: Partículas con capacidad de adsorción.	30
Figura 12: Partículas con capacidad de complejación.	31
Figura 13: Selección del sistema de tratamiento pasivo en función de la calidad de agua.....	36
Figura 14: Esquema del comportamiento y distribución de las unidades experimentales.....	42
Figura 15: Dimensiones de las celdas, a) Vista en planta; b) Vista frontal y c) Vista de perfil.....	43
Figura 16: Vista horizontal en 3D de la celda.....	44
Figura 17: Recorrido lineal del agua en los compartimentos de la celda.	44
Figura 18: Abastecimiento del drenaje ácido artificial a los humedales.....	45
Figura 19: Corte vertical de los sustratos instalados en los humedales artificiales.	46
Figura 20: Funcionamiento de las unidades experimentales (puntos de control de entrada y salida).	47
Figura 21: Instalación de accesorios en los puntos de muestreo en los compartimentos 3, 6 y 9... 48	48
Figura 22: Toma de muestra y codificación para sus análisis.....	49
Figura 23: Medición del pH y Eh en el laboratorio.	50
Figura 24: Determinación de la curva estándar para en hierro.	51
Figura 25: Determinación de la curva estándar para en manganeso.....	51
Figura 26: Medias de pH por efectos simples de la distancia de recorrido del drenaje ácido artificial.	55
Figura 27: Medias de Eh por efectos significativos de la interacción de los sustratos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.	57
Figura 28: Medias de Fe por efecto de distancias recorridas del drenaje ácido artificial.	59
Figura 29: Medias de Mn por efectos significativos de la interacción de los sustratos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.....	61
Figura 30: Diagrama de barras que refleja la variación del pH durante el monitoreo.	63
Figura 31: Diagrama de barras que refleja la variación del Eh durante el monitoreo.	64
Figura 32: (a) Concentración y (b) porcentaje de remoción del Mn por efecto de los sustratos orgánicos y distancia del efluente.	65
Figura 33: (a) Concentración y (b) porcentaje de remoción del Mn por efecto de los sustratos orgánicos y distancia del efluente.	66
Figura 34: (a) Concentración de Fe y (b) concentración de Mn en plantas evaluadas en las diferentes distancias a lo largo del humedal para el S3.....	67

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 8.1: Resultados obtenidos de la evaluación de Eh, pH, Fe y Mn durante todo el experimento	84
Anexo 8.2: Informe de análisis especial en foliar 1	86
Anexo 8.3: Informe de análisis especial en foliar 2	87
Anexo 8.4: Informe de análisis especial en enmiendas.....	88
Anexo 8.5: Fotografías, (a) roca caliza y (b) plantas de totora	89
Anexo 8.6: Fotografías, (a) verificación del crecimiento de totora y (b) obtención de plantas para su análisis.....	89

RESUMEN

La formación de drenaje ácido de minas es un problema ambiental generalizado que no ha disminuido a lo largo de décadas de investigación. Es por la cual la presente investigación tuvo el objetivo de evaluar la influencia de los sustratos conformados por roca caliza y compost (S1), roca caliza, compost y microorganismos eficaces caseros (S2) y roca caliza, compost, microorganismos eficaces caseros y *Schoenoplectus californicus* (S3), en el cambio de pH, del potencial redox (Eh) y en la remoción de Fe y Mn, de un drenaje ácido artificial, en humedales artificiales y bajo condiciones de laboratorio. El experimento se realizó en los meses de mayo a junio del 2015, en el Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria la Molina. Se construyeron humedales artificiales, donde se instalaron el S1, S2 y S3, sometidos a flujo permanente de 1 L/h de drenaje ácido artificial, elaborado con agua blanda, sulfato de hierro (0.4978 mg/L de FeSO₄), sulfato de manganeso (0.1537 mg/L de MnSO₄) y ácido clorhídrico (2.05 mL/L de HCl), con un tiempo de retención hidráulica de 2.93 días. Los sustratos S1, S2 y S3 fueron eficientes en los cambios de pH, de Eh y en la remoción de Fe y Mn, siendo más resaltante a medida que el agua recorría el humedal. Según los valores medios evaluados en el afluente y efluente, el pH subió de 2 a 7.9 en el S1, a 7.5 para el S2 y a 7.7 en el S3, estos cambios estarían determinados por la disolución de la capa de roca caliza u oxidación de sustratos orgánicos (compost). El Eh bajo de 404.7 a 97.9 en el S1, a 100.2 en el S2 y a 62.6 mV en el S3, siendo el S3 el que presentó mejor capacidad de reducción de Eh para fines de tratamiento, el cual estaría influenciado por la presencia de microorganismos eficaces caseros y plantas de totora. Los tres sustratos fueron eficientes en la remoción de Fe, cuyas máximas eficiencias fueron de 99.7% para el S1, de 99.3% para el S2 y de 99.6% para el S3, no mostrando diferencias significativas entre ellos. De igual manera para el Mn las máximas eficiencias de remoción fueron de 99.8% para el S1, de 98.6% para el S2 y de 99.5% para el S3, siendo el S3 el menos indicado para dicho tratamiento hasta una distancia de 4.14 m. Si bien no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 sustratos; el S1 es recomendable desde el punto de vista económico, debido a que requiere menor área de tratamiento. Desde el punto de vista ambiental, el S3 es el más sostenible, con mayor vida útil del humedal debido a la presencia de la vegetación.

Palabras clave: Humedales artificiales, drenaje ácido, tratamiento, remoción.

ABSTRACT

The generation of acid effluents of mining is a general environmental problem that did not decrease throughout decades of investigation. That is why, this investigation had as the main aim the evaluation of the influence of substrates formed by limestone rock and compost (S1), limestone rock, compost and homemade effective microorganisms (S2) and limestone rock, compost, homemade effective microorganisms and *Schoenoplectus californicus* (S3), in the change of pH, of the redox potential (Eh) and in the removal of Fe and Mn, of an artificial acid drainage, in artificial wetlands and under laboratory conditions. The experiment was carried out during since May until June 2015, at the Research Institute of Biochemistry and Molecular Biology of the National Agrarian University of La Molina in Lima, Peru. Artificial wetlands were built, where S1, S2 and S3 were installed, subjected to permanent flow of 1 L/h of artificial acid drainage, made with soft water, iron sulfate (0.4978 mg/L of FeSO₄), manganese sulfate (0.1537 mg/L of MnSO₄) and hydrochloric acid (2.05 mL/L of HCl), with a hydraulic retention time of 2.93 days. The substrates S1, S2 and S3 were efficient in the changes of pH, of Eh and in the removal of Fe and Mn, being more outstanding as the water crossed the wetland. According to the mean values evaluated in the tributary and effluent, the pH rose from 2 to 7.9 in S1, 7.5 for S2 and 7.7 in S3, these changes would be determined by the dissolution of the limestone rock layer or substrate oxidation organic (compost). The Eh is low from 404.7 to 97.9 in S1, 100.2 in S2 and 62.6 mV in S3, with S3 presenting the best capacity to reduce Eh for treatment purposes, which would be influenced by the presence of effective microorganisms Homemade and “*titora*” plants. The three substrates were efficient in removing Fe, whose maximum efficiencies were 99.7% for S1, 99.3% for S2 and 99.6% for S3, showing no significant differences between them. Similarly, for Mn the maximum removal efficiencies were 99.8% for S1, 98.6% for S2 and 99.5% for S3, S3 being the least suitable for the mentioned treatment up to a distance 4.14 m. Although there were no statistically significant differences between the 3 substrates; S1 is recommended from an economic point of view, because it requires a smaller treatment area. From an environmental point of view, S3 is the most sustainable, with the longest useful life of the wetland due to the presence of vegetation.

Keywords: Artificial wetlands, acid drainage, treatment, removal

I. INTRODUCCIÓN

Los humedales artificiales (HAs) son sistemas de tratamiento de aguas residuales de forma controlada, que tienen comportamiento similar a los humedales naturales, cuyos mecanismos de eliminación de contaminantes es mediante procesos físicos, químicos y biológicos. En estos sistemas se utiliza diferentes sustratos que pueden albergar variados tipos de bacterias (Vohla *et al.* 2011).

Los HAs se han empleado para el tratamiento de diferentes tipos de líquidos residuales durante más de cuatro décadas (Vymazal 2011a). En todo este tiempo, los investigadores han buscado continuamente mejorar el rendimiento del tratamiento (Vymazal 2013), basándose en la recirculación de efluentes y en la aireación artificial (Zhang *et al.* 2010), la uniformidad de la dirección del flujo (Behrends 2000), la bioaumentación (Gruber *et al.* 2001) o el uso de varios sustratos para la separación de contaminantes (Vohla *et al.* 2011).

Hay evidencia de que los HAs con vegetación emergente, son más eficientes en comparación con los filtros no plantados (Vymazal 2011b) y que algunas especies de vegetación son más eficientes que las otras (Coleman *et al.* 2001). Las macrófitas que crecen en los HAs tienen varias propiedades en concordancia con el proceso de tratamiento; lo que las convierte en un componente esencial del diseño de humedales de flujo subterráneo horizontal; ya que permiten el aislamiento de superficies, el suministro de sustratos para el reposo de las bacterias, la liberación de oxígeno a la rizosfera o la absorción de nutrientes (Vymazal 2011b).

La rizosfera en los HAs, ofrece gradientes macro y micro específicos de condiciones redox, que permiten el desarrollo de consorcios microbianos diversos, capaces de producir diferentes reacciones redox beneficiosas (Wiessner *et al.* 2005). Por su parte, Fitz & Wenzel (2002), sostienen que la vegetación hiperacumuladora puede aumentar la solubilidad de metales y su captación en la rizosfera a través de la acción del proceso de exudación que llevan a cabo las raíces.

Los metales tienen un comportamiento complejo en los sistemas acuáticos, y puede incluir interacciones entre los principales componentes de los humedales, como el suelo, las raíces, la hojarasca, las biopelículas del suelo, el agua, entre otros (Kadlec & Knight 1996). Los metales disueltos pueden adsorberse sobre partículas, pueden formar complejos con ligandos inorgánicos y orgánicos, o estar presentes en solución como iones libres (Jacks *et al.* 2002).

Por otra parte, los microorganismos reductores de sulfato como las bacterias, son consideradas como las principales responsables de la disminución del hierro y de la liberación terapéutica observada en entornos anaeróbicos (Islam *et al.* 2004). Sin embargo, la bioaumentación mediante la incorporación de microorganismos eficaces, es favorable en los lechos de humedales para acelerar la biodegradación de contaminantes industriales (Merlin & Cottin 2012). De tal manera que permite acortar el período de adaptación y acelerar el avance de las características necesarias de la comunidad microbiana local. Además, la bioaumentación se lleva a cabo a menudo, para mejorar la degradación de algunos contaminantes específicos, como los plaguicidas (Gruber *et al.* 2001), químicos orgánicos (Simon *et al.* 2004) y la erradicación de metales pesados (Park *et al.* 2008).

El presente trabajo de investigación tuvo el objetivo de evaluar la influencia de sustratos conformados por roca caliza y compost (S1), roca caliza, compost y microorganismos eficaces caseros (S2) y roca caliza, compost, microorganismos eficaces caseros y *Schoenoplectus californicus* (S3), en el cambio de pH, el potencial redox (Eh) y la remoción de Fe y Mn de un drenaje ácido artificial, en humedales artificiales, bajo condiciones de laboratorio. La perspectiva es obtener agua con calidad de los Límites Máximos Permisibles, en cumplimiento con el D.S N° 010-2010-MINAM. El estudio será de utilidad para investigaciones posteriores, sirviendo como antecedente en cuanto al diseño y la construcción de barreras geoquímicas en acuíferos que se encuentran afectados por las actividades mineras o industriales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. EL AGUA Y LA MINERÍA

2.1.1. Efectos hidrológicos de las actividades mineras

Las labores mineras pueden incidir de manera diferenciada sobre las aguas subterráneas y superficiales, esto se debe a las excavaciones a grandes profundidades y túneles que se realizan durante el proceso extractivo. Por otro lado, los efluentes generados durante el proceso de extracción se convierten en las principales fuentes de contaminación de los cuerpos receptores. Es por la cual, la reglamentación actual conlleva a la realización de operaciones en circuito cerrado en dichos procesos, evitando su descarga a las fuentes receptoras de agua (Clarke 1995).

Se dice que la minería afecta el ciclo hidrológico, debido a los cambios que produce en la infiltración, escorrentía, almacenamiento y retención de agua en zonas superficiales y subterráneas, así como su curso por los cauces. Esto se debe a que las zonas de recarga y el suelo, pueden resultar alterados al retirar la cobertura vegetal antes de las explotaciones. Los cambios originados en la infiltración, perturban a los niveles de aguas subterráneas y a los acuíferos, debido a la intercepción de aguas superficiales por las labores realizadas. Estas aguas son drenadas como parte de la labor minera, con la resultante afectación del nivel piezométrico de la zona circundante, cuyo dominio de extensión puede llegar a varios kilómetros en ciertos casos (Clarke 1995).

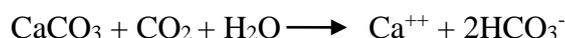
2.2. AGUAS GENERADAS EN LAS ACTIVIDADES MINERAS

Las aguas generadas por las actividades mineras se pueden dividir en dos grupos fundamentales, independientemente de su procedencia: aguas alcalinas y aguas ácidas, las que se describen a continuación.

2.2.1. Aguas alcalinas

Son aguas con bajo poder de solubilización, que provienen del contacto entre materiales dolomíticos o calizos con aguas subterráneas o superficiales. La disgregación del carbonato

cálcico, óxidos y silicatos minerales, ocurre debido a la presencia del anhídrido carbónico presentes en el agua, dando lugar a la reacción siguiente (Ziemkiewicz *et al.* 2003)



El ion bicarbonato que se encuentra en las aguas es el que determina la alcalinidad de las mismas. Para medir la alcalinidad total se hace uso de los símbolos mg.L^{-1} y se puede hacer su estimación con la siguiente formula:

$$100[(\text{HCO}_3^-) + 2(\text{CO}_3^{2-}) + (\text{OH}^-)]$$

Pese a que no es usual encontrar o tener aguas alcalinas, en algunas ocasiones puede ser perjudiciales, al igual que las aguas ácidas, siendo los materiales abruptos recién excavados los que aportan la mayor cantidad de contaminantes. Algunas aguas con característica alcalina o básica, contienen elevadas concentraciones de hierro ferroso, que al sufrir el proceso de oxidación e hidrólisis, se produce el cambio de las características del drenaje, siendo más frecuentes en minas subterráneas que en minas a cielo abierto, llegando a ser muy perjudiciales, ya que pueden generar la lixiviación de materiales con alto potencial de contaminación (Ziemkiewicz *et al.* 2003).

2.2.2. Drenajes ácidos de mina (DAM) o aguas ácidas de mina

2.2.2.1. Definición de drenajes ácidos de mina

Es un líquido conformado por sustancias ácidas sulfatadas, con un contenido significativo de metales disueltos, que es producto de la oxidación biológica y química de minerales sulfurados y de la lixiviación de metales pesados agrupados. Las oxidaciones ocurren en modo natural y son acelerados debido a la exposición de la roca al agua y al oxígeno, además por la actividad catalizadora de ciertas bacterias (AMPL 2002).

2.2.2.2. Mecanismos de formación de DAM

La principal causa del DAM se debe a la oxidación de los minerales de sulfuro (Tabla 1), como la pirita (FeS_2), debido a la exposición de estos minerales tanto al oxígeno y el agua (Johnson & Hallberg 2005 y Johnson 2003), y los microorganismos (Ali 2011). Aunque este proceso ocurre naturalmente, las actividades mineras aceleran el proceso de generación de DAM, cuyas actividades aumentan la exposición de minerales de sulfuro al agua, aire y a

los microorganismos (Akcil & Koldas 2006). Es por la cual que los DAM es prominente en los sitios mineros activos e inactivos (túneles abandonados, pozos subterráneos, pozos abiertos, pilas de residuos de roca y relaves de molinos) (Blowes *et al.* 2003). Siendo menos importante cuando la actividad minera se encuentra en producción activa, debido a que las capas freáticas se mantienen bajas a causa del bombeo del agua. Sin embargo, es severa en minas cerradas y abandonadas donde las bombas se desactivan, ocasionando el rebose del agua de las capas freáticas (Johnson & Hallberg 2005).

El proceso de generación de DAM es extremadamente complejo, ya que implica reacciones químicas, biológicas y electroquímicas que varían con las condiciones ambientales (Zdun 2001). En ese sentido los minerales de sulfuro en los depósitos de mineral se forman bajo condiciones reductoras en ausencia de oxígeno y al exponerse a oxígeno atmosférico o aguas que son oxigenadas por la minería debido al procesamiento de minerales, perforación u otras técnicas de movimiento de tierra, los minerales de sulfuro pueden llegar a oxidarse y a volverse inestables (IDIAF 2009).

Tabla 1: Minerales de sulfuro metálico que generan aguas ácidas en minería.

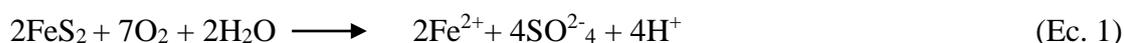
Sulfuro metálico	Formula química	Sulfuro metálico	Formula química
Pirita	FeS ₂	Molibdenita	MoS ₂
Pirrotita	Fe _{1-x} S	Millerita	NiS
Calcocita	Cu ₂ S	Galena	PbS
Covellita	CuS	Esfalerita	ZnS
Calcopirita	CuFeS ₂	Arsenopirita	FeAsS

FUENTE: Skousen *et al.* (1998).

Generalmente, el proceso de producción de DAM se ilustra bien considerando las reacciones durante el proceso de oxidación del sulfuro mineral más común que es la pirita (FeS₂), (Akcil & Koldas 2006; Ruihua *et al.* 2011). Como se muestra en la Fig. 1, la oxidación de pirita puede seguir varias vías (Ali, 2011; Buzzi *et al.* 2013) que implican interacciones superficiales con O₂ disuelto y Fe³⁺, y otros catalizadores minerales como MnO₂ (Blowes *et al.* 2003).

Según Akcil & Koldas (2006) sostienen que la primera reacción más importante es la oxidación que sufre la pirita (o sulfuro) en hierro disuelto, sulfato e hidrógeno (Ec. 1). Sin embargo, la tasa de oxidación que sufre la pirita y la obtención de ácido resultante depende

de las variables de composición en fase sólida y las actividades microbianas, así como la disponibilidad de oxígeno y agua (Lapakko 2002):



La presencia de sulfato en el drenaje de residuos mineros es típicamente el primer indicador de la oxidación de minerales a base de sulfuro (Lapakko 2002). En un entorno suficientemente oxidante (dependiente del contenido de O_2 , pH superior a 3,5 y actividad bacteriana), el hierro ferroso liberado en la Ec. 1 se puede oxidar a hierro férrico de acuerdo con la siguiente reacción en la Ec. 2 (Blowes *et al.* 2003; Akcil & Koldas 2006):



Si el oxígeno es bajo, la reacción (Ec. 2) no ocurrirá hasta que el pH alcance 8.5 (Fripp *et al.* 2000). En general, en muchas condiciones, la reacción (Ec. 2) es la etapa de limitación de la velocidad en que se oxida la pirita, porque la conversión de ferroso a férrico es lenta a valores de pH inferiores a 5 en condiciones abióticas (Skousen *et al.* 1998). A un pH entre 2,3 y 3,5, el hierro férrico formado en la reacción (Ec. 2) puede precipitar como $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (y en menor grado como jarosita, $\text{H}_3\text{OFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ dejando poco Fe^{3+} en solución mientras simultáneamente bajar el pH (Blowes *et al.* 2003; Akcil & Koldas 2006):



Si el pH es inferior a 2, los productos de hidrólisis férrica como $\text{Fe}(\text{OH})_3$ no son estables y Fe^{3+} permanece en solución (Dold 2010). Sin embargo, cualquier resto de Fe^{3+} de la Ec. 2 que no precipita en $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (o jarosita) a partir de la solución por medio de la Ec. 3 se puede usar para oxidar pirita adicional, en acorde con la siguiente reacción en la Ec. 4 (Akcil & Koldas 2006):



Como se ve en la Ec. 4 la oxidación que sufre la pirita por hierro férrico da lugar a una disminución adicional en el pH (Singer & Stumm 1970). Mientras que el oxígeno es un oxidante primario, el hierro férrico (Fe^{3+}) resultante de la oxidación del hierro ferroso es ahora reconocido como un oxidante más potente que el oxígeno, incluso a pH neutro (Zdun 2001).

De hecho, por debajo de aproximadamente pH 3, la oxidación que sufre la pirita por hierro férrico es alrededor de 10-100 veces más rápida que por el oxígeno (Dold 2010), por lo que la oxidación que le ocurre a la pirita por los iones férricos es la reacción dominante (Singer y Stumm 1970). Por su parte, Luther (1987) atribuyó esta observación a la transferencia de electrones más eficientes de Fe^{3+} en comparación con el oxígeno.

Cuando se produce hierro ferroso (Ec. 4) y suficiente oxígeno disuelto, el ciclo de reacciones (Ec. 2 y Ec. 3) se propaga hasta que se agota el suministro de hierro férrico o pirita (Younger *et al.* 2002). Sin embargo, incluso sin oxígeno disuelto, la reacción (Ec. 4) continuará completándose y el agua mostrará niveles elevados de hierro ferroso (Younger *et al.* 2002).

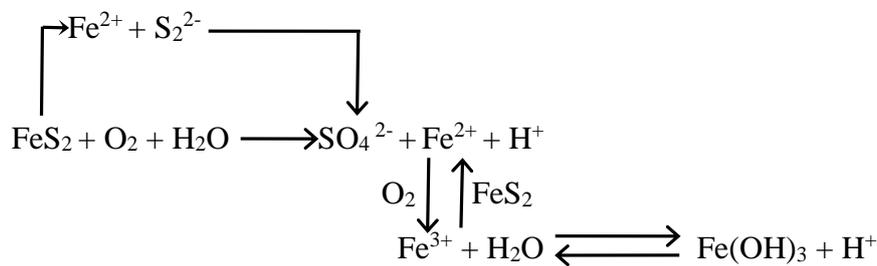
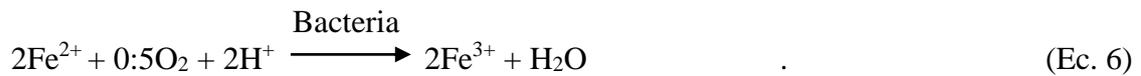
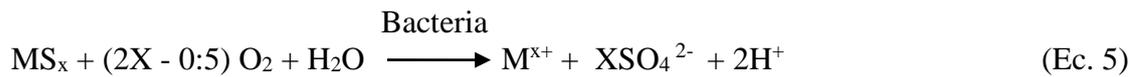


Figura 1: Proceso de oxidación que sufre la pirita.

FUENTE: Ali (2011), y Buzzi *et al.* (2013).

Se debe considerar que, en los sistemas naturales, las reacciones (Ec. 2) y (Ec. 4) pueden ser significativamente acelerados por la presencia de bacterias acidófilas como *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Singer & Stumm 1970; Jennings *et al.* 2008). Esta bacteria y otras especies están implicadas en el desgaste de la pirita, en tal sentido la bacteria *A. ferrooxidans* ha demostrado aumentar la tasa de conversión de hierro en un factor de cientos a un millón (Blowes *et al.* 2003; Singer & Stumm 1970).

Según Fowler *et al.* (2001) sostienen que el mecanismo de oxidación (o lixiviación) de minerales portadores de sulfuro por las bacterias comprendía dos o tres mecanismos diferentes. En primer lugar, el mecanismo directo que supone que las bacterias se adhieren a las superficies de las partículas minerales, y oxidan directamente los restos de hierro y azufre en el mineral por medios biológicos para liberar iones metálicos en solución (Ec.5). Por su parte el mecanismo indirecto, involucra a las bacterias en el hierro ferroso oxidante en solución al hierro férrico y al azufre elemental a los iones sulfato Ec. 6 y Ec. 7, respectivamente). A continuación, el hierro férrico generado lixivía el mineral de sulfuro (Ec. 8).



Donde M es un metal, y X es un número entero.

El tercer mecanismo, el mecanismo de contacto indirecto, supone que las bacterias se adhieren a las superficies de las partículas minerales y excretan los polímeros que forman una capa exopolimérica (Simate 2008). Las bacterias posteriormente oxidan el hierro ferroso al hierro férrico dentro de esta capa exopolimérica, y el hierro férrico fermentado lixivia el mineral dentro de este compartimiento (Ec. 6 y Ec. 8, respectivamente).

2.2.2.3. Efectos del drenaje ácido de mina (DAM)

Como se puede ver en la sección anterior, la oxidación de minerales sulfúrico (pirita) promueve la creación de ácido sulfúrico que posteriormente promueve la liberación de toda una gama de metales. Como resultado, los DAM contienen altos contenidos de metales ácidos y disueltos. Cuando esta mezcla tóxica fluye a las aguas subterráneas, arroyos y ríos da lugar a varios problemas ambientales. Los DAM son tóxicos para los organismos acuáticos, destruyen los ecosistemas, corroen las infraestructuras y dañan el agua en las regiones donde el agua dulce ya es escasa (Ruihua *et al.* 2011).

2.3. TIPOS DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE DAM

En particular cada minera presenta un potencial único de producción de DAM, así como la naturaleza y dimensión de los riesgos asociados, cuya factibilidad de opciones de mitigación pueden variar de un sitio a otro. No hay métodos estandarizados para clasificar medir y reducir el riesgo del DAM (Akcil & Koldas 2006). Sin embargo, hay dos categorías principales de tratamiento del DAM, entre estos tenemos los activos y pasivos:

2.3.1. Tratamientos activos

Son métodos de tratamiento convencional en la que se utilizan productos químicos para el tratamiento de DAM, tienen un coste elevado, por lo que no pueden ser mantenidos por un período prolongado una vez finalizada la actividad minera, considerando que el inconveniente de las aguas ácidas puede permanecer, muchos cientos de años (Younger 1998). Dichos métodos básicamente incluyen la aplicación de productos químicos alcalinos para precipitar metales y otras técnicas tales como adsorción (Fu & Wang 2011), intercambio iónico (Gaikwad *et al.* 2010) y membrana (Ricci *et al.* 2015).

Entre las opciones convencionales de tratamiento químico activo, tenemos la neutralización del DAM mediante la utilización de productos químicos alcalinos como el hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) o piedra caliza (CaCO_3) que son métodos comunes que se han aplicado ampliamente para la erradicación de metales como precipitados de hidróxido metálico y sulfato como lodo de yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Olds *et al.* 2013; Tolonen *et al.* 2014).

2.3.2. Tratamientos pasivos

Los tratamientos pasivos son sistemas que se fundamentan sobre los procesos físicos, químicos y biológicos que tienen lugar en los humedales naturales (Watzlaf 1997). Se trata de un tratamiento biológico con humedales construidos, tratamiento químico con desagües calcáreos y biorreactores reductores de sulfato (Tolonen *et al.* 2014). Una de las opciones de tratamiento pasivo más utilizadas son las barreras reactivas permeables las cuales emplean procesos químicos o biológicos (Neculita *et al.* 2007). La opción de tratamiento pasivo es más apropiada para aplicaciones en minas abandonadas que cuentan con flujo continuo de DAM (Lukacs & Ortolano 2015; Song & Choi 2015), ya que tiene beneficios de bajo costo operacional y mantenimiento. En tal sentido en los últimos 25 años, las investigaciones se han centrado en la determinación de métodos pasivos para el tratamiento de DAM la cual ha cobrado gran relevancia con respecto a los métodos químicos tradicionales

En las bases de comparación, la opción de tratamiento pasivo se considera una alternativa económica al tratamiento activo, ya que no requiere insumos químicos continuos y costos elevados para la eliminación de lodos (Johnson & Hallberg 2005). En términos relativos, los métodos pasivos de tratamiento son más económicos que los activos. Los residuos

producidos son más densos, menos voluminosos y más estables que los lodos producidos durante el tratamiento químico (Neculita *et al.* 2007). Además, el tratamiento pasivo tiene menores impactos ambientales por los materiales ambientalmente relevantes que se usan habitualmente durante el tratamiento. También se ha indicado claramente que los tratamientos pasivos apropiadamente usados son muy importantes para la restauración ecológica debido a su capacidad de generación de sedimentos como resultado de la biomineralización (Kalin 2004).

Sin embargo, hay varios inconvenientes, que limitan su uso en las industrias mineras modernas. Por ejemplo, los tratamientos pasivos requieren un proceso más largo para una remediación eficaz de los DAM (Iakovleva *et al.* 2015).

Según López *et al.* (2002) indican que los tratamientos pasivos pueden ser de tres tipos, los cuales se especifica a continuación:

- Tratamientos pasivos abióticos: Drenajes anóxicos calizos (ALD)
- Tratamientos pasivos bióticos: Humedales aeróbicos, anaeróbicos y biorreactores anaeróbicos.
- Tratamientos pasivos combinados: Sistemas sucesivos de producción de alcalinidad (SAPS)

2.3.3. Tratamientos mixtos

Son sistemas de tratamiento que combinan tecnologías pasivas con tecnologías activas. Suelen tener dos componentes una biológica y una química los cuales operan independientemente.

Dentro de estos tratamientos mixtos cabe destacar birreactores y humedales anaeróbicos, en donde la disminución biológica de los sulfatos es facilitada mediante la implementación de un proceso químico este es el caso de los humedales construidos que incorporan inyección de gas hidrógeno (Kuschk *et al.* 2012).

Una vez que se ha recogido los drenajes de residuos y previo a elegir el sistema de tratamiento es necesario proceder a la realización de su caracterización geoquímica (oxígeno diluido, pH, concentración de metales, conductividad y otros), y prestar atención especialmente a las condiciones hidrológicas del lugar, así como a los cambios de

temperatura y clima. Entre los principales atributos a considerar en el diseño de un sistema pasivo, se tiene: Las cualidades del agua a tratar, la geometría del mecanismo, la superficie o el área, la hondura de las cámaras, el contenido del sustrato y el tiempo de detención hidráulica.



Figura 2: Rango óptimo de aplicación de los sistemas de tratamiento de DAM.
FUENTE: Kuschik *et al.* (2012).

2.4. TRATAMIENTOS PASIVOS DE DAM

2.4.1. Tratamientos pasivos abióticos

Son aquellos que se basan en el tratamiento del DAM, mediante la adición de sustancias neutralizantes, entre estos tenemos:

2.4.1.1. Drenes anóxicos de caliza (ALD)

Es una zanja repleta de gravas de caliza u otro material calcáreo, cerrada el techo por una geomembrana impermeable y una cubierta de tierra arcillosa. La zanja se instala a una profundidad (1 o 2 m) para conservar las condiciones anóxicas. Se hace discurrir el drenaje ácido por la parte interna de la zanja, induciendo así, la disolución de la caliza, generando alcalinidad ($\text{HCO}_3^- + \text{OH}^-$) y además elevando la potencia de hidrogeniones (pH) del agua (Evangelou 1998).

La presión parcial de dióxido de carbono (pCO_2) y el pH, son los componentes que causan efecto a la disolución de la caliza en agua natural. Además, están intercorrelacionados; si aumenta el pCO_2 provoca el declive del pH. Como ejemplo se puede mencionar a la mayor disolución que sufre la calcita, que es cuando el potencial de hidrogeniones (pH) es ácido y cuando hay elevadas concentraciones de pCO_2 (Evangelou 1998).

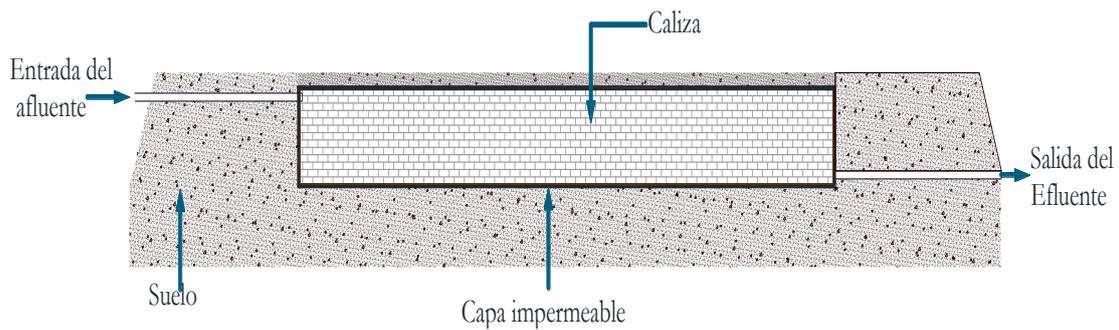


Figura 3: Esquema del funcionamiento de un ALD.
FUENTE: Elaboración propia.

Las condiciones anóxicas del sistema, trata de evitar la precipitación de hidróxidos y óxidos, y por ende el acorazamiento de la grava caliza, conservando su validez como origen generador de alcalinidad. El propósito del ALD es transformar aguas que tienen acidez neta en aguas que presentan exceso de alcalinidad. Por lo general, el agua ácida que es tratada en un ALD es transportada a un estanque o depósito de precipitación u a otro sistema que intervenga el aire (aerobio), beneficiando la oxidación, la hidrólisis y la precipitación de los oxihidróxidos metálicos (Fripp *et al.* 2000).

El objetivo con estos sistemas es añadir alcalinidad a los DAM mientras se mantiene el hierro en su forma reducida para evitar la oxidación del hierro ferroso y la formación de precipitados de hidróxido férrico sobre la piedra caliza, lo que reduce drásticamente la eficacia del agente neutralizante. Dentro del drenaje se incrementa la presión de una parte del CO_2 , acelerando la tasa de disolución de la piedra caliza y consecuentemente aumentando la concentración de alcalinidad, que puede alcanzar hasta 275 mg.L^{-1} en comparación con un sistema abierto que, en equilibrio que genera de $50\text{-}60 \text{ mg.L}^{-1}$ de alcalinidad (Kleinmann *et al.* 1998).

2.4.1.2. Canales o drenes abiertos de caliza

Son zanjas superficiales llenas de calizas que introducen alcalinidad mediante la disolución. En estos canales se reduce la solubilidad de las calizas en un 20 a 50%, debido al acorazamiento de las calizas con hidróxido de hierro, conllevando a la necesidad de utilizar mayor cantidad de caliza en este tratamiento (Pearson & Mc Donnel 1975).

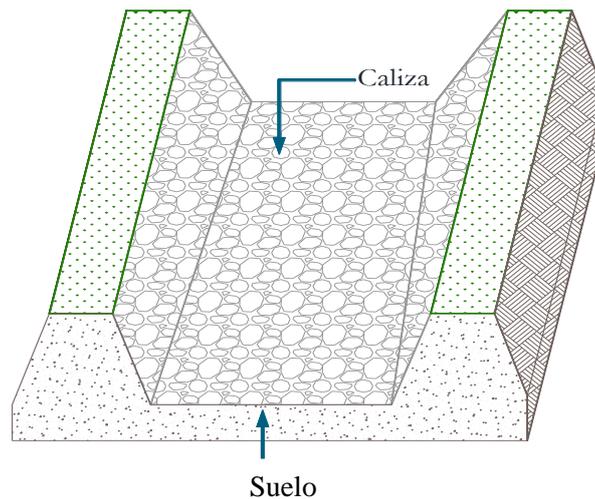


Figura 4: Esquema de un canal o dren revestido de caliza.
FUENTE: Elaboración propia.

La condición óptima para la aplicación de este método se obtiene cuando la pendiente excede el 20%, con esta pendiente la velocidad del flujo mantiene los precipitados en suspensión, evitando que se posen en la superficie de la caliza. El alto contenido de oxígeno origina la hidrólisis y la oxidación del Fe y Al disueltos, que se precipitan como oxihidróxidos. Su diseño está en función del tiempo de retención y caudal a utilizar en el tratamiento.

2.4.1.3. Estanques de caliza

Los estanques de roca caliza son un sistema relativamente nuevo de tratamiento abiótico pasivo, el cual se construyen colocando calizas en el fondo, por medio del cual el agua ácida asciende (Faulkner & Skousen 1995).

Estos están basados en la topografía de la zona, y las condiciones de la descarga, el agua puede ascender entre uno y tres metros, en un estanque que puede contener entre 0.3 a 1 m de sustrato de calizas. Este sistema es recomendado para agua con baja demanda de oxígeno y sin Fe^{+3} o Al^{+3} .

2.4.2. Tratamientos pasivos bióticos

2.4.2.1. Humedales aerobios

Kadlec & Knight (1996) sostienen que los humedales aerobios son sistemas que reproducen los procesos y fenómenos que ocurren en los humedales naturales (marismas, pantanos, turberas, etc.), estableciendo un ambiente benéfico para el crecimiento y desarrollo de algunas plantas (carrizo, Típha, junos, Equisetum, etc.), musgos (Sphagnum) y grupos de

organismos (protozoos, algas y bacterias), los mismos que participan en la purificación del agua. Estos humedales invaden una gran área y tienen una superficial lámina de agua que causa inundación al substrato sobre el cual se desarrolla la vegetación. El fluir lento del agua en el humedal facilita lograr el tiempo de retención básica e importante para que tomen lugar los procesos lentos depuradores del agua.

Según Skousen *et al.* (1998) sostienen que los sistemas aeróbicos benefician el contacto entre el aire atmosférico y el agua contaminada a través del empleo de plantas acuáticas, al liberar oxígeno por sus rizomas y raíces; para que la vegetación actúe de esta manera, el grosor de la lámina de agua debe ser menor o igual a 30 cm. El substrato ya oxigenado del humedal favorece la formación de un entorno favorable para que puedan desarrollarse algunas colonias de bacterias que intervienen como catalizadoras en la reacción de oxidación de los agentes contaminantes que se encuentran en el humedal, convirtiendo en el caso del hierro el Fe^{2+} a Fe^{3+} , el mismo que es precipitado como hidróxido.

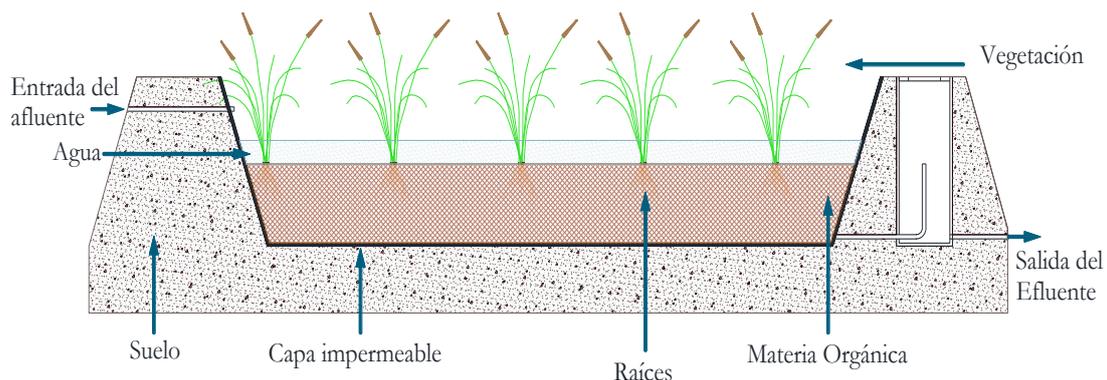


Figura 5: Esquema de un humedal artificial aerobio.
FUENTE: Elaboración propia.

Dentro de los muchos procesos que se llevan a cabo en un humedal aerobio se presentan el intercambio iónico y adsorción de metales en los componentes del substrato, la filtración de la materia en suspensión, la bioacumulación de metales en las porciones emergentes y las raíces de los vegetales o plantas, incluido el precipitado de los hidróxidos y los metálicos mediante las reacciones de oxidación e hidrólisis (Eger 1994).

Para ayudar la oxigenación del agua y optimizar la eficacia en el tratamiento se hace el diseño de sistemas que incluyan lechos serpenteantes, cascadas y balsas de grandes áreas con escasa profundidad.

2.4.2.2. Humedales anaerobios

Un humedal anaerobio es un ambiente que presenta una lámina de agua y un sustrato rico en materia orgánica para beneficiar las condiciones anóxicas que se demandan para su correcto proceso, por lo que, la altura de la lámina de agua debe ser mayor a los 30 cm. Esta lámina recubre un sustrato permeable de espesor de 30 a 60 cm formado en su mayoría por material orgánico (70 a 90 % de aserrín, heno, compost, estiércol, turba, etc.), que se encuentra mezclado o bien preparado. El propósito del sustrato orgánico es erradicar el oxígeno que está disuelto, producir alcalinidad a través de procesos químicos o con la intervención de microorganismos y de reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} . Sobre este sustrato se da el desarrollo de la vegetación que emerge, particularidad propia de los humedales, la cual ayuda a dar estabilidad al sustrato, asimismo adiciona materia orgánica gratuitamente (Skousen *et al.* 1998).

Skousen *et al.* (1998) mencionan que, estos sistemas laboran en constante inundación, fluyendo cierta cantidad de agua en forma horizontal por medio del sustrato orgánico. Además, se desarrollan microorganismos, como las conocidas bacterias anaerobias sulfuro-reductoras (*Desulfomaculum* y *Desulfovibrio*), que tienen la capacidad de emplear su reacción con la materia orgánica del sustrato (CH_2O) y el sulfato diluido en el agua intersticial como manantial de energía para su metabolismo. Esta reducción bacteriana del sulfato produce azufre elemental, o ácido sulfhídrico y alcalinidad.

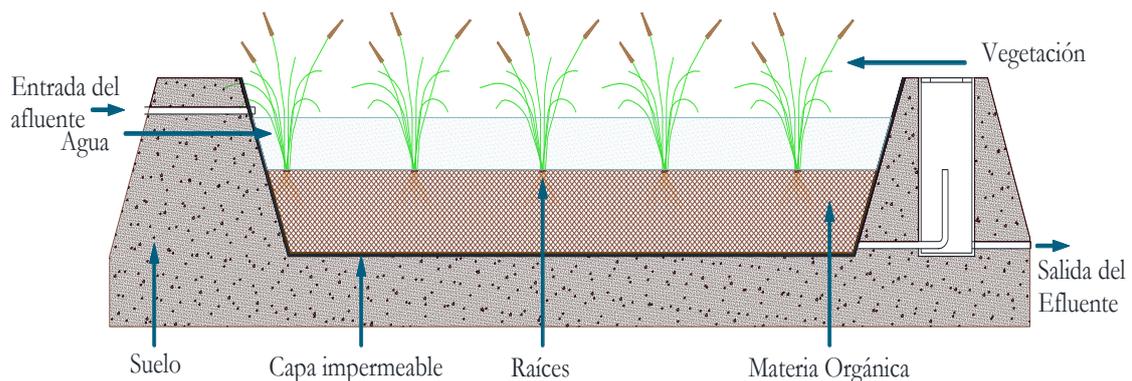


Figura 6: Esquema de un humedal artificial anaeróbico.

FUENTE: Elaboración propia.

2.4.2.3. Barreras permeables reactivas

Una barrera permeable reactiva es una pantalla geoquímica reactiva que permite el paso del agua, pero crea unas condiciones bioquímicas tales que reduce el paso de contaminantes.

En una barrera permeable reactiva se generan condiciones reductoras favorables para el proceso de precipitación de metales, como sulfatos. También se puede plantear la construcción de barreras para la supresión de contaminantes orgánicos, tanto por adición de aceptores de electrones, para mantener condiciones oxidantes, como por creación de condiciones muy reductoras. La tecnología de barreras geoquímicas es relativamente moderna. Las referencias más antiguas datan de 1992 (Gillham & Ó Hannesin 1992).

2.4.2.4. Reactores de compost

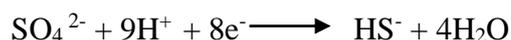
Los reactores de compost son sistemas de tratamiento biológico pasivo que trabajan bajo condiciones reductoras, para lograr estas condiciones requieren sustancias orgánicas que alimentan los procesos reductores (Johnson 2004).

Los procesos reductores son necesarios para la separación de los metales presentes en solución como sulfatos (cobre, zinc, etc.), para eliminar como sulfuros insolubles. Los procesos anaeróbicos que ocurren en los reactores de compost se pueden representar por medio de las reacciones bioquímicas siguientes (Johnson 2004).

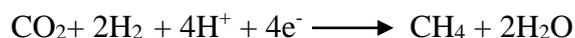
a. Reducción férrica:



b. Sulfato reducción



c. Metano génesis



d. Fermentación

La fermentación proporciona los pequeños compuestos polímeros acrílicos ácidos necesarios para que se puedan realizar todas las reacciones anteriores (Johnson, 2004).

2.4.3. Tratamientos mixtos

2.4.3.1. Sistema de producción sucesiva de alcalinidad (SAPS)

Skousen *et al.* (1998) indican que este sistema de tratar aguas ácidas de minas, fue llevada a cabo por Kepler y McCleary en 1994, con el propósito dar solución al problema de la gran

área superficial que requiere el proceso de precipitación de los hidróxidos de Al y los hidróxidos de Fe en los sistemas o medios ALD, y los humedales en ausencia de aire (anaerobios). Por ende, en un SAPS se persiguen los objetivos de un ALD (aumentar la alcalinidad) y de un estanque orgánico (reducción del sulfato y retención metálica).

Un SAPS es un estanque en cuyo interior se colocan dos substratos, uno de compuestos orgánicos y otro de material alcalino, que se encuentran en una profundidad entre 1 y 3 m, y que es drenado por la parte inferior mediante un conjunto de tubos (Fig. 7). El substrato inferior está constituido por caliza (0,5 a 1 m de espesor) y su función es neutralizar el pH del afluente. La capa superior está constituida por material orgánico (0.1 a 0.5 m de grosor) y su función es suprimir el oxígeno disuelto que está en el agua, se disminuye el sulfato y el Fe^{3+} es convertido en Fe^{2+} , impidiéndose la precipitación del conocido hidróxido de Fe^{3+} por encima de la cubierta de caliza (Skousen *et al.* 1998).

Para hacer óptimo la reducción del sulfato y el aumento del pH en el sistema, el agua que ingresa por la parte superior se acumula como embalse para obtener condiciones de anoxia en las capas inferiores, y se fuerza a un flujo vertical por medio de las cubiertas de caliza y materia orgánica para, últimamente, drenarla desde la base y transportarla generalmente a una balsa de precipitados (Skousen *et al.* 1998).

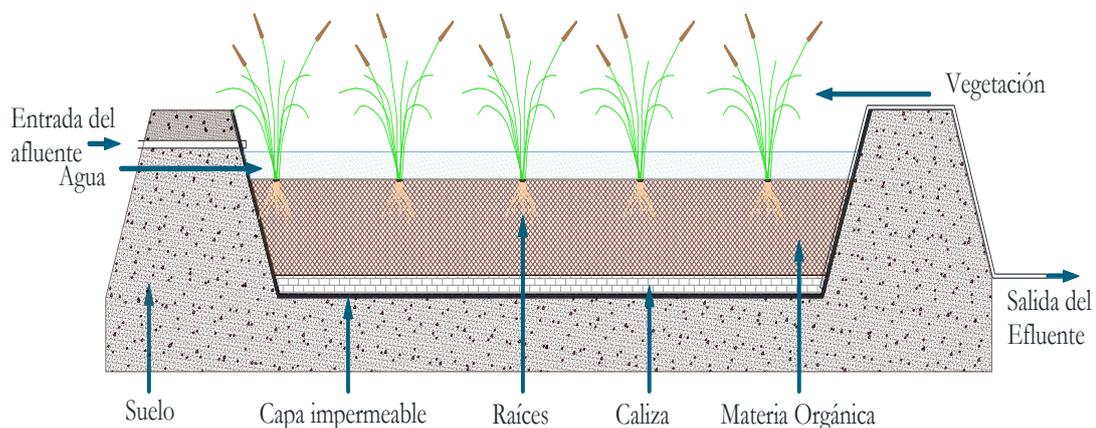


Figura 7: Esquema de un humedal artificial SAPS.
FUENTE: Elaboración propia.

2.5. HIDROLOGÍA DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES

Según Seoanez (1995) reporta que existen dos tipos de humedales artificiales, que se diferencian según sea el sistema de circulación de las aguas aplicadas y/o tipo de vegetación presente, estableciéndose en dos grupos:

- Sistemas de flujo libre (SFSL).
- Sistemas de flujo subsuperficial (SFS).

2.5.1. Sistemas de flujo libre (SFL)

Los humedales de flujo libre son aquellos sistemas donde el agua está expuesta a la atmósfera, y consiste regularmente de uno o más canales de escasa profundidad que puede tener o no una capa de base para prevenir la percolación, que puede sufrir el agua freática susceptible a contaminarse y una capa inmersa de suelo para tolerar la raíz de la vegetación macrofita emergente (EPA 1998).

2.5.2. Sistemas de flujo subsuperficial (SFS)

Los SFS están contruidos a manera de un canal o lecho, puede tener o no una barrera que frene la percolación del agua hacia el sustrato, además contiene un medio adecuado (arena, grava u otro material) que resiste el desarrollo de las plantas. El nivel de agua se encuentra por debajo del área del soporte y fluye exclusivamente por el entorno que sirve para el desarrollo y aumento de la película microbiana que viene a ser la responsable de la mayoría del tratamiento que ocurre (Silva 2005). Estos sistemas pueden ser de dos tipos en función de la forma de aplicación del agua al sistema: (1) humedales SSF de flujo horizontal y (2) humedales SSF de flujo vertical.

2.6. MICRORGANISMOS EFICACES (EM)

Los microorganismos eficientes es un cultivo mixto de microorganismos benéficos que pueden aplicarse como inoculante para incrementar la diversidad microbiana de los suelos, aumentando la calidad y la salud de los mismos, así como el crecimiento y el rendimiento de las plantas, Red de Agricultura Natural de la Región Asia/ Pacífico (APNAN 2004).

Los Microorganismos Eficientes (EM) fueron desarrollados en la década de los 70, están conformados esencialmente por tres diferentes grupos de microorganismos: levaduras, bacterias ácido lácticas y bacterias fotosintéticas, las cuales desarrollan una sinergia metabólica que permite su aplicación en diferentes campos de la ingeniería. Las principales aplicaciones a nivel industrial se han concentrado en el aprovechamiento de suelos, residuos agropecuarios y tratamientos de aguas (Rodríguez 2009).

Por su parte IDIAF (2009), manifiesta que, por medio de los efectos antioxidantes, inician la desintegración de la materia orgánica, aumentando así el contenido de humus; dichos efectos antioxidantes ingresan de manera directa al suelo y de manera indirecta a las plantas, conservando así el contenido de NPK y CN que poseen.

Según APNAN (1995) indica que dentro de los principales grupos de EM se hallan:

- **Bacterias fototróficas o fotosintéticas:** Este tipo de bacterias se automantienen a partir de secreciones de raíces, materia orgánica y gases sulfhídricos. Los ácidos nucleicos, los aminoácidos, sustancias bioactivas y azúcares producidos por las bacterias fotosintéticas incrementan su desarrollo y a la vez el desarrollo de otros organismos como las micorrizas, debido a que facilitan compuestos nitrogenados.

Por otro lado, las bacterias fototróficas producen ondas de resonancia, con altas frecuencias de rayos X y gamma. Se ha dicho que tales ondas son capaces de transformar la energía negativa en positiva.

- **Bacterias Ácido Lácticas.** Representa el conjunto más cuantioso de los EM (Higa y Parr 1994, citados por Edens *et al.* 1997).

Las bacterias ácido lácticas producen sustancias inhibitoras como, por ejemplo, la reuterina, la misma que es fungistática e inhibitora del crecimiento de otras bacterias Gran-negativas y Gran-positivas, junto a la levadura, mohos y protozoos (Edens *et al.* 1997).

Además, el ácido láctico proviene de azúcares y otros carbohidratos secretados por las bacterias fotosintéticas y levaduras. El ácido láctico es una sustancia capaz de esterilizar y suprimir microorganismos dañinos. Estas bacterias aceleran la descomposición de la materia orgánica, ya que promueven el rompimiento y fermento de la lignina y celulosa (Edens *et al.* 1997).

- **Levaduras:** Este tipo de hongos sintetizan sustancias antimicrobianas, hormonas y enzimas a partir de aminoácidos y azúcares secretados por bacterias fotosintéticas, materia orgánica y raíces, las cuales sirven de sustratos para las bacterias ácido lácticas y actinomicetos.

- **Actinomicetos:** Son un conjunto de hongos que producen sustancias inhibidoras de las bacterias y los hongos (como los antibióticos), a partir de la materia orgánica y de los aminoácidos secretados por bacterias fotosintéticas.
- **Hongos fermentativos:** Este tipo de hongos se encargan de descomponer la materia en proceso de descomposición (materia orgánica) alcohol, esterres y sustancias antimicrobianas, eliminando de esta manera el desarrollo de moscas y malos olores.

2.7. COMPONENTES DE LOS HUMEDALES PARA EL TRATAMIENTO DE DAM

2.7.1. Vegetación

En los sistemas de humedales la vegetación cumple con distintas funciones entre ellas; las hojas y tallos sumergidos se degradan convirtiéndose en abono para el sistema, proveen de superficie para el desarrollo bacteriano facilitando las reacciones microbianas que incluyen oxigenación y nitrificación/desnitrificación indispensables para la vida de las plantas, son un medio de filtración y sedimentación de sólidos, atenúan la luz del sol y así previenen el crecimiento de algas, reducen los efectos del viento en el agua y son importantes en la transferencia de gases (Marchand *et al.* 2010). Por su parte, Johson & Hallberg (2005), sostienen que contribuyen a la estabilización de los precipitados férricos acumulados y aceleran la rapidez de oxidación de hierro ferroso.

Las funciones de las plantas de humedales las convierten en un componente importante, debido a que contribuyen a la supresión de contaminantes mediante la alteración de la hidrología, el secuestro de partículas y la acumulación de contaminantes (Kadlec 2008). Estos procesos pueden ser utilizados para diseñar humedales con una serie de enfoques de tratamiento, que son principalmente fitoextracción, rizofiltración y fitoestabilización.

Puesto que el drenaje de mina puede ser muy ácido o muy básico, y con concentraciones relativamente altas, la selección de las plantas se debe hacer de manera cuidadosa, considerando su capacidad de resistir estas condiciones particulares. Las macrófitas tales como la *Thypha* y *Phragmites spp* son dos de las especies más utilizadas, gracias a su tolerancia a condiciones ácidas y su adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales (Johson & Hallberg 2005). Del mismo modo, Kadlec & Knight (2000) y Skousen *et al.* (1994) sostienen que las principales especies utilizadas en el tratamiento de DAM en humedales construidos son: *Typha* y *Sphagnum*. Por su parte, Kadlec (2008) argumenta

que las plantas emergentes persistentes son las que se usan con más frecuencia, tales como juncos (*Scirpus*), spikerush (*Eleocharis*), otras juncias (*Cyperus*), rushes (*Juncus*), caña común (*Phragmites*), y cattails (*Typha*). Así mismo indica que existen ciertos factores que permiten conocer la capacidad que tienen las plantas para absorber y traslocar metales del suelo a la parte aérea entre ellos tenemos el Factor de bioconcentración (BCF) y el factor de translocación.

2.7.2. Compuestos orgánicos

Varios desechos a base de plantas y animales han sido probados para la remediación DAM, tales como compost de estiércol lácteo, residuos celulósicos, cáscara de arroz, pastas de café etc. Por ejemplo, el compost de estiércol lácteo se ha utilizado como un bio-sorbente eficiente para la supresión de metales traza de la DAM (Zhang 2011). Es el medio óptimo e ideal para el desarrollo y aumento de las bacterias sulfato - reductoras, en donde se reduce el sulfato, se erradica el oxígeno disuelto del agua y se transforma el Fe^{3+} en Fe^{2+} , evitándose así la precipitación del hidróxido de Fe^{3+} sobre la cubierta de caliza, entre estos tipos de sustrato se pueden utilizar compost, turba, estiércol, aserrín, etc., (Watzlaf 1997).

Por su parte IHE (2000), sostiene que la finalidad de utilizar un lecho de compost es de reducir sulfatos y metales a sulfuros metálicos, además busca aportar alcalinidad por parte de las bacterias que son conocida como sulfato reductoras.

Una de las características principales del medio o sustrato es que debe tener la permeabilidad suficiente para permitir el paso del agua (Lara 1999), ya que este afecta directamente al flujo hidráulico del humedal y por ende en el caudal de agua a tratar (Arias 2004).

2.7.3. Caliza

Es una gran fuente de bicarbonatos, producto de la disolución de minerales carbonatados, permitiendo de esta manera aumentar el pH en combinación con las actividades de las bacterias en la que dichos procesos se realizan en condiciones anaeróbicas (Ettner 1999).

Los tratamientos pasivos basados principalmente en la piedra caliza están bien estudiados y se emplean en el tratamiento de DAM. Algunos de los más utilizados son los drenajes de piedra caliza anóxicos (ALD), los drenajes oxílicos de piedra caliza (OLD), los canales de caliza abiertos (OLC) y los depósitos de desviación de caliza. Estas opciones de tratamiento

están generalmente limitadas por tasas más lentas de neutralización y eliminación de contaminantes metálicos que están relacionados con el tratamiento activo (Yadav & Jamal 2015).

2.7.4. Bioaumentación mediante la utilización de EM

La bioaumentación en humedales es la suplementación de microbios que tienen ciertos rasgos metabólicos favorables en los lechos de humedales para acelerar la biodegradación de contaminantes industriales degradables (Merlin & Cottin 2012). En general, la bioaumentación sería una posibilidad para acortar el período de adaptación y acelerar el progreso de las características necesarias de la comunidad microbiana local. Además, la bioaumentación se ha conducido a menudo en CW para mejorar la degradación de algunos contaminantes específicos, como los plaguicidas (Gruber *et al.* 2001) y químicos orgánicos (Simon *et al.* 2004) y la supresión de metales pesados (Park *et al.* 2008), porque las vías metabólicas de estas bacterias funcionales no están muy presentes en el medio ambiente.

2.8. PARÁMETROS ANALIZADOS

2.8.1. Ion hidrógeno pH y Eh

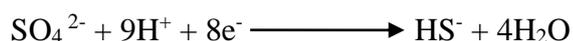
El pH es una medida de acidez o alcalinidad que indica la cantidad de iones de hidrógeno presentes en una solución o sustancia. El pH se puede medir en una solución acuosa utilizando una escala de valor numérico (0 a 14) que mide las soluciones ácidas (mayor concentración de iones de hidrógeno) y las alcalinas (base, de menor concentración) de las sustancias. Cuando una sustancia es neutra el número de los átomos de hidrógeno y de oxhidrilos son iguales. Cuando el número de átomos de hidrógeno (H^+) excede el número de átomos del oxhidrilo (OH^-), la sustancia es ácida.

El pH ocasiona efectos tanto en el movimiento de varios metales pesados como en la especiación química (Baruah *et al.* 1996). Este factor juega un importante papel en las combinaciones de los metales pesados con parámetros como, por ejemplo, con los compuestos orgánicos y con la dureza del agua (carbonatos principalmente) (Rovira 1993). Los aminoácidos, por un carácter anfótero, pueden liberar o absorber cationes metálicos, y preferentemente aquellas que se muestran en elevadas concentraciones, ya sea en un medio como solución o en forma de precipitados de aguas que están contaminadas (llamados también eutróficas) (Rovira 1993; Calmano *et al.* 1993).

El agua ingresa a los compartimentos de tratamientos con un pH de 2 ± 0.07 , ingresa por el sustrato de materia orgánica para luego pasar al sustrato de caliza, donde se eleva por efecto de la neutralización química de la acidez, como se puede observar en la reacción que se muestra a continuación:



En el sustrato orgánico también se producen procesos bioquímicos anaeróbicos de sustrato reducción que contribuye a aumentar el pH, de acuerdo a la siguiente ecuación:



El pH es el indicador que nos permitirá monitorear el comportamiento de cada tratamiento en cuanto a su neutralización química y biológica, por su parte el potencial de oxidación-reducción es responsable de que los metales se encuentren en estado oxidado o reducido afectando a su solubilidad.

El potencial redox es una forma de medir la energía química de oxidación – reducción mediante un electrodo, convirtiéndolo en energía eléctrica. El potencial redox es positivo cuando se produce una oxidación y negativo cuando se produce una reducción. Normalmente, las acciones redox viene acompañadas de cambios de pH en el medio. En tal sentido la oxidación del agua acidifica el medio (se produce iones de H^+), mientras que su reducción lo basicifica (se generan iones OH^-)

El potencial redox, de un entorno o ambiente dado, interviene en los fenómenos de especiación metálica. La actividad que tienen los electrones libres en el contenido de agua, que están definidos y concretizados por el Eh (mV), tienen control relativo de los equilibrios redox. Cuando el Eh presenta valores altos, se asocian los conocidos fenómenos oxidantes; en cambio, si el Eh presenta valores bajos, se asocian los fenómenos reductores. Los sedimentos debido a que están expuestos a condiciones redox establecidas, pueden afectar al estado de ciertos elementos como por ejemplo C, O, Fe, S, Ni, Ag, As, Hg, Cr y Pb. De modo que, cuando los sulfatos sufren reducción a sulfuros, el efecto es producir la precipitación de los metales (CdS , FeS_2 , MnS , HgS , CuS , y ZnS). Además, el Eh puede intervenir en los procesos de adsorción, inclusive al mismo contaminante (Babich & Stotzky 1983; Förstner *et al.* 1990).

2.8.2. Hierro y Manganeseo

A pH 5, el hierro y manganeseo con estado de oxidación (II) tienen solubilidad muy alta, mayor a 1000 mg.L⁻¹; sin embargo, el Fe (III) y Mn (IV) son altamente insolubles, reportando la solubilidad de sus hidróxidos menor a 1 mg.L⁻¹. Esto se explica químicamente debido a que el ion ferroso predomina en la solución a pH <5, mientras que a pH>6 es favorecido el ion férrico. Por otra parte, si el potencial de óxido reducción es inferior a 0.2 V, gran parte del hierro se encuentra como ion ferroso y a potenciales mayores a 0.3 V, la forma principal es el ion férrico.

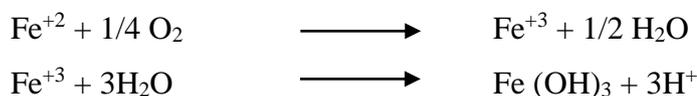
La solubilidad de las dos formas iónicas principales del manganeseo está también en función del pH. Cuando el pH es < 5.5, el manganeseo se encuentra en forma Mn (II) y cuando es > 8.0, la forma Mn (II) es inestable y se oxida formando óxidos mangánicos.

La abundancia de microorganismos que oxidan manganeseo (bacterias de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, entre otras) se incrementan en zonas próximas a la parte radical de las plantas. La oxidación se lleva a cabo en condiciones de pH 5.5 a 8.9, siendo más rápido en el intervalo de 6.0 a 7.5. En la práctica, cuando los suelos son inundados y la presión parcial de oxígeno disminuye, el óxido mangánico es reducido a la forma del Mn (II), acrecentando el contenido o concentración del Mn en la fase líquida.

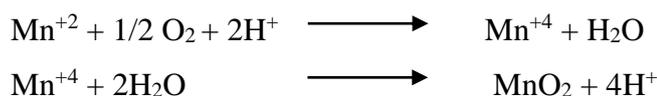
En un wetland se encuentran zonas aeróbicas y anaeróbicas, y son las zonas aeróbicas (pH neutro) donde se efectúa el proceso de oxidación por catálisis microbiana, con la eficiente remoción de Mn y Fe en forma de hidróxidos precipitados.

Las reacciones de precipitación y oxidación de los iones son:

Para el Fe⁺²:



Para el Mn⁺²:



La reacción de precipitación genera iones hidrógeno, que limita la extensión de la oxidación y precipitación. La oxidación del Mn ocurre en un rango de pH básico, cerca de 9. En wetlands, con sustrato orgánico como la turba, hay poca posibilidad de remover el Mn, porque

el H₂O de la interface con el suelo se mantiene acida. Aunque es difícil la remoción del Mn por oxidación del Mn, este proceso tiene mayor oportunidad de éxito comparado con la formación del sulfato en un ambiente anaerobio, porque el MnS formado es relativamente soluble. Existe la hipótesis que también puede ser removido anaeróbicamente formando MnCO₃ (Wildeman 1993).

La oxidación del metal y a reducción del sulfato son procesos mutuamente excluyentes, uno requiere condiciones anaerobias y el otro de aerobias.

2.9. REMOCIÓN DE CONTAMINANTES CON HUMEDALES CONSTRUIDOS

2.9.1. Remoción de sulfatos

Sangwoo *et al.* (2008) mencionan que el drenaje ácido de minas posee niveles de sulfato que generalmente varían entre 100 a 5 000 mg.L⁻¹. Estos deberán ser removidos o reducidos, para ello existen mecanismos de reducción biológica de sulfatos que se alcanzan haciendo uso de bacterias sulfato reductoras, los demás mecanismos de remoción de sulfatos, se realizan haciendo uso de humedales construidos, que consisten en:

- a. La precipitación de sustancias con el yeso (CaSO₄) que se crean en los procesos de neutralización con la caliza o cal.** Este mecanismo de remoción o reducción se provoca agregando cal como parte principal de los componentes que se emplean para preparar el sustrato. En los SAPS (sistemas de producción sucesiva de alcalinidad), la capa de grava a base de caliza encima de la que se monta el humedal, refuerza eficientemente la remoción de sulfatos, que se lleva a cabo a por medio de este mecanismo.
- b. La pérdida del sulfato debido a adsorción sobre (o precipitación) con oxihidróxidos férricos (como la goetita FeO(OH)).** Se conoce que, la cantidad de sulfato removido estará siempre en estrecha relación con el tiempo de retención hidráulico y el área de la superficie disponible. Además, la velocidad de su remoción a través de la reducción dependerá de la cantidad o concentración de sulfatos en el DAM.

Según Sangwoo *et al.* (2008) indican que en numerosos sistemas de tratamientos pasivos resultado común lograr excelentes eficiencias en la remoción del hierro y de la acidez, pero en cuanto a remoción o reducción de sulfatos, presenta eficiencias extremadamente bajas. Estos resultados pueden estar expresando que, el primordial proceso de remoción

de metales no se da a través de la precipitación de sulfuros, sino por la simple adsorción de metales sobre los sustratos orgánicos. Además, los autores agregan que si es así esto, entonces la eficiencia en la remoción o reducción de metales deberá disminuir de manera gradual, en la medida que se reduzcan las áreas disponibles de concentrados o materiales orgánicos con la capacidad de adsorber metales.

2.9.2. Mecanismos de remoción de metales

Stottmeister *et al.* (2003), Ye *et al.* (2001) y Champagne (2007) sostienen que los mecanismos de remoción de diversos metales en el agua residual y las interrelaciones entre estos mecanismos, aún no han sido comprendidos a profundidad.

Ye *et al.* (2001) indican que existe la posibilidad de remover grandes y abundantes cantidades de elementos trazas o pequeños del agua residual, y esto es cuando se hace pasar por los humedales. Sin embargo, se presentan grandes y bastantes variaciones entre los diversos metales, como también entre distintos humedales.

Se especula que la purificación del agua se da a través de diversos procesos químicos, físicos y biológicos que operan de manera independiente en algunas situaciones o de forma interactiva en otras (Ye *et al.* 2001).

Champagne (2007), Ye *et al.* (2001) y Stottmeister *et al.* (2003) señalan que el proceso de remoción de metales en humedales puede darse mediante diversos procesos que involucran:

- Inmovilización vía precipitación
- Intercambio iónico del sustrato.
- Adsorción de la biomasa.
- Complejación que se hace con la materia orgánica.
- Captación hecha por plantas y microorganismos.

La eficiencia que se da en la remoción de metales puede tener bastante variación de un humedal a otro; tomando en cuenta el punto de vista operacional, la eficiencia en la remoción de metales depende bastante de la carga másica, los constituyentes y sus cantidades o concentraciones en el efluente, así como también el tiempo de retención hidráulica (HRT). Además, están afectadas por la madures del humedal, la biogeoquímica del agua de los

humedales, la competencia que se da entre los constituyentes metálicos por los lugares de adsorción que se encuentran disponibles y por el área superficial aprovechable para que los procesos de adsorción tengan lugar (Champagne 2007; Al-Recabi *et al.* 2007).

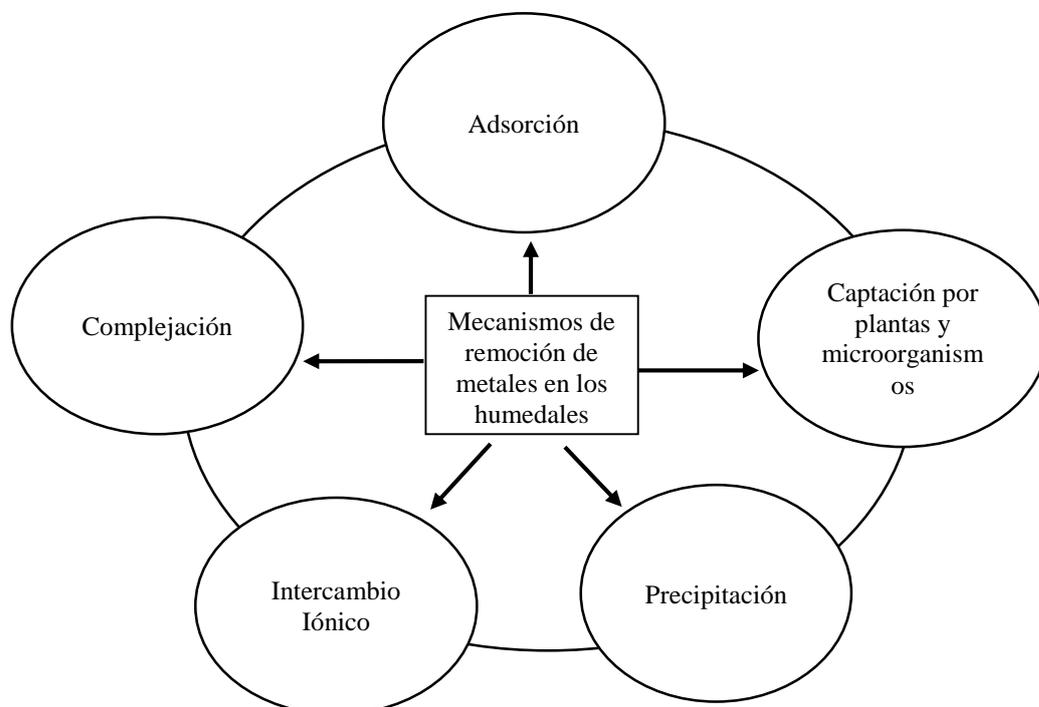


Figura 8: Mecanismos de remoción de metales en humedales.
FUENTE: Guevara (2012).

2.9.2.1. Precipitación

Neculita *et al.* (2007) y Champagne (2007) indican que la precipitación es el mecanismo fundamental de remoción de metales en los humedales en la forma de sulfuros (Co^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} , Cd^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+2}), carbonatos (Mn^{+2} , Fe^{+2}) e hidróxidos (Cr^{+3} , Fe^{+3} , Al^{+3}). Se tiene conocimiento que la solubilidad de los metales depende primordialmente del pH que tiene el agua, del potencial redox y del estado de oxidación. Además, se debe tener en cuenta que el pH presenta una gran importancia, ya que afecta la cinética o velocidad de los procesos de precipitación e hidrólisis, como también ocasiona gran influencia en la solubilidad de los hidróxidos, de los sulfuros y de los carbonatos.

Uno de los principales y vitales procesos de inmovilización de metales que se dan en los humedales aeróbicos es la oxidación biológica del hierro ferroso a hierro férrico, el cual es altamente insoluble a valores de pH superiores a 2.5. Es por ello que, cuando el pH presenta un valor neutro, al entrar el hierro ferroso en contacto con el aire de forma espontánea, este oxide rápidamente, produciéndose así en este proceso óxidos e hidróxido férrico, que por ser

bastante insolubles se precipitan formándose un depósito de color marrón (Madigal *et al.* 2000).

Cuando las condiciones sulfato reductoras son establecidas e instituidas, la precipitación de los sulfuros llega a ser el mecanismo predominante y primordial en la remoción anaeróbica de los metales del DAM. La precipitación de sulfuros es el mecanismo que se desea para la remoción de contaminantes, ya que los sulfuros son altamente insolubles y además son menos biodisponibles en comparación con otras especies que incorporan y agregan metales (Neculita *et al.* 2007).

2.9.2.2. Intercambio iónico

Según Champagne (2007) y Neculita *et al.* (2007) manifiestan que los metales poseen gran afinidad por compuestos como las órgano-arcillas y los ácidos húmicos. En las sustancias húmicas están presentes los grupos funcionales hidrofílicos tales como los hidroxilos fenólicos (-OH) y los grupos carboxílicos (-COOH), estos poseen la capacidad de captar metales a través del intercambio catiónico; además, estos grupos son desprotonados a valores altos de pH y están disponibles para unir los metales disueltos. Así, a un pH ligeramente básico, neutro o ácido, la captación de metales disueltos sobre los materiales de sustrato es un mecanismo de remoción de gran importancia.

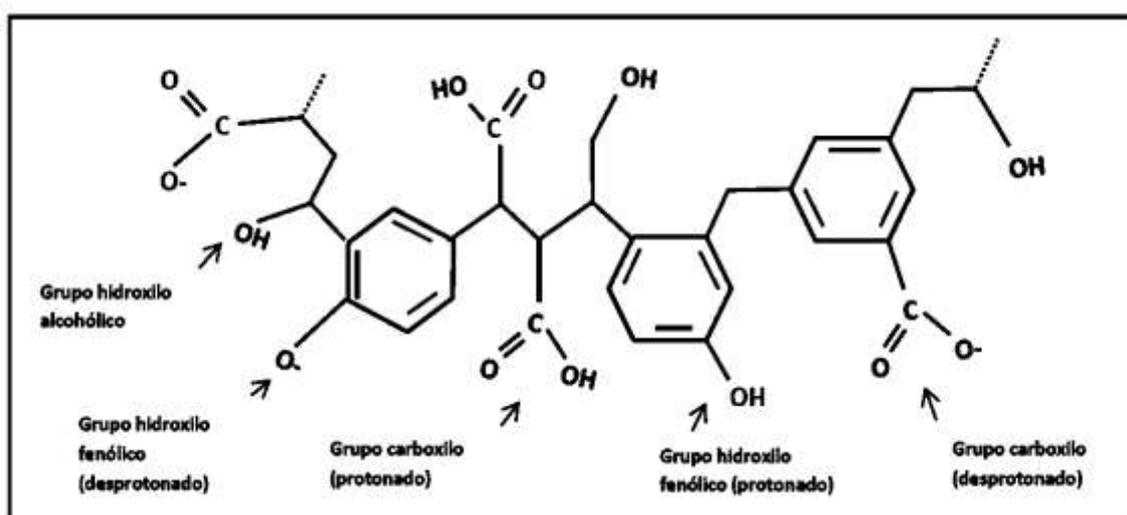


Figura 9: Mecanismos intercambio iónico.

FUENTE: Guevara (2012).

Champagne (2007) señala que el tipo de sustrato utilizados en los humedales, es significativo

en la retención de metales, en la cual se debe tener en cuenta que el pH es un parámetro importante y determinante en la capacidad de intercambio iónico.

La retención de metales a través del intercambio catiónico, en los humedales anaeróbicos, es cambiante a lo largo de la vida útil del sistema. Durante el desarrollo, la captación de metales disueltos sobre los lugares orgánicos en los materiales del sustrato resulta que es un proceso significativo. Al paso de los minutos, horas, días y meses, y a medida que el pH del humedal disminuya por la interacción y combinación con el DAM, los sitios o lugares de intercambio catiónico llegan a quedar saturados (Champagne 2007; Neculita *et al.* 2007).

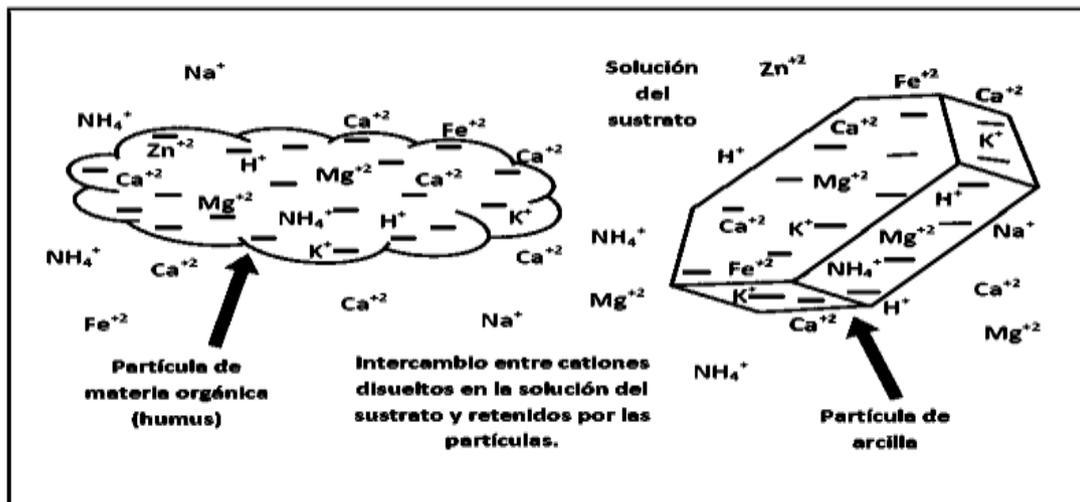


Figura 10: Partículas con capacidad de intercambio catiónico.
FUENTE: Guevara (2012).

Neculita *et al.* (2007) indican que, además de los intercambiadores catiónicos antes mencionados, los oxihidroxilos de aluminio y hierro pueden llegar a operar como intercambiadores aniónicos, pues a diferencia de las partículas de arcilla y humus, no poseen carga residual negativa, sino positiva, lo que hace posible retener sulfatos y otros aniones.

2.9.2.3. Adsorción

La adsorción de metales sobre los suelos de humedales, sustratos, sedimentos y biomasa, es altamente variable y depende únicamente de la naturaleza del metal. Este proceso de adsorción provoca la remoción del metal ubicado en la columna de agua, acumulándolo sobre la superficie sólida. En cambio, la desorción hace que retorne el metal a la columna de agua, esto es cuando los metales pueden llegar a ser desorbidos de la superficie sólida como resultado de un incremento en la salinidad, un decrecimiento en el pH o un decrecimiento

en el potencial redox (Champagne 2007).

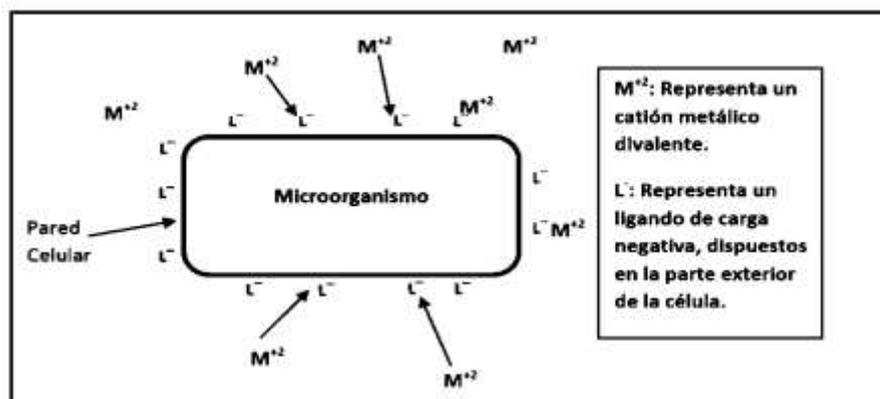


Figura 11: Partículas con capacidad de adsorción.

FUENTE: Guevara (2012).

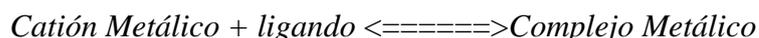
Según Sánchez (2007) sostiene que numerosos metales forman uniones estrechas con las paredes celulares de algas o microorganismos; la asociación entre metal y célula se da por medio de enlaces no específicos de especies iónicas a grupos funcionales que están ubicados principalmente en la célula, específicamente en su superficie. Estos grupos funcionales forman parte primordialmente de las proteínas y de polisacáridos; además, poseen la capacidad de cambiar protones por cationes metálicos; este tipo de interacción o combinación se conoce como biosorción, y es producido con los grupos funcionales que se encuentran expuestos hacia el exterior de la célula, por ejemplo: hidroxilos (-OH), Carboxilos (-COOH), sulfatos (-SO₃H), aminos (NH₂), fosfatos (-PO₃H) y sulfhídricos (-SH).

Neculita *et al.* (2007), manifiestan que cuando el pH presenta valores de 4 a 7, las bacterias sulfato reductoras (SRB) retienen metales mediante biosorción, esto es, por el estado neutro y/o desprotonado de los ligandos enlazantes de sus paredes. La lucha o competencia entre metales (Fe, Zn, Cu y Mn) por los lugares de adsorción orgánica han sido demostradas y confirmada por pruebas que se han hecho en laboratorio y por pruebas de campo en biorreactores y los humedales. Cuando el pH tiene valores menores a 3.0, la biosorción de los metales será insignificante, ya que existe una fuerte afinidad de los protones sobre los lugares o sitios enlazantes de las paredes celulares de la biomasa.

Estudios realizados por Skousen *et al.* (1994) indican que la absorción sobre aserrín y turba era el responsable de extraer el 50% a 80% de los metales en DAM.

2.9.2.4. Complejación

Orozco *et al.* (2003) sostienen que, la complejación es la reacción que se da entre un ligando (con uno o más partes de electrones sin compartir) con un catión de carácter metálico (especie desprovista de electrones) para formar un producto llamado complejo metálico o compuesto de coordinación. Además, el ligando es denominado agente complejante y son los aniones o moléculas tales como NH_3 , OH^- y H_2O .



Moléculas orgánicas diversas tales como los ácidos húmicos, los ácidos fúlvicos y las proteínas pueden operar como agentes complejantes en los sustratos de los humedales. Existen ciertos grupos funcionales orgánicos que determinan la unión con cationes metálicos, estos son: carboxilos ($-\text{COO}^-$), aminas ($-\text{NH}_2$), hidroxilos fenólicos ($-\text{O}^-$). Algunos parámetros como el pH pueden condicionar que se dé la formación de complejos entre moléculas orgánicas y metales. Además, la formación de complejos o su desestabilización pueden ser útiles para movilizar un metal de una fase a otra del humedal (Orozco *et al.* 2003).

Los complejos, cuyo ligando es polidentado, es decir, presenta dos o más sitios (lugares) de coordinación (puntos de unión) con el ion metálico, son denominados quelatos. En la Figura 12 se observa un fragmento de una especie húmica que forma un quelato con un catión metálico polivalente. Los sedimentos que son ricos en humus pueden provocar la retención de los metales en concentraciones altas, ya que los iones como Al^{+3} , Fe^{+3} , Cu^{+2} y Ni^{+2} forman complejos bastantes estables con los ácidos fúlvicos y húmicos en el humedal (Orozco *et al.* 2003).

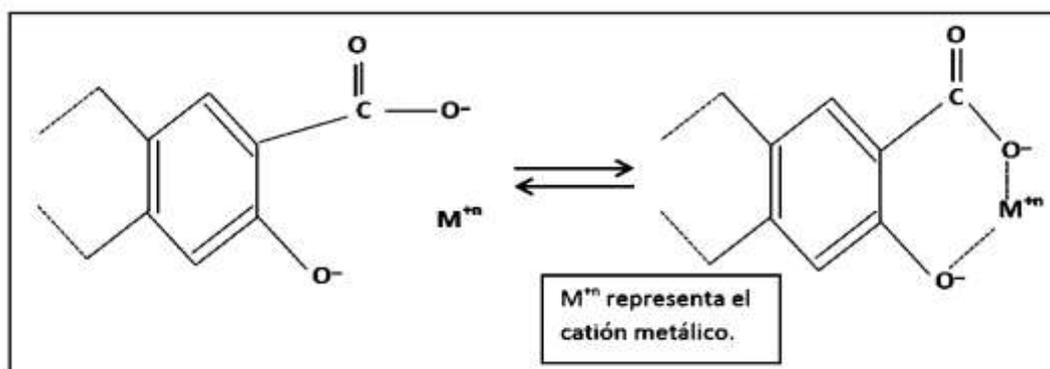


Figura 12. Partículas con capacidad de complejación.

FUENTE: Guevara (2012).

Algunos metales pesados, como por ejemplo el hierro, bajo condiciones de precipitados como carbonatos o hidróxidos poco solubles, pueden llegar a ser redissueltos por la actividad de los agentes complejantes específicos (Orozco *et al.* 2003). Los siderofóros son conocidos como agentes quelantes, y son excretados por muchos microorganismos que facilitan la toma de los iones férricos, llegando a formar uniones muy fuertes que imposibilitan su reacción química con otras especies (Sánchez 2007).

A lo que Madigal *et al.* (2000) agregan que cuando el pH es neutro, la única forma de mantener el hierro en solución, es a través de la formación de complejos con los materiales orgánicos. Si en dicho medio se encuentra la presencia de un organismo que puede oxidar el complejo orgánico, entonces el hierro presente se precipitará. Los autores mencionan además, que existe la probabilidad y la posibilidad que este sea el único y principal mecanismo de precipitación del hierro que se dan en muchos ambientes con un pH neutro. Según Sánchez (2007), se han hallado interacciones o combinaciones de metalsideróforo específicos para otros metales como, por ejemplo, cobre o molibdeno.

2.9.2.5. Captación por plantas y microorganismos

El retiro de metales está altamente asociado a la acción de las plantas y los microorganismos. A lo que Skousen *et al.* (1994) señalan que en estos procesos los macrofitos poseen un papel bastante significativo, debido a que proporcionan abundante oxígeno y desde luego materia orgánica a la matriz. Por su parte, Kadlec y Knight (2000), y Skousen *et al.* (1994) sostienen que las plantas en el humedal pueden lograr potencialmente la estimulación del crecimiento de las bacterias que oxidan el metal por la transferencia del oxígeno que se llevan a cabo en la rizosfera.

Stottmeister *et al.* (2003) sostienen que la acumulación de metales pesados por las plantas suele no tener significado cuando el drenaje de mina está siendo tratada en un humedal, debido a que la cantidad que se puede acumular en las plantas suele ser una pequeña porción de la carga total de metales pesados en el agua residual, aun así, hay ciertas plantas que pueden llegar a acumular cantidades relativamente altas de los metales pesados en sus biomásas, estas plantas son conocidas como “hiperacumuladoras”, y son aquellas plantas cuya biomasa seca contiene metales comprendidos entre 0.1 y 1 %. En uno de los mecanismos de esta sobreacumulación, los metales tio-reactivos son retenidos en péptidos

ricos en cisteína como por ejemplo las fitoquelatinas y las metalotioninas.

Las algas también pueden llegar a captar y acumular metales, pero esta acumulación es de corto plazo, ya que el ciclo de vida que tienen las algas también es de corta duración. Además, los microorganismos también poseen la capacidad de captar y acumular metales a corto plazo (Champagne 2007).

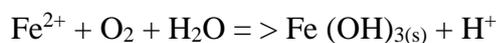
La bioacumulación de hierro por las plantas, inclusive en aquellas con grandes montos de biomasa como las espadañas, corresponden a menos de 1% de hierro que entra al humedal construido. Sin embargo, las plantas tienen un papel crítico para remover los metales mediante diversos procesos fisicoquímicos como: adsorción e intercambio catiónico, vía filtración, y mediante los cambios químicos que ocurren en la rizósfera de la planta. Las plantas resisten gran parte de la actividad microbiana, estas proveen energía y hábitat para mantener y estimular la variedad poblacional microbiana en los sedimentos. Los microorganismos son los que sobrellevan a la inmovilización de los sedimentos tanto por procesos oxidativos como por procesos reductivos (Ye *et al.* 2001).

Karathanasis & Johnson (2003) señalan que el follaje de las macrófitas puede mitigar el flujo de las descargas superficiales; además, permite facilitar la sedimentación de las partículas contaminantes con los metales, y además permite facilitar la captación de especies metálicas que están disueltas, del mismo modo las raíces y los rizomas pueden disminuir la resuspensión de las partículas durante las descargas intermitentes (comunes de los humedales del flujo vertical). Estas observaciones permiten comprender que la principal contribución de las plantas en los humedales puede ser mediante la adhesión microbiana, la estabilización de sustratos y la oxidación de la rizósfera mucho más que en la fitoacumulación.

2.9.2.6. Procesos microbiano-mediados

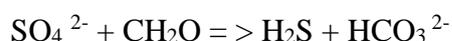
Kadlec & Knight (2005) manifiestan que las zonas anaerobias y aerobias pueden estar presentes en un humedal construido. Las bacterias que causan oxidación del metal están presentes en la zona aerobia y ocasionan la precipitación de los óxidos del metal; en cambio, las bacterias sulfato reductoras están siempre presentes en las zonas anaerobias y ocasionan la precipitación de los sulfatos.

Según Kadlec & Knight (2000) indican que la oxidación del metal producida por los microbios como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, seguida por la precipitación continuada del oxihidróxido de hierro, es considerado como el mecanismo más importante del retiro de metales de los humedales, que tratan aguas residuales con abundante metal de mina en forma desequilibrada de la ecuación:



La oxidación del metal posee la desventaja de producir iones de hidrógeno, por ende, la acidez se acrecienta; en el tratamiento de DAM haciendo uso de las camas de lámina y la oxidación de los iones ferrosos, dando como resultado una especie de gotas que son significativas en el pH (Kadlec & Knight 2000).

Además, se observa que si no existe alcalinidad para facilitar la capacidad tapón, la hidrólisis del ion férrico (Fe^{3+}) disminuirá en pH. Cuando el sulfato se reduce debido a un medio microbiano, este hace consumo de iones de sulfato y a su vez permite la producción de hidrógeno sulfuroso y de alcalinidad a manera de ion de bicarbonato. En la representación desequilibrada de la ecuación, donde CH_2O representa una molécula orgánica simple es:



Kadlec & Knight (2005) manifiestan que el H_2S produce la ionización y la disolución para originar a los iones del sulfuro, y estos reaccionan con cierta categoría de los iones del metal para permitir la producción de precipitaciones del sulfuro y del metal. La precipitación de metales como los sulfuros más que los óxidos tiene las ventajas siguientes:

- La alcalinidad es producida por la reducción del sulfato para permitir hacer neutro la acidez.
- Los precipitados que posee el sulfuro son un poco más densos que los precipitados que presenta el óxido, consecuentemente, el establecimiento se da con mayor rapidez.
- Los sulfuros se precipitan en el interior de los sedimentos orgánicos y así son en menor grado vulnerables a la interrupción por las oleadas repentinas en flujo.

La reducción del sulfato es reconocida como el mejor tratamiento para el DAM, a lo que Kadlec & Knight (2005) indican que: “la reacción primaria de importancia para el retiro del metal es la reducción del sulfato, porque no solamente se extraen los metales sino también aumenta el pH y por lo tanto el drenaje ácido de la mina se trata con efectividad”

2.10. CRITERIOS QUE PERMITEN ELEGIR UN SISTEMA DE TRATAMIENTO PASIVO

A pesar del largo número de humedales construidos usados en el tratamiento de DAM, un diseño claramente indicado no está disponible (Kadlec & Knight 2000). Sin embargo, antes de realizar cualquier diseño de tratamiento de un agua de mina, debe realizarse un cuidadoso estudio preliminar de la zona afectada. Debe recopilarse toda la información disponible que sea de interés, especialmente en lo que se refiere a características químicas, físicas y medioambientales asociadas a la descarga a tratar.

Después de esta primera etapa de trabajo de gabinete vendría una fase de estudio de campo, en donde se recoge información actual en la zona. Son imprescindibles la toma y análisis de muestras del agua de la mina, así como la determinación del caudal (Kadlec & Knight 2000).

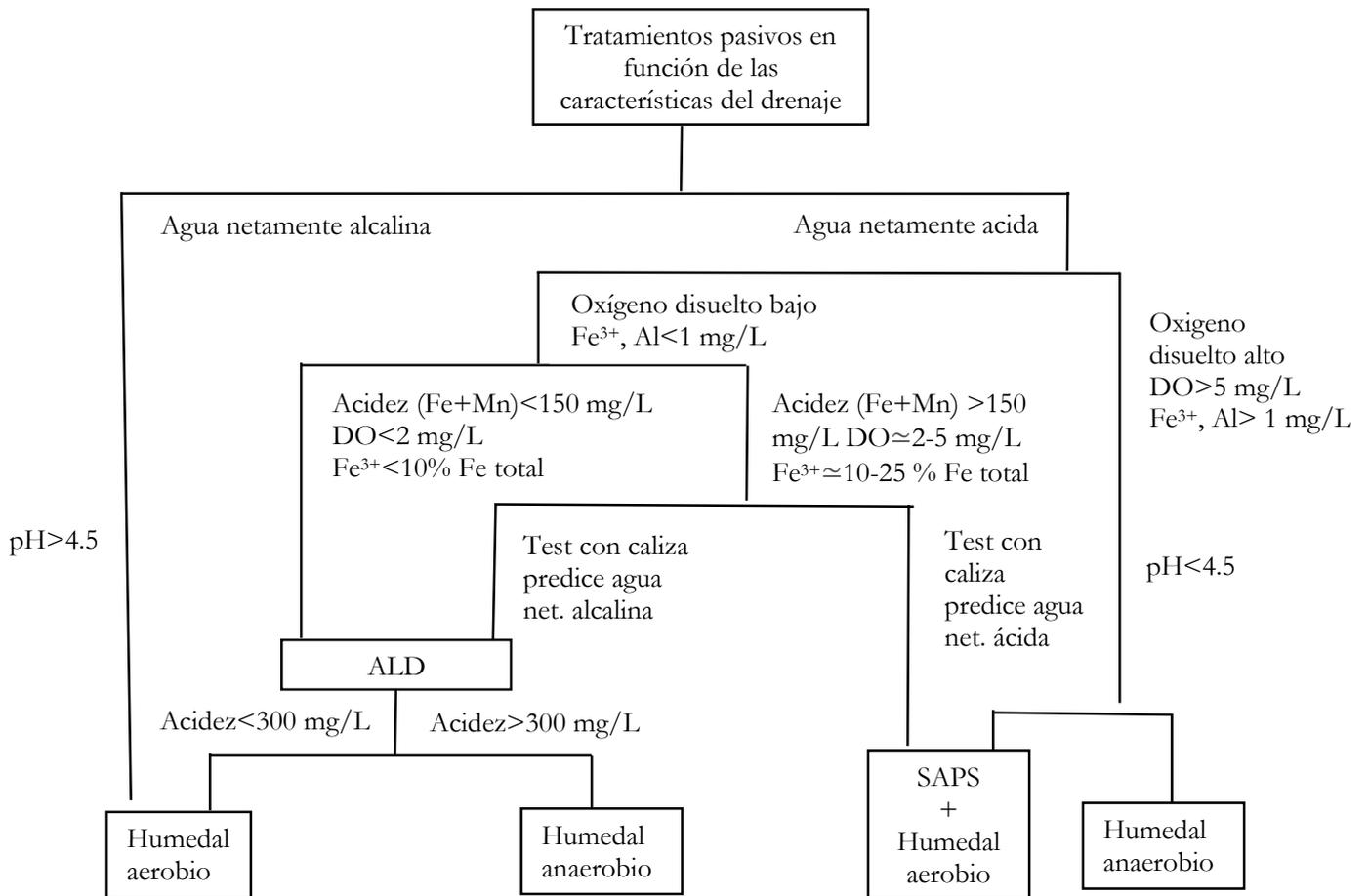
A continuación, se presenta una lista de parámetros a tener en cuenta para elegir correctamente un sistema de tratamiento: los parámetros señalados en la primera columna del Tabla 2, serían aquellos que como mínimo habría que determinar. En la segunda columna se señalan los parámetros que resultan interesante, pero no imprescindible analizar.

Tabla 2: Matriz de parámetros a considerar para el análisis de la calidad de agua antes de implementar un sistema de tratamiento.

Descripción	Mínimo	Deseable
Caudal	x	x
pH en campo	x	x
Alcalinidad total (como CaCO ₃)	x	x
Acidez neta (como CaCO ₃)	x	x
Alcalinidad neta (como CaCO ₃)	-	x
Hierro ferroso	x	x
Hierro total	x	x
Calcio	-	x
Magnesio	-	x
Aluminio	x	x
Sodio	-	x
Manganeso	x	x
Sulfatos	x	x
Cloruros	-	x
Potasio	-	x
Bromuros	-	x
Zinc	-	x
Conductividad específica	x	x

FUENTE: Modificado de Hyman & Watlaf (1995) por López *et al.* (2002).

A partir de las propuestas de Skousen *et al.* (1994 y 1998) y Watzlaf & Hyman (1995), citados por López *et al.* (2002), se ha elaborado un diagrama de flujo (Figura 13) que permite seleccionar el tipo y/o la secuencia de tratamientos pasivos más adecuados, en función de los rasgos o características químicas propias el drenaje o contenido líquido de mina que se va a tratar. En la práctica existe cierto solapamiento de los rangos de aplicación de cada tratamiento pasivo y generalmente se requiere el empleo combinado de dos o más métodos para tratar un determinado tipo de aguas.



DO=Oxígeno Disuelto.

Figura 13: Selección del sistema de tratamiento pasivo en función de la calidad de agua.
FUENTE: López *et al.* (2002).

Para calcular las dimensiones del humedal a utilizar, se tendrá en cuenta las características de los diferentes materiales, para tener bastante eficiencia para remover los contaminantes. Asimismo, se considerará los criterios establecidos por Watzlaf (1997) como son tiempo de retención, carga hidráulica, selección y colocación del medio granular, establecimiento de la vegetación, estructuras de entrada y salida, pendiente, lámina de agua, etc. Se trata de una

matriz de decisión, en donde se recogen todos los tipos clásicos de sistemas de tratamiento pasivo: humedales aerobios y anaerobios, sistemas SAPS, ALD, etc. Todos ellos fueron detallados en la primera parte de esta tesis.

2.11. ECUACIONES DE DISEÑO DE HUMEDALES

Para determinar el diseño del humedal se debe tener en cuentas las siguientes ecuaciones (Ordoñez, 1999).

- **Balance hidráulico** para un sistema de humedal:

$$Q_i - Q_0 + P - ET = [dV/dt] \quad (1)$$

donde:

Q_i : Caudal de entrada, V/t

Q_t : Caudal de salida, V/t

P : Precipitación, V/t

ET : Evaporación, V/t

V : Volumen, V

t : tiempo.

- **Ley de Darcy:** $Q = K_s A S$

Donde Q es el caudal (m^3/d), K_s es la conductividad hidráulica ($m^3/m^2/d$), A el área total de la sección perpendicular a la dirección del flujo (m^2) y S el gradiente hidráulico del agua en el sistema dh/dL (m/m).

- El área de la sección transversal se establece de acuerdo con las capacidades hidráulicas del sistema.

$$A_c = Q / K_s S$$

- El tiempo de retención se determina a partir de la conductividad hidráulica:

$$t = L / K_s S$$

Donde t es el tiempo de retención real (d), Ks la conductividad hidráulica ($m^3/m^2/d$) y S es la pendiente del sistema (m/m).

- El tiempo de retención calculado en función de la porosidad es:

$$t' = LWnd/Q$$

donde L es la longitud (m), W ancho (m), n la porosidad del medio, d la profundidad (m) y Q el caudal (m^3/d).

- **Dimensionamiento de un SAPS**

En el dimensionamiento de un SAPS se pueden seguir dos criterios (Watzlaf & Hyman 1995; Skousen *et al.* 1998): uno basado en el tiempo de retención en el dispositivo por unas 12 a 15 horas, considerando un tamaño aproximado de los trozos de caliza de 6 a 15 cm.

$$\text{Volumen (m}^3\text{)} = \text{Caudal (l/h)} \times 12 \text{ h} / \text{Volumen de poros (0.3 a 0.5)}$$

Otro, en función a eliminación teórica de la acidez equivalente de $CaCO_3$ por metro cuadrado y día, que a su vez permite determinar la superficie del SAPS. Eliminación de acidez: 30-50 $gr/m^2.día$.

$$\text{Superficie (m}^2\text{)} = (\text{gr. acidez/día}) / 30\text{-}50 \text{ gr /m}^2\text{.día.}$$

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

La parte experimental, se realizó en el Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular y los análisis químicos en el Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ), de la Universidad Nacional Agraria La Molina, localizados en la ciudad de Lima, a una altitud de 243.7 msnm.

3.2. DURACIÓN

La parte experimental de la investigación se realizó durante los meses de mayo y junio del 2015, con un total de 57 días calendarios.

3.3. MATERIALES

3.3.1. Compost

Se utilizó compost comercial proveniente del vivero de la UNALM, elaborado a partir de residuos vegetales, restos de podas y estiércol de vacuno. La finalidad de este sustrato es reducir y si es posible eliminar el oxígeno disuelto en el agua e incorporar poblaciones de microorganismos y nutrientes.

Para los sustratos 2 y 3, el compost fue tratado con microorganismos eficaces caseros (EM), los cuales fueron inoculados un mes antes de instalar para que dichas bacterias se adapten al sustrato, la aplicación de las bacterias se realizó en tres momentos con intervalos de una semana, en una relación de 1L de solución de EM casero por cada 22 Kg de compost. La solución de microorganismos fue obtenida del área de investigación del Dpto. de Biología de la Facultad de Ciencias de la UNALM.

Tabla 3: Características físicas y químicas del compost utilizado.

Parámetros ⁽¹⁾	pH	CE	Mn	Fe
mS/cm...mg.Kg ⁻¹	
	7.2	1.4	0.39	15.8

3.3.2. Roca caliza

La finalidad de este sustrato fue elevar el pH del agua. La caliza reacciona íntegramente cuando se encuentra en ambientes anóxicos, dado que el hierro ferroso Fe⁺² es relativamente soluble en ambientes anóxicos, lo que impide que se forme hidróxido férrico Fe (OH)₂ que recubre las calizas evitando que continúe reaccionando, es por ello que el agua ingresa al humedal por un sustrato de compost.

Tabla 4: Composición y características de alcalinidad de la roca caliza.

Composición ⁽¹⁾	Ca	CaO	CO ₃ Ca
%mg.L ⁻¹
Cantidad	45	63	1 460

⁽¹⁾ Ca - calcio; CaO - óxido de calcio; CO₃Ca - carbonato de calcio.

3.3.3. Totorá (*Schoenoplectus californicus*)

Las plantas utilizadas en este experimento provienen de la provincia de Acomayo (Cusco), de una altitud de 3 750 msnm. La introducción de estas plantas en el humedal se realizó para mejorar la calidad del agua directa e indirectamente; directa debido a que retiene los metales en sus tejidos, e indirectamente modificando química y biológicamente al sustrato ayudando a crear zonas reducidas en los humedales. Antes de instalar las plantas en el humedal fueron adaptadas en un recipiente con compost y agua sin contaminante por un lapso de 25 días.

Tabla 5: Concentración inicial de Fe y Mn en las plantas utilizadas.

Parámetros ⁽¹⁾	Fe	Mn
mg.L ⁻¹	
Cantidad	1 082	583

⁽¹⁾ Fe - hierro y Mn - manganeso.

3.3.4. Drenaje ácido artificial

Para elaborar el drenaje ácido artificial se utilizó sulfato de hierro (FeSO_4), sulfato de manganeso (MnSO_4), ácido clorhídrico (HCl) y agua blanda.

3.3.5. Potenciómetros digitales

Para medir el pH y Eh, se utilizaron 02 potenciómetros digitales de mesa, marca Schott Lab 850 de lectura directa, en la que cada uno de ellos presento un electrodo específico según el parámetro evaluado.

3.3.6. Espectrofotómetro

Para cuantificar la concentración de Fe y Mn en el afluente y efluente, se utilizó el Espectrofotómetro UV – Vis (Thermo Scientific, GENESYS 6).

Entre otros materiales y equipos se utilizó: Balanza analítica de 4 dígitos, probeta de 100 mL, cronometro, botellas de 50 mL, y una celda de vidrio de 1.20 m de largo, 0.50 m ancho y 0.50 m de alto.

3.4. METODOLOGÍA

Para la instalación del sistema de tratamiento de agua, se tuvieron en cuenta las condiciones de diseño y operación, ya que definen que cambios o transformaciones pueden presentarse, para la cual se realizó la caracterización de los componentes (sustratos) a utilizar, de tal manera que los resultados finales del agua tratada se encuentren dentro de la legislación ambiental que fija el sector correspondiente, como son los Límites Máximos Permisibles para la descarga de efluentes líquidos de actividad minero - metalúrgicas D.S N° 010-2010-MINAM.

El estudio se desarrolló en cuatro etapas: (1) elaboración del drenaje ácido artificial, (2) diseño y construcción del humedal artificial, (3) instalación y (4) operación y evaluación. En cada una de las etapas se desarrollaron actividades que se detallan a continuación.

3.4.1. Elaboración del drenaje ácido artificial

Para generar el drenaje ácido artificial, se utilizó el agua blanda generada en el Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ) de la UNALM, y como insumos sulfato de hierro (FeSO_4), sulfato de manganeso (MnSO_4) y ácido clorhídrico (HCl), para dar las condiciones químicas adecuadas. En función a los análisis de caracterización de los tipos de contaminantes presentes, se ha seleccionaron concentraciones de insumos a utilizar las mismas que se detallan en la Tabla 6.

Tabla 6: Insumos utilizados en la elaboración del drenaje ácido artificial.

Elemento	HCl	FeSO ₄	MnSO ₄
	...mL.L ⁻¹ mg.L ⁻¹	
Cantidad	2.05	0.4978	0.1537

Teniendo en cuenta las concentraciones descritas en la Tabla 6, las características del drenaje utilizado se describen en la Tabla 7.

Tabla 7: Características del drenaje ácido artificial utilizado durante el experimento.

Parámetros ⁽¹⁾	pH	Eh	Fe	Mn
	mVmg.L ⁻¹	
Cantidad	2±0.07	404.26±4.94	105.36±5.15	51.24±1.98

⁽¹⁾ pH y Eh - por potenciometría y Fe y Mn Método Hach (Espectrofotómetro).

3.4.2. Diseño y construcción del sistema experimental

3.4.2.1. Diseño de la unidad de experimentación

El experimento estuvo conformado por dos humedales artificiales con un sistema de producción sucesiva de alcalinidad (SAPS), el drenaje ácido artificial fue abastecida por una línea de distribución procedente de un tanque de almacenamiento.

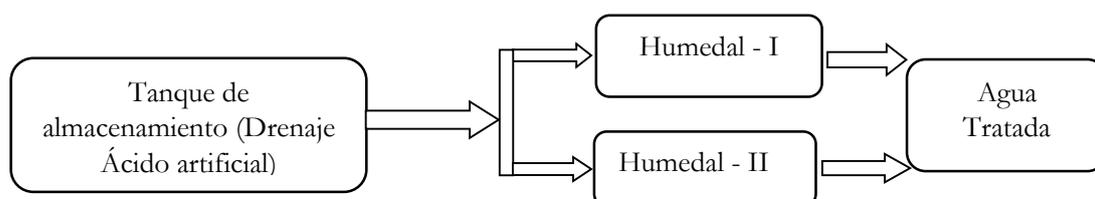


Figura 14: Esquema del comportamiento y distribución de las unidades experimentales.

3.4.2.2. Construcción

Se construyeron dos celdas rectangulares de vidrio, reforzadas en sus aristas con cintas de aluminio, sus dimensiones fueron: 1.20 m de largo x 0.50 m de ancho y 0.50 m de alto. Para conseguir mayor recorrido y tiempo de residencia del agua, se dispuso en su interior 11 diques distanciados cada 0.10 m, permitiendo formar un laberinto que facilito el serpenteo del agua con un flujo tipo pistón. El ingreso del agua se realizó mediante mangueras de polietileno por el compartimento 01 y la salida por el compartimento 12 de la celda.

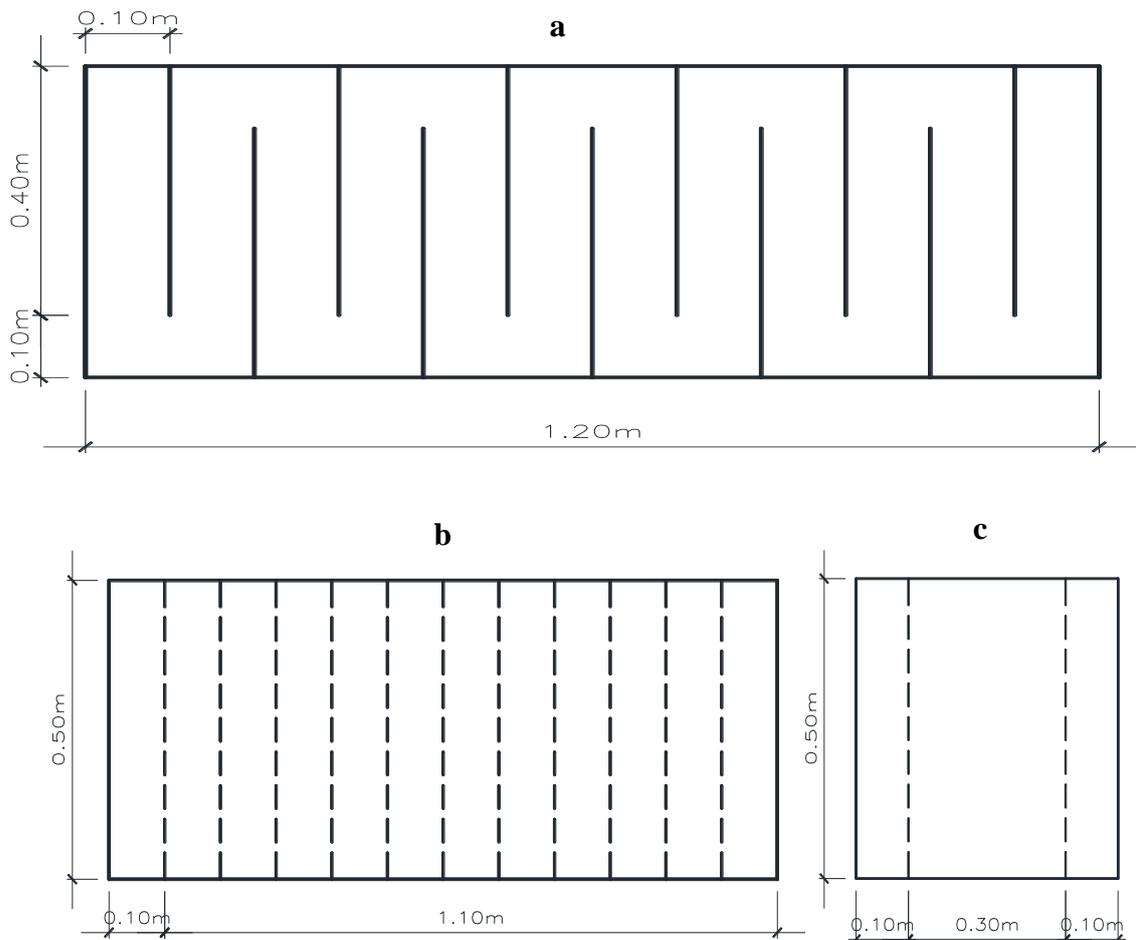


Figura 15: Dimensiones de las celdas, a) Vista en planta; b) Vista frontal y c) Vista de perfil.

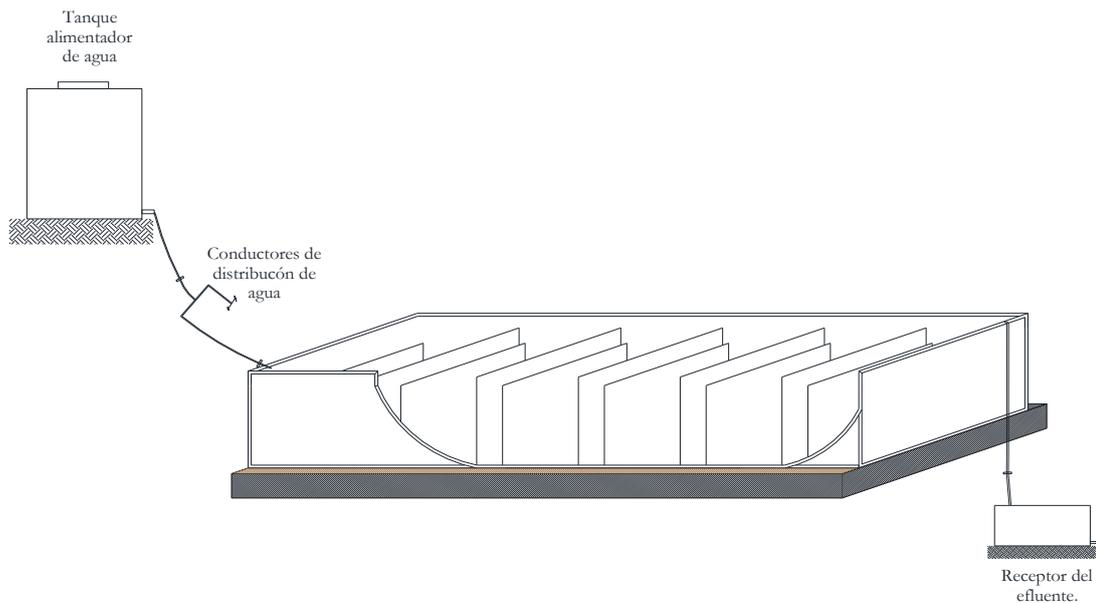


Figura 16: Vista horizontal en 3D de la celda.

El recorrido total de agua se calculó de forma teórica, teniendo en cuenta el siguiente esquema.

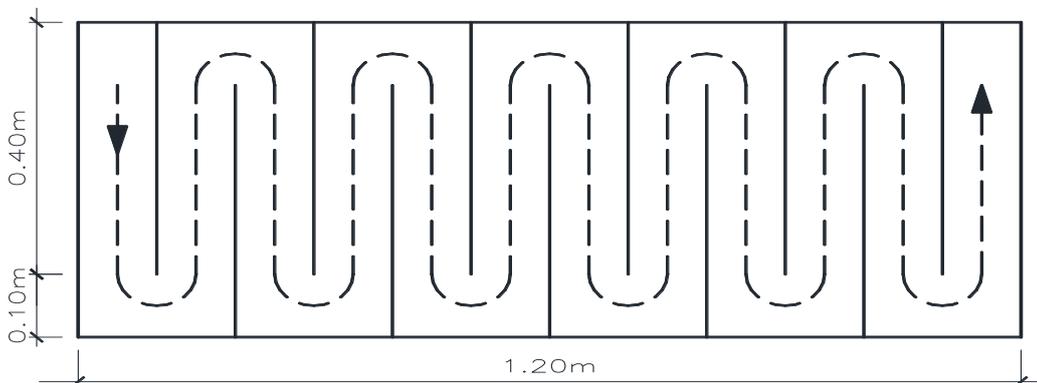


Figura 17: Recorrido lineal del agua en los compartimentos de la celda.

El recorrido total del agua se determinó de la siguiente manera:

$$R: 0.40 + \pi r + 0.30 + \pi r \dots + 0.30 + \pi r + 0.40 = 2 \times 0.40 + 11 \pi r + 10 \times 0.30 = 5.52 \text{ m.}$$

Mediante la inducción al serpenteo del agua, se logró un recorrido 5.52 m, permitiendo de esta manera una mayor superficie de contacto entre el agua y el sustrato, sin embargo, en toda la distancia establecida no siempre existe un flujo ideal, el cual puede estar determinado por cortocircuitos generados en el humedal.

3.4.3. Instalación de las unidades experimentales

Para la instalación del experimento se tuvieron en cuenta los siguientes criterios.

3.4.3.1. Abastecimiento del drenaje de ácido artificial

Este sistema estuvo conformado por un cilindro PVC de 250 litros de capacidad, el mismo que fue abastecido progresivamente para mantener su volumen. El agua fue conducida a los compartimentos del humedal por gravedad mediante mangueras de polietileno de 1/4 de pulgada; provistas de un sistema de control de caudales (válvulas) que permitieron abastecer en forma simultánea a cada humedal con un caudal de 1 L/h de forma permanente.

El ingreso del drenaje ácido artificial a los humedales se realizó por la parte superior del compartimento 01, discurriendo el agua por las capas de compost, roca caliza y plantas hasta llegar al compartimento número 12; en donde finalmente el agua tratada fue extraída mediante un tubo capilar de la parte inferior del humedal hacia un recipiente. Para evitar la presencia de impurezas en el punto de salida se colocó una porción de arena lavada para permitir la filtración y evitar el atascamiento de los puntos de control.



Figura 18: Abastecimiento del drenaje ácido artificial a los humedales.

3.4.3.2. Instalación de los sustratos en los humedales artificiales

El experimento estuvo conformado por dos humedales artificiales y tres sustratos con un flujo permanente durante todo el periodo experimental. Para generar condiciones estables se dejó funcionando 15 días antes de realizar el primer muestreo.

Dichos sustratos estuvieron conformados por roca caliza (R), compost (C), microorganismos

eficaces caseros y plantas de totora (T), los mismos que se detallan a continuación.

- S1 = R + C
- S2 = R + C + EM
- S3 = R + C + EM + T

Tabla 8: Composición de cada sustrato utilizado en los humedales artificiales.

Sustratos	R	C	EM	T
Kg.....		mL.Kg ⁻¹	Unidad
1	15	135	0	0
2	15	135	136.4*	0
3	15	135	136.4*	8

(*) cantidad utilizada de solución de EM durante la aplicación al sustrato, antes de la instalación, R – roca caliza, C – compost, M- microorganismos eficaces caseros, T - totora.

La distribución e instalación de los componentes de los sustratos en los humedales durante el experimento se detalla a continuación:

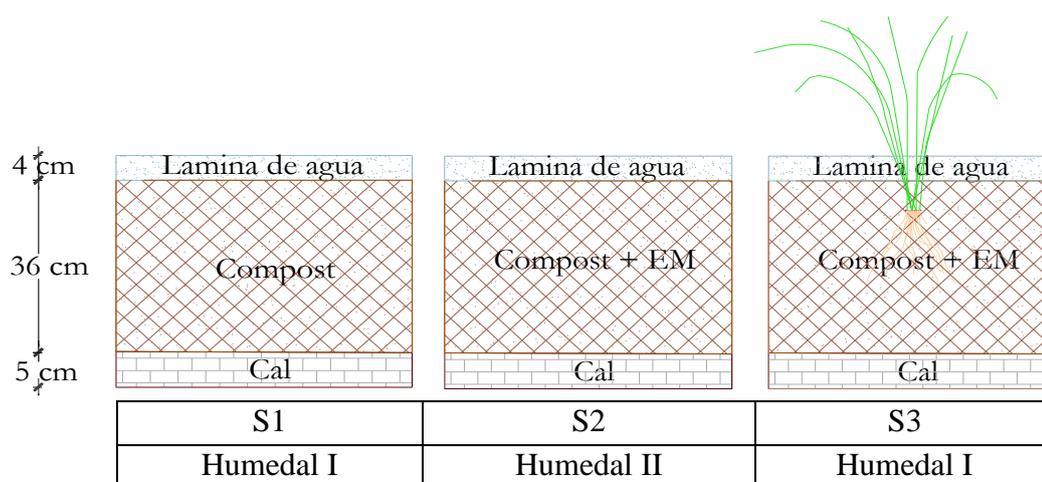


Figura 19: Corte vertical de los sustratos instalados en los humedales artificiales.

En primera instancia fueron instalados los sustratos 1 y 2 (S1 y S2), los cuales funcionaron de forma paralela en cada humedal. Después de realizar el tercer muestreo, el S1 del humedal I fue removido, permitiendo instalar el sustrato 3 (S3), el mismo que se dejó un lapso de 15 días para su estabilización y adaptación de las plantas en el medio.



Figura 20: Funcionamiento de las unidades experimentales (puntos de control de entrada y salida).

3.4.4. Operación y evaluación

3.4.4.1. Hidrología del humedal construido

El sistema construido presentó zonas de tratamiento aerobias y anaerobias, cuya hidrología estuvo conformado por humedales de sistemas subsuperficial de flujo horizontal, estando conformado por sustratos, una lámina de agua y plantación, teniendo el ingreso del agua en el compartimento 01 y salida del agua en el compartimento 12 con un recorrido de 5.52 m lineales.

3.4.4.2. Determinación del tiempo de retención hidráulica del humedal

La determinación del tiempo de retención del agua, está en función del caudal y características del sustrato utilizado en el humedal. Tomando lo estableció por Ordoñez (1999), el tiempo de retención se determinó en función de la porosidad, realizandose de la siguiente manera:

$$t = \frac{LWn}{Q}$$

donde L es la longitud (m), W ancho (m), n la porosidad del medio, d la profundidad (m) y Q el caudal (m^3/d).

Tabla 9: Cálculo del tiempo de retención del agua en el humedal.

Criterios	Q	n	L	W	d	T
Unidades	($m^3/día$)	%m.....	m	m	Días
Cantidad	0.024	30%	5.2	0.1	0.45	2.93

Durante el funcionamiento del experimento, el tiempo de retención del agua en el humedal fue de 2.93 días.

3.4.4.3. Control del caudal de ingreso y salida

Para la medición del caudal se utilizaron llaves de control tanto en la entrada como en la salida de los humedales. Se trató de uniformizar que el caudal de salida sea igual al de entrada, para la cual el control de dichos caudales era de forma permanente mínimo 02 veces por día utilizando una probeta de 500 ml y un cronómetro.

3.4.4.4. Toma de muestras para el análisis de pH, Eh, Fe y Mn

Las muestras obtenidas para el análisis se realizaron en los siguientes compartimentos: Compartimento 1 (0 m – punto de ingreso), compartimento 3 (1.38 m), compartimento 6 (2.76 m), compartimento 9 (4.14 m) y en el compartimento 12 (5.52 m – punto de salida). En los compartimentos 3, 6 y 9, la toma de muestras se realizó a una altura de 25 cm del fondo.

Para facilitar la toma de muestras en los compartimentos 3, 6 y 9 se colocaron tubos de forma vertical, los cuales fueron perforados y recubiertos con malla que actuó como filtro, en cuyo interior se colocó una manguera en la que presentó una llave de control en el punto de salida para extraer la muestra se utilizó un dispositivo de succión.



Figura 21: Instalación de accesorios en los puntos de muestreo en los compartimentos 3, 6 y 9.



Figura 22: Toma de muestra y codificación para sus análisis.

En todo el proceso de muestreo se utilizaron frascos de plástico de cierre hermético de 50 ml, los cuales fueron debidamente rotulados y conducidos al Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ) de la UNALM; se tuvieron en cuenta todos los criterios de preservación (Ácido Nítrico cc. $\text{pH} < 2$) como lo establece el protocolo DIGESA (2006).

3.4.4.5. Muestreo de vegetación

Antes de instalar las plantas de totora, se tomó una muestra de tallos y raíz, luego fueron enviadas al laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la UNALM, permitiendo saber la concentración de Fe y Mn con las que ingresaron. Al finalizar el experimento, las muestras de plantas se obtuvieron del comportamiento 01 (lo más cerca al punto de ingreso del agua), del compartimento 06 (en el punto céntrico longitudinal del humedal) y en el compartimento 12 (lo más cerca posible al punto de salida).

3.4.4.6. Frecuencia de muestreo del agua

La frecuencia de muestreo fue cada 07 días, realizándose 03 muestreos de agua en cada punto de monitoreo, considerándose 15 días al inicio para establecimiento del flujo antes del primer muestreo y 15 días de adaptación de las plantas de totora. Se tomaron 42 muestras para los tres sustratos (Humedal I y II).

3.5. CUANTIFICACIÓN DE PARÁMETROS DURANTE EL EXPERIMENTO

3.5.1. Medición de pH y Eh

Los análisis del pH y Eh se realizó en el Laboratorio de Servicios de Análisis Químico

(LASAQ), cuya cuantificación de los resultados se realizaron utilizando 02 potenciómetros digitales de mesa, marca Schott Lab 850 de lectura directa, con un electrodo específico para cada parámetro.



Figura 23: Medición del pH y Eh en el laboratorio.

3.5.2. Medición de Fe y Mn

Los análisis del Fe y Mn se realizaron en el Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ) de la UNALM

Para determinar el Fe se utilizó el Método HACH - Method 8008, aprobado por USEPA, Federal Register, 27 de junio de 1980; 45 (126: 43459), y la cuantificación de los resultados se realizó utilizando el espectrofotómetro UV – Vis (Thermo Scientific, GENESYS 6).

Tabla 10: Volúmenes y concentraciones utilizadas para determinar la curva estándar para el hierro.

Alicuota de sol intermedia	Volumen final L	Concentración en mg de Fe/L	Absorbancia L.O.510nm
0.15	50	0.3	0.111
0.25	50	0.5	0.138
0.5	50	1	0.228
1	50	2	0.371
1.5	50	3	0.546

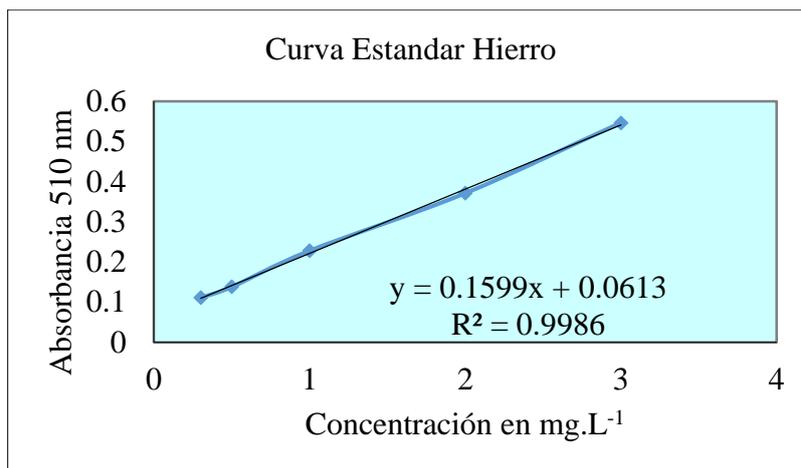


Figura 24: Determinación de la curva estándar para en hierro.

Para el caso de Mn en agua, se utilizó el Method 8034, aprobado por USEPA, Federal Register, 44 (116) 34 193 (14 de junio de 1979). Adaptado de los métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales.

Tabla 11: Volúmenes y concentraciones utilizadas para determinar la curva estándar para el manganeso.

Alicuota de sol intermedia	Volumen final L	Concentración en mg de Mn/L	Absorbancia L.O. 510nm
0.2	10	2	0.092
0.5	10	5	0.208
1	10	10	0.367
1.5	10	15	0.54
2	10	20	0.69

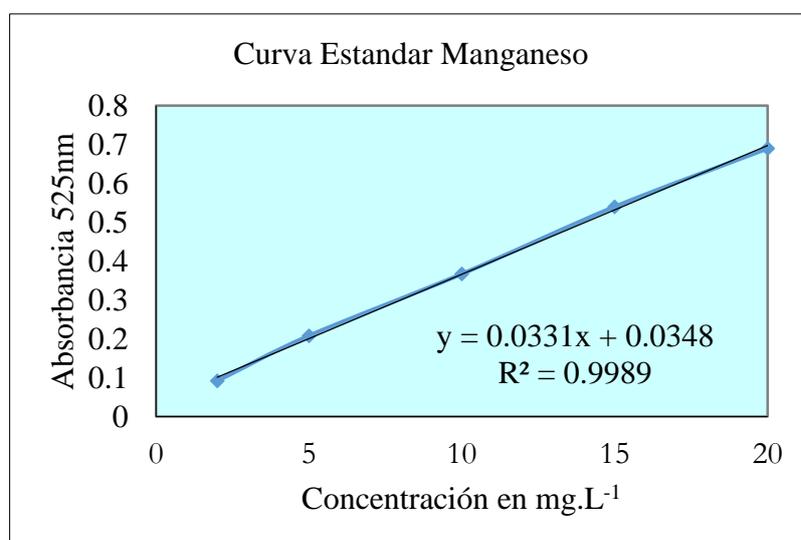


Figura 25: Determinación de la curva estándar para en manganeso.

3.5.3. Fe y Mn en vegetación

Para el caso de Fe y Mn en materia seca de las plantas de totora, las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Análisis de suelos, plantas, agua y fertilizantes de la UNALM.

3.6. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN

Este proceso consistió en calcular el porcentaje de remoción de contaminantes de acuerdo con los resultados obtenidos en laboratorio, a la entrada y salida del humedal. La eficiencia de remoción de contaminantes se expresó en porcentaje, usando la siguiente fórmula.

$$E = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} \times 100$$

Donde:

E: Eficiencia de remoción de contaminante (%).

C_i: Concentración inicial

C_f : Concentración final

3.7. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE ACUMULACIÓN DE METALES EN BIOMASA DE LA TOTORA

Para determinar la eficiencia de acumulación de metales en la totora se tuvo en cuenta el factor de bioconcentración (BCF), también conocido como índice de bioconcentración (BF), Coeficiente de absorción biológica (BAC), Coeficiente de transferencia (TC), Factor de concentración (C_f) o Coeficiente de bioacumulación (BAC); se utilizó para medir la capacidad de captación de un metal por una planta (raíz y parte aérea) con relación a su concentración en el suelo y/o agua donde valores > 1, indican que las especies son potencialmente hiperacumuladora y valores < 1, indican que las especies son exclusoras de compuestos (Audet & Charest 2007).

El factor de bioconcentración se calculó de acuerdo al método propuesto por Olivares y Peña (2009) a través de la siguiente fórmula:

$$BCF = \frac{\text{Concentración en biomasa (mg/Kg)}}{\text{Compuesto agua (mg/Kg)}}$$

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El trabajo de investigación fue conducido mediante un diseño completamente al azar (DCA), en esquema de parcelas subdivididas en el espacio. Las parcelas estuvieron constituidas por los sustratos y las subparcelas por las diferentes distancias.

Su esquema es el siguiente: $Y_{klj} = m + bj + Ak + ekj + Bl + ABkl + eklj$

Dónde: es el valor observado de la característica estudiada, en el nivel de k del factor A ($k = 1, 2, \dots, K$), en el nivel I del factor B ($I = 1, 2, \dots, L$) de la repetición j ($J = 1, 2, \dots, J$)

: es la media general (de todas las observaciones) del experimento

: es el efecto de la repetición j.

: es el efecto del factor k ($k = 1, 2, \dots, K$)

: es el error asociado a los sustratos ykj, o la observación ykj, o efecto de los factores no controlados sobre la observación ykj

: es el efecto del factor l ($l = 1, 2, \dots, L$)

(AB): es el efecto de la interacción del factor A con el factor B

: es el error asociado a la observación yklj, o efecto de los factores no controlados sobre la observación yklj.

Se realizó el Análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existen diferencias significativas, y la prueba de Tukey para determinar si existen diferencias significativas en las medias de los tratamientos cualitativos. El software utilizado para el análisis estadístico fue SISVAR (Ferreira 2011).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS QUÍMICOS EN EL SISTEMA DE TRATAMIENTO

4.1.1. Análisis de varianza (ANOVA) para el potencial de hidrógeno (pH)

En la Tabla 12 se presenta el ANOVA para la variable pH por efecto de los diferentes sustratos orgánicos y distancias (m) de recorrido del drenaje ácido artificial. Así, fue verificado que hubo efectos simples significativos al ($p \leq 0.01$) del factor distancia (m). Por otro lado, fue constatado que no hubo efectos significativos del factor sustratos y tampoco de la interacción de ambos factores sustrato y distancia (Tabla 12).

Tabla 12: ANOVA para la variable pH por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
Sustrato (S)	2	0.2134	0.1066 ns	0.914	0.4504
Error 1	6	0.7005	0.1167	-	-
Distancia (D)	4	178.7259	44.6814**	789.542	0.000
S x D	8	0.3610	0.0451 ns	0.797	0.6105
Error 2	24	1.3582	0.0565	-	-
CV1 (%)			5.79		
CV2 (%)			4.03		

^{ns}-no significativo, y ^{**} significativo a 1% de probabilidad según la prueba de F.

En la Figura 26 se observa que a medida que fue aumentada la distancia de muestreo y análisis, el pH del drenaje ácido artificial se volvió más alcalino generando diferencias estadísticas significativas. De este modo, en la distancia 0.0 m, fue registrado el menor valor de pH, siendo extremadamente ácido. En la distancia 1.38 y 4.14 m, se obtuvieron resultados estadísticamente iguales; sin embargo, entre estos dos valores (2.76 m) se obtuvo un valor mayor, en ese sentido el máximo valor de pH fue registrado a 5.52 m., indicando que, independientemente del sustrato utilizado, el valor del pH va aumentando a mayores distancias de recorrido del agua.

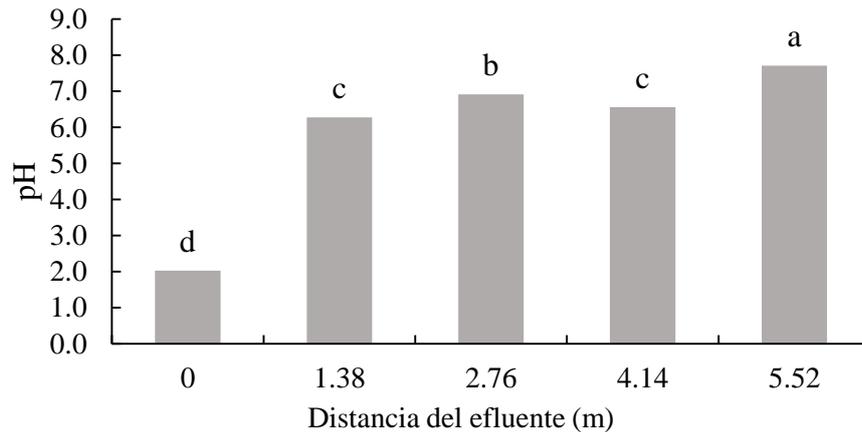


Figura 26: Medias de pH por efectos simples de la distancia de recorrido del drenaje ácido artificial.

Leyenda: Letras iguales en las barras no difieren estadísticamente por la prueba de Tukey ($p \leq 0.01$).

En esta investigación, el drenaje ácido artificial se hizo circular por el interior del sustrato, provocando la disolución de la caliza, lo que generó alcalinidad ($\text{HCO}_3^- + \text{OH}^-$) y elevó el pH del agua, sin embargo en un ambiente aerobio se produciría la oxidación, hidrólisis y precipitación de los oxihidróxidos metálicos (Watzlaf & Hyman 1995; Fripp *et al.* 2000). Por otra parte, en estudios realizados por Neculita *et al.* (2008), Robinson & Brennan (2011) y Song *et al.* (2012) expresan que en reactores orgánicos determinaron que la alcalinidad más alta estuvo asociada con la formación de especiaciones carbonatadas, debido a la disolución de la piedra caliza u oxidación de sustratos orgánicos fácilmente disponibles por las bacterias sulfato reductoras (SRB), así como por la disolución de iones hidroxilo unidos a la superficie en los materiales del sustrato en condiciones ácidas.

En la Figura 26 se evidencia que la distancia de recorrido del drenaje ácido artificial influye directamente en el incremento del pH para los tres sustratos (S1, S2 y S3), este comportamiento fue corroborado por Younger *et al.* (2002) y Neculita *et al.* (2008), quienes sostienen que el tiempo de retención hidráulica (TRH) y la velocidad de flujo tienen una influencia directa en el rendimiento de las barreras reactivas permeables, jugando un papel importante en la actividad general de los microorganismos. Por su parte, Neculita *et al.* (2007) sostienen que el TRH muy corto puede no permitir un tiempo adecuado para que la actividad de las bacterias neutralice la acidez y precipite los metales o puede hacer que la biomasa se elimine del reactor. Un TRH muy largo puede agotar el sustrato o acumular

crecimiento bacteriano y precipitar minerales que eventualmente conducen a una baja conductividad hidráulica y un corto circuito del sistema de tratamiento (Younger *et al.* 2002).

Durante el funcionamiento del sistema de tratamiento (Figuras 26), a una distancia de 4.14 m, el pH disminuye en los tres sustratos, comportamiento analógico que puede estar determinado por la formación de áreas de menor velocidad de flujo, demarcados por el gradiente hidráulico. En tal sentido, Hedin, *et al.* (1993) sostienen que la disminución del pH surge principalmente por los protones libres H^+ y de la acidez mineral Fe y Mn disuelto, sufriendo reacciones de hidrólisis que producen H^+ , creando condiciones ácidas con la formación de ácido sulfúrico, la acidez orgánica es escasa debido a que estas aguas cuentan con un contenido de carbono orgánico disuelto muy bajo. Otro de los factores que evita la generación de alcalinidad es la obstrucción eventual de los espacios porosos de la piedra caliza, debido a los precipitados de hidróxidos de Al y Fe y yeso ($CaSO_4$) (Nairn *et al.* 1991).

Por su parte Evangelou (1998) indica que la calcita se disuelve en mayor cantidad a pH ácidos y a elevada presión parcial del dióxido de carbono (pCO_2). Por su parte, Hedin & Watzlaf (1994b) determinaron mediante cálculos la existencia de altas presiones parciales de CO_2 en el interior de 21 dispositivos ALD, situándose entre 0.022 y 0.268 atm, superior al valor medio de la pCO_2 en la atmósfera (0,0035 atm). El CO_2 proviene de la disolución de la caliza, y el incremento de la pCO_2 se debe al parcial encapsulamiento del sistema. El pH ácido que presenta el drenaje de mina junto a estas elevadas presiones parciales de CO_2 favorece la disolución de la caliza, aportando una alcalinidad al sistema por encima de lo previsible si funcionara en condiciones totalmente abiertas.

4.1.2. Análisis de varianza (ANOVA) para el potencial de redox (Eh)

En la Tabla 13 se presenta el ANOVA para la variable Eh por efecto de los diferentes sustratos orgánicos y distancias (m) de recorrido del drenaje ácido artificial. En ese sentido fue verificado que hubo efectos simples significativos al ($p \leq 0.01$) de los factores: sustratos y distancia (m), así como también para la interacción de ambos factores (Tabla 13). Sin embargo, debido a que la interacción fue significativa, los análisis solo serán para esta fuente de variación.

Tabla 13: ANOVA para la variable Eh por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
Sustrato (S)	2	9 641.8400	4 820.9200**	22.193	0.002
Error 1	6	1 303.3665	217.2277	-	-
Distancia (D)	4	651 035.4285	162 758.8571**	2.412	0.000
S x D	8	5 085.9920	635.7490**	9.421	0.000
Error 2	24	1 619.5966	67.4831	-	-
CV1 (%)			8.88		
CV2 (%)			4.95		

^{ns}-no significativo, y ** significativo a 1% de probabilidad según la prueba de F.

De esta manera, en la Figura 27 se presenta la prueba de medias para la variable Eh por efecto de la interacción significativa ($p \leq 0.01$) entre los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial. En la interacción sustratos y distancias a 0.0 m, los valores que presentaron los sustratos (S1, S2 y S3) no difieren estadísticamente, en las distancias 1.38 y 2.76 m, el S3 obtuvo mayor capacidad reductora, para el S2 presentó una capacidad de reducción media, también en estas mismas distancias, el S1 presentó la menor capacidad de reducción. En la distancia 4.14 m, la mayor capacidad reductora obtuvieron S2 y S3 y menor el S1. En la distancia 5.52 m, la mayor capacidad reductora obtuvo el S3 y la menor presentaron el S1 y el S2.

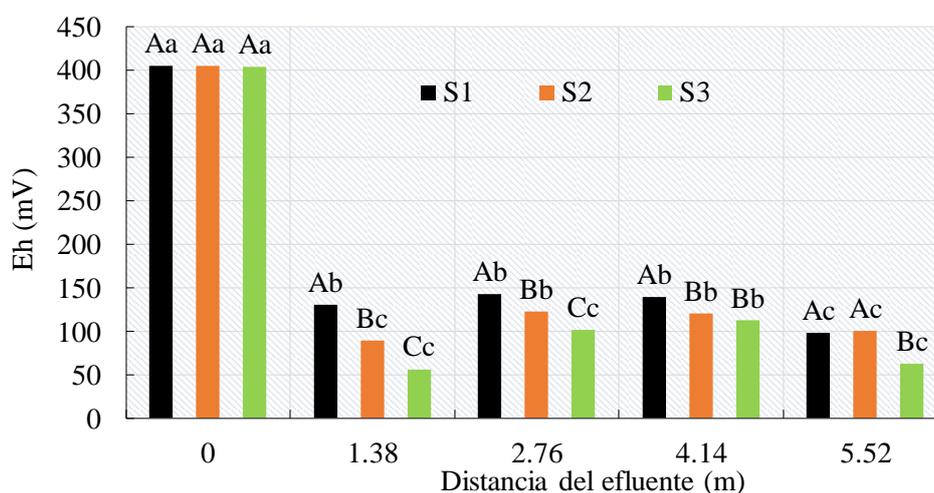


Figura 27: Medias de Eh por efectos significativos de la interacción de los sustratos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.

Leyenda: Letras mayúsculas iguales en los sustratos en cada distancia no difieren estadísticamente, y letras minúsculas iguales en las distancias en cada sustrato no difieren estadísticamente, según la prueba Tukey ($p \leq 0.01$).

En la Figura 27 se observa las concentraciones formuladas inicialmente (0.0 m) de Eh para los tres sustratos. A 1.38 m, el S1; 2.76 m, el S1 y S2; y a 4.14 m, el S1, S2 y S3 presentaron capacidad reductora media. Por otro lado, a 1.38 m, el S2 y S3; a 2.76 m, el S3; y a 5.52 m, el S1, S2 y S3 presentaron mayor capacidad reductora, dando a entender que el agua se basifica debido a la liberación de OH⁻. También en ésta misma Figura (27), se muestran incrementos de valores del Eh en las distancias de 1.38 a 2.76 m, y de 2.76 a 4.14 m para el S2 y S3 respectivamente, proceso que puede estar determinado por la liberación de H⁺ en un proceso de oxidación del agua. Estos comportamientos de incremento son explicados por Cheong *et al.* (2010) quienes sostienen que el principal contribuyente al Eh es el oxígeno disuelto y otras especies activas redox, como sulfato y Fe²⁺. Igualmente, Ramalho (2003) afirma que el incremento del Eh puede ser influenciado por los exudados generados por las raíces de las plantas, ya que estas liberan sales y minerales al interactuar con el sustrato y demás componentes del humedal (S3).

4.1.3. Análisis de varianza (ANOVA) para el Fe

El ANOVA presentado en la Tabla 14 muestra que el factor distancia presentó diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.01$). Por otro lado, el factor sustrato y la interacción de ambos factores no presentaron diferencias estadísticas para la variable contenido de hierro al 1% de probabilidad.

Tabla 14: ANOVA para la variable Fe por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
Sustrato (S)	2	100.49	50.25 ns	3.865	0.0835
Error 1	6	78.01	13.00	-	-
Distancia (D)	4	72 150.69	18 037.67**	614.29	0.000
S x D	8	292.37	36.55 ns	1.25	0.317
Error 2	24	704.73	29.37	-	-
CV1 (%)			14.82		
CV2 (%)			22.30		

^{ns}-no significativo, y ^{**} significativo a 1% de probabilidad según la prueba de F.

En la Figura 28 se observa el análisis del contenido de Fe en las diferentes distancias evaluadas, el cual fue constatado la presencia de diferencias estadísticas significativas, observándose a una distancia 0.0 m las concentraciones de Fe formuladas inicialmente con el ingreso el drenaje ácido artificial. A partir de esta distancia, la concentración fue

descendiendo, evidenciándose en las distancias de 1.38 y 4.14 m, obteniéndose resultados estadísticos semejantes. En ese sentido, los valores mínimos de concentración y con resultados estadísticos iguales se obtuvo en las distancias 2.76 y 5.52 m, indicando que, independientemente del sustrato utilizado, el contenido de hierro es altamente retenido a mayores distancias de recorrido del agua.

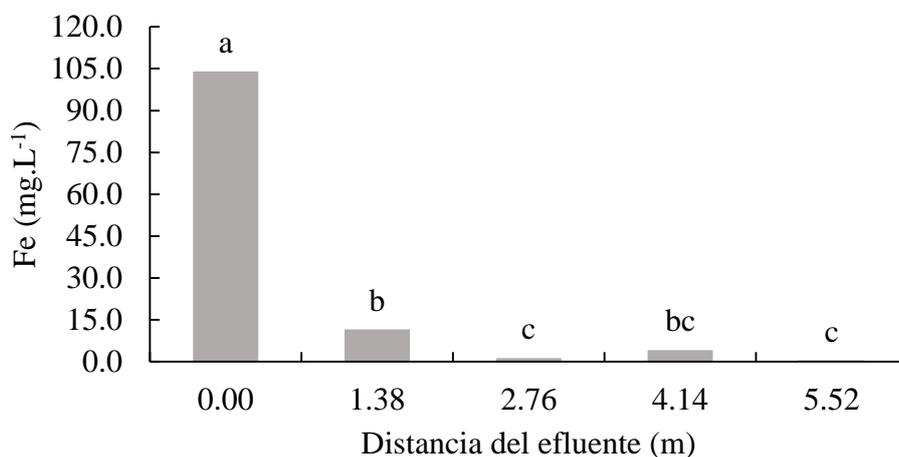


Figura 28: Medias de Fe por efecto de distancias recorridas del drenaje ácido artificial.

Leyenda: Letras iguales en las barras no difieren estadísticamente por la prueba de Tukey ($p \leq 0.01$).

Según Cheong *et al.* (2010) indican que las reacciones que eliminan los metales en los reactores son altamente sensibles a las condiciones redox y son reversibles. Dicho comportamiento se muestra en la Figura 28, en la distancia 4.14 m, cuya concentración aumente para los tres sustratos (S1, S2 y S3); este comportamiento de incremento está estrictamente relacionado con la disminución del pH y el incremento del Eh presentado en los tres sustratos. La movilidad y la disponibilidad de muchos metales y metaloides traza y tóxicos en suelos de humedales a menudo se rigen por el potencial de oxidación-reducción (redox) y el pH asociado en la rizosfera (Gambrell 1994), viéndose probablemente influenciados por el oxígeno liberado por las plantas en la rizosfera (Yang *et al.* 2010). En ese sentido, Wright y Otte (1999) sostienen que las condiciones de inundación inducen a un enriquecimiento de metales en los suelos que rodean las raíces de las plantas de los humedales.

Por su parte, Zhang & Wang (2014) indican que, durante la operación a flujo continuo, los metales podrían eliminarse por precipitación en forma de hidróxidos y carbonatos, así como

por sorción en sustrato orgánico fresco, también puede ser parcialmente explicada por la formación de sulfuros minerales.

La utilización de la materia orgánica en la capa superior (0.1 a 0.5 m de espesor) es con el propósito de eliminar el oxígeno disuelto del agua, reducir el sulfato y transformar el Fe^{3+} en Fe^{2+} , evitándose la precipitación del hidróxido de Fe^{3+} sobre la capa de caliza (Skousen *et al.* 1998; U.S. EPA 2000).

La formación de precipitado y la acumulación de minerales de oxihidróxido de hierro con color marrón amarillento se pudo evidenciar en la capa que une el compost y la caliza en el momento del desmantelamiento del humedal; estas altas concentraciones de Fe en mezclas pueden indicar que en los reactores existió reacciones que permitió la eliminación de los metales del agua tratada; sin embargo, puede conllevar a una disminución de la eficiencia de la roca caliza y vida útil del humedal, ya que se puede generar un acorazamiento de la roca caliza. Por su parte, Zaluski *et al.* (2003) encontraron resultados similares en las mezclas reactivas después del período de operación y el desmantelamiento de reactores utilizados en su investigación.

La mayor retención de Fe que de Mn en estos sistemas está relacionada con la facilidad con la que estos se oxidan e hidrolizan, siendo menor la oxidación del Mn, debido a que es más sensible a la presencia de Fe^{2+} , el cual puede impedir o invertir la oxidación del Mn. Es por ello que en estos sistemas, el Fe precipita primero seguido del Mn, por lo que en la práctica, si llega a precipitar el Mn, lo hace en la parte final del humedal, una vez que todo el Fe esté precipitado (Skousen *et al.* 1998).

4.1.4. Análisis de varianza (ANOVA) para el manganeso (Mn)

Para la concentración de Mn en el análisis de varianza (Tabla 15), se muestra que hubo efectos significativos al ($p \leq 0.01$) en los sustratos, distancias (m) y de la interacción de ambos factores, indicando que los niveles de ese elemento variaran en función de los dos factores (sustrato y distancia). Sin embargo, debido a que la interacción fue significativa, los análisis solo serán para esta fuente de variación.

Tabla 15: ANOVA para la variable Mn por efecto de los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>Fc
Sustrato (S)	2	476.87	238.43*	9.649	0.0133
Error 1	6	148.26	24.71	-	-
Distancia (D)	4	14 759.77	3 689.94**	348.29	0.0000
S x D	8	362.03	45.25**	4.27	0.0026
Error 2	24	254.27	10.59		
CV1 (%)			33.35		
CV2 (%)			21.84		

^{ns}-no significativo, ** significativo a 1% y *significativo a 5% de probabilidad según la prueba de F.

De esta manera, en la Figura 29 se presenta la prueba de medias para la variable Mn por efecto de la interacción significativa ($p \leq 0.01$), entre los sustratos orgánicos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial. Así, se observa que en la distancia 0,0 m, el Mn no difirió estadísticamente para los tres sustratos (S1, S2 y S3), en las distancias 1.38 y 2.76 m el S1 y S2 obtuvieron valores menores de concentración de Mn, a diferencia del S3, que presentó un valor de concentración mayor. Las concentraciones a distancia de 4.14 m fueron S1 menor, S2 media y S3 mayor, respectivamente. En la distancia 5.52 m, los tres sustratos no difieren significativamente; sin embargo, presentaron valores menores de concentración en comparación con las distancias anteriores.

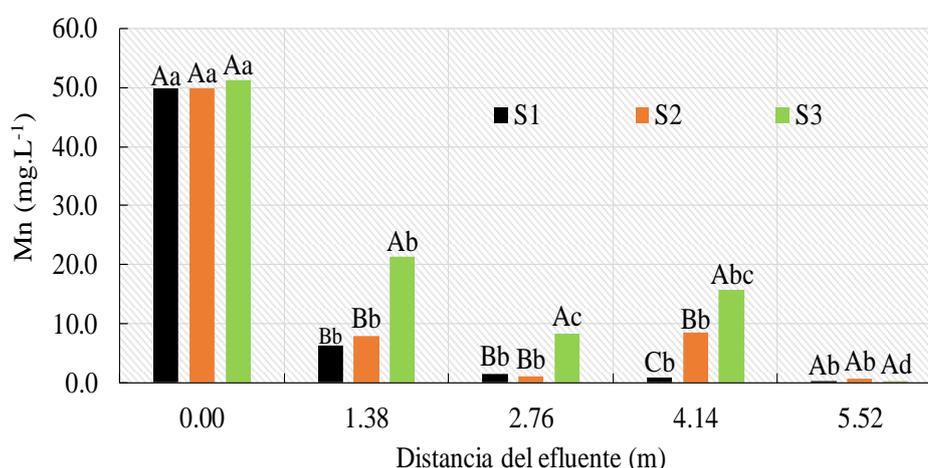


Figura 29: Medias de Mn por efectos significativos de la interacción de los sustratos y distancias de recorrido del drenaje ácido artificial.

Leyenda: Letras mayúsculas iguales en los sustratos en cada distancia no difieren estadísticamente, y letras minúsculas iguales en las distancias en cada sustrato no difieren estadísticamente según la prueba Tukey ($p \leq 0.01$).

En la Figura 29 se muestra las concentraciones formuladas inicialmente (0.0 m) de Mn en S1, S2 y S3, observándose mayores valores en comparación a las distancias evaluadas de 1.38, 2.76, 4.14 y 5.51 m. Por otro lado, el S3 muestra la formulación inicial (0.0 m) de Mn con mayor valor de concentración, a 1.38, 2.76 y 4.14 concentración media y con valor menor a 5.52 m. Por otro lado, se puede observar que conforme va avanzando la distancia de recorrido del drenaje ácido artificial, los tres sustratos presentaron una disminución de la concentración de Mn, cuyo comportamiento está ligada al aumento del pH (generación de alcalinidad) una condición presente en los tres sustratos. Por su parte, Mariner *et al.* (2008) sostienen que, para garantizar tasas apropiadas de oxidación abiótica de Mn, generalmente es necesaria una alcalinidad relativamente alta a $\text{pH} < 8$. Dicha eliminación del Mn^{2+} se podría realizar por sorción en sustrato orgánico fresco y precipitación como carbonato (MnCO_3). Siendo la adsorción en sustratos orgánicos el mecanismo predominante que proporciona cierta eliminación de Mn^{2+} .

Sin embargo, el S2 y S3 presentaron un incremento de la concentración en la distancia de 4.14 m, este comportamiento de incremento está estrictamente relacionado con la disminución del pH y el incremento Eh, comportamiento similar a lo presentado con el Fe. Cheong *et al.* (2010) sostienen que la baja eliminación de Mn en los biorreactores resulta de la alta solubilidad de MnS en relación con otros sulfuros; por otro lado, Yoo *et al.* (2004) indican que la inhibición de su precipitación como hidróxidos se da cuando las concentraciones de Fe^{2+} o Zn^{2+} son altas. Además, Mn generalmente está débilmente absorbido (Willow & Cohen 2003). De acuerdo con Hallberg & Johnson (2005), un pH alrededor de 8 se requiere para oxidar abióticamente Mn (II) a Mn (IV) insoluble y formar hidróxidos y carbonatos insolubles. Del mismo modo, Zagury *et al.* (2006) informaron una eliminación rápida de Mn como MnCO_3 (concentración inicial de 14 mg.L^{-1} , pH 8) durante los experimentos por lotes con estiércol de aves de corral. Por su parte Chang *et al.* (2000); Robinson & Brennan (2011) sostienen que el Mn^{2+} ha sido reconocido como el metal más desafiante para eliminar en biorreactores bajo condiciones reductoras.

4.2. EFICIENCIA DE CAMBIO Y REMOCIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS

4.2.1. Eficiencia de cambio del pH

De manera general, el comportamiento de los valores promedios de pH del drenaje ácido artificial, durante la operación del experimento, fueron de ligeramente ácidos a ligeramente alcalinos, oscilando entre 6.2 y 7.9 como se muestra en la Figura 30, demostrando los tres sustratos una importante eficiencia debido a que el efluente ingreso con 2 de pH (moderadamente ácido).

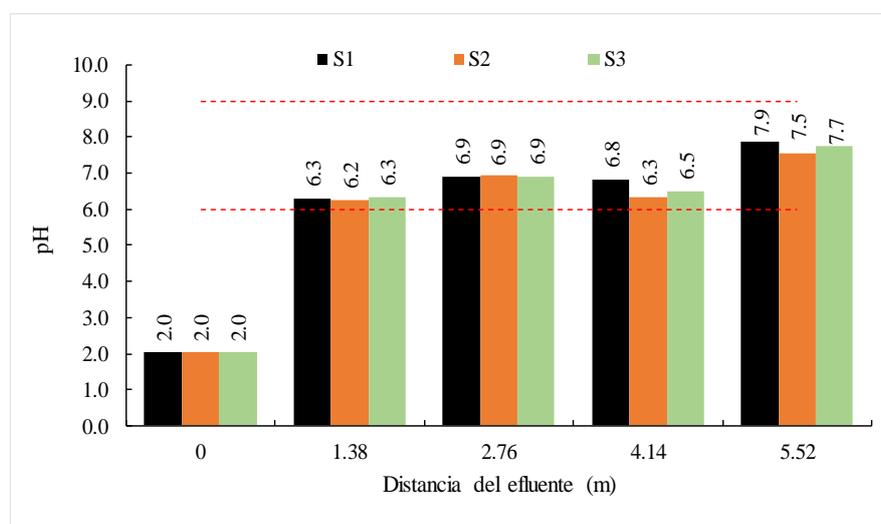


Figura 30: Diagrama de barras que refleja la variación del pH durante el monitoreo.

El Decreto Supremo N° 010-2010-MINAM establece un rango de pH de 6-9 para la descarga de efluentes de la actividad minero metalurgia, este rango involucra a los resultados obtenidos en los tres sustratos a partir de una distancia de 1.38 m, los mismos que se encuentran comprendidos entre 6.2 y 7.9 de pH. Del mismo modo, en la Universidad de Oviedo se condujo un experimento en sistema combinado de SAPS y un humedal, cuyo contenido fue compost, caliza y ciertas plantas (*Tipha latifolia*), lográndose un incremento de pH a través del sistema de 3 a 7 (Ordóñez *et al.* 1999).

Los tres sustratos funcionando bajo un caudal de 1 L/h y un TRH de 2.93 días solo necesitaron una distancia de 1.38 m en el laberinto para cumplir con la normatividad peruana. Estos resultados son corroborados por Ordóñez (1999), el cual utilizó un sistema combinado de cascadas de aireación seguido de un SAPS, utilizó un caudal de 10 L/día con un TRH

aproximado de 3.5 días logrando aumentar el pH de 3 a 7.2. Por su parte, Hellier (1996) empleó un SAPS para tratar drenaje ácido de mina, pudiendo aumentar el pH de 4.3 a 7.1 en el efluente.

4.2.2. Eficiencia de cambio del Eh

Al igual que el pH, el potencial de agua de salida del sistema de tratamiento es otra propiedad química que se puede medir de forma continua. En la Figura 31 se observan los valores promedios del parámetro Eh, ingresando el efluente alrededor de 405 mV, después de someterse a tratamiento, todos los valores fueron inferiores al agua entrante, indicando que el agua estuvo en condiciones reductoras.

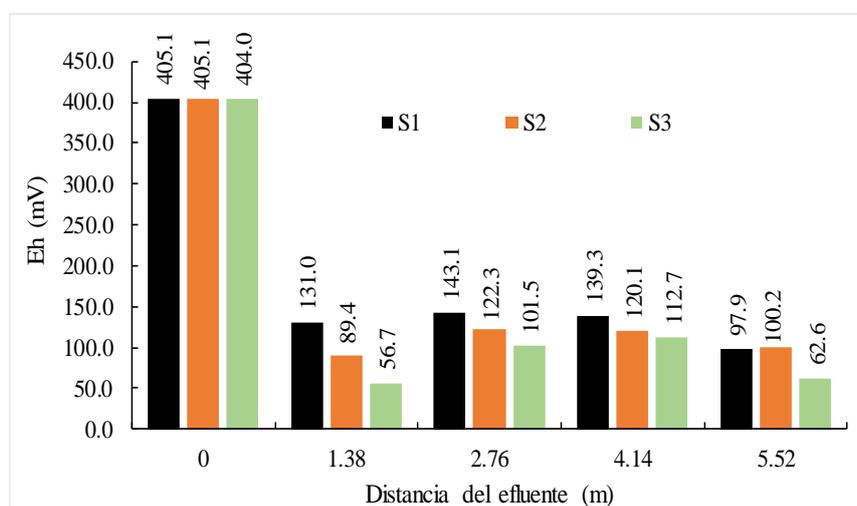


Figura 31: Diagrama de barras que refleja la variación del Eh durante el monitoreo.

De la misma forma que para el caso del pH, se observó una disminución progresiva del Eh a medida que el agua se va tratando a través del material reactivo del SAPS, dando a indicar la existencia de condiciones reductoras en el interior del mismo. Sin embargo, aunque los resultados descienden a valores mínimos de 56.7 mV, en alguno de sus puntos, el potencial redox no alcanza valores negativos dentro del humedal. Similar resultado encontró Ordoñez (1999), el cual logró un descenso de 430 a 65 mV, utilizando un sistema combinado de cascadas de aireación seguido de un SAPS, con un tiempo aproximado de retención de 3.5 días y un caudal de 10 L/día.

Estos resultados conllevan a establecer que el S3 presente un ambiente favorable para un proceso de reducción seguido del sustrato S2 en menor proporción S1.

4.2.3. Eficiencia de remoción del Fe

Los cambios en la concentración de Fe a lo largo del sistema de tratamiento para cada sustrato se ilustran en la Figuras 32. Se puede observar que las concentraciones de Fe presente en el efluente fueron relativamente menores en comparación con Decreto Supremo N° 010-2010-MINAM, el cual establece que los límites máximos permisibles para la descarga de efluentes de la actividad minera debe ser menor a 2 mg.L⁻¹.

En concordancia con lo mencionado, todos los sustratos cumplieron con la legislación al final de la distancia de 5.52 m. Sin embargo, también se estaría cumpliendo a una distancia de 2.76 m para los S2 y S3 y de 4.14 m en el caso del S1.

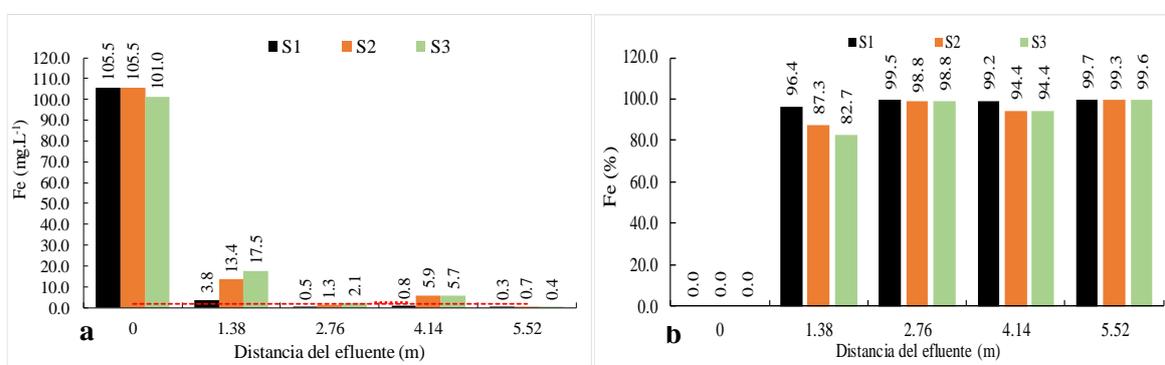


Figura 32: (a) Concentración y (b) porcentaje de remoción del Fe por efecto de los sustratos orgánicos y distancia del efluente.

En términos de rendimiento, las máximas eficiencia de remoción se logró a la salida del sistema de tratamiento (5.52 m) del humedal para los tres sustratos (S1, S2 y S3), siendo de 99.7% 99.3% y 99.6% respectivamente, similar resultado presentó el S1 a una distancia de 2.76 m. Por su parte, Younger (1998) logró eliminar entre un 72-99 % Fe en un SAPS construido en Pelenna (Gales), con un TRH en el sistema de 14 horas. De igual forma, estos resultados se asemejan a estudios realizados en la Universidad de Oviedo, los cuales realizaron un experimento a escala de laboratorio con un sistema combinado de SAPS y un humedal con caliza, compost y plantas (*Tipha latifolia*), lográndose una eficiencia de remoción 99.5% de Fe (Ordóñez *et al.* 1999).

Dichos resultados se lograron con un caudal de 1 L/h y un TRH de 2.93 días, similares características utilizó Ordóñez (1999), usando un sistema combinado de cascadas de aireación seguido de un SAPS, el efluente sometido a tratamiento presentó una

concentración de 50 mg.L⁻¹ Fe con un caudal de 10 L/día y TRH 3.5 días, logrando reducir el contenido de Fe en un 100%. De igual forma, Hellier (1996) empleó un SAPS para tratar drenaje ácido de mina, logrando una eficiencia de 95 %, siendo las concentraciones de entrada y salida de 60 y 3 mg.L⁻¹ de Fe.

4.2.4. Eficiencia de remoción del Mn

En la Figura 33 se observa los valores promedio del parámetro Mn, el efluente ingresa con valores alrededor de 50 mg.L⁻¹ para los tres sustratos (S1, S2 y S3), obteniéndose valores mínimos a la salida del efluente de 0.1, 0.7 y 0.3 mg.L⁻¹ respectivamente, resultados obtenidos con un caudal de 1 L/h y un TRH de 2.93 días. Para fines de control y descarga de este parámetro, no lo establece el Decreto Supremo N° 010-2010-MINAM, es por la cual se ha creído conveniente para dicho análisis utilizar el libro N° VI de la República Chilena, donde establece que toda descarga a un cuerpo de agua dulce deberá cumplir con límites máximos permisibles, cuya concentración para el caso del Mn es de 2 mg.L⁻¹.

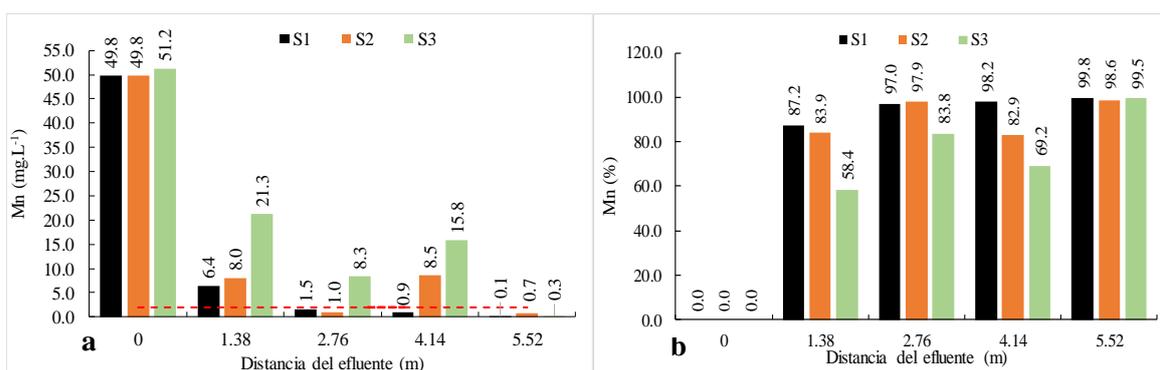


Figura 33: (a) Concentración y (b) porcentaje de remoción del Mn por efecto de los sustratos orgánicos y distancia del efluente.

En contraste con la normatividad chilena, los tres sustratos cumplieron con la concentración establecida de descarga Figura 33 (5.52 m). Sin embargo, también se estaría cumpliendo a una distancia de 2.76 m para los S2 y S3 y de 4.14 m en el caso del S1.

Para efectos del manganeso, la máxima eficiencia se logró a una distancia de 5.52 m, siendo el porcentaje de remoción de 99.8% 98.6% y 99.5% para los S1, S2 y S3 respectivamente, similar resultado presentó el sustrato S1 a una distancia de 2.76 m. Estos resultados concuerdan con lo obtenido en un trabajo de investigación desarrollado por Ordoñez, (2005), en la que utilizó tres columnas (tratamientos) con diferentes alturas de sustrato, conformado

por compost, piedra caliza, compost y grava, cuyos resultados presentaron una eficiencia superior al 99% reduciendo de 7.506 mg.L⁻¹ a menos de 1.72 mg.L⁻¹.

4.3. RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LA VEGETACIÓN

4.3.1. Concentración de Fe y Mn evaluados en plantas del sustrato R+C+EM+T (S3)

Como se puede observar en la Figura 34, las plantas de totora antes de ser instaladas en el S3 presentaron concentraciones de 1 082 y 583 mg.Kg⁻¹ (líneas transversales) para los parámetros Fe y Mn respectivamente. Estas concentraciones fueron aumentando paulatinamente durante el desarrollo del experimento, las mismas que presentaron variaciones en las tres distancias muestreadas, indicando que las plantas utilizadas presentaron capacidad de absorción de metales.

Como se puede observar, las plantas instaladas en el punto de ingreso del agua (0.0 m) presentaron las máximas concentración de metales llegando a valores de 2 802 mg.Kg⁻¹ y 1 218 mg.Kg⁻¹ para el Fe y Mn. Si bien es cierto, la concentración de los metales en el drenaje ácido artificial va disminuyendo conforme el efluente, va avanzando en los compartimentos de tratamiento. Sin embargo, las plantas ubicadas en el punto de la salida del drenaje (5.52 m) presentaron una mayor concentración de metales que aquellas plantas ubicadas en el centro del humedal (2.76 m).

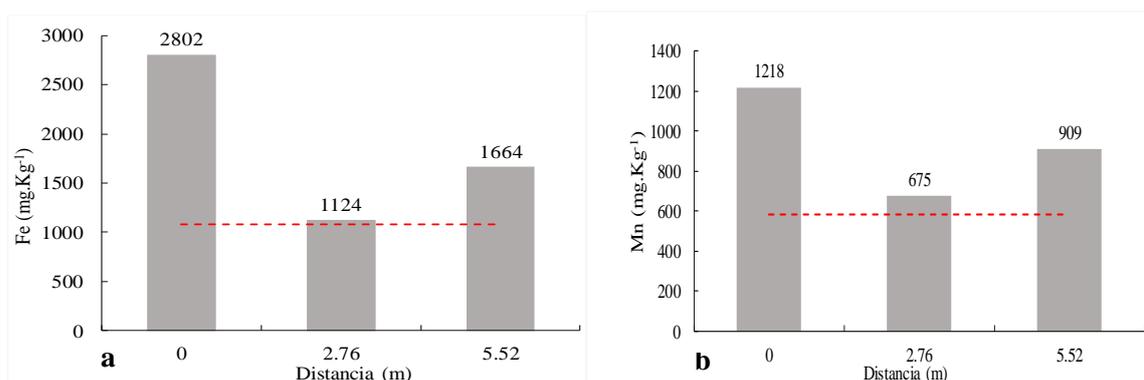


Figura 34: (a) Concentración de Fe y (b) concentración de Mn en plantas evaluadas en las diferentes distancias a lo largo del humedal para el S3.

La capacidad de una planta para acumular metales pesados del suelo o agua puede estimarse utilizando el Factor de bioacumulación (BCF), que se define como la relación de la concentración de metal en la biomasa respecto al agua.

Factor de bioconcentración en la biomasa de la planta adaptado de (Baker 1981).

Si el $BCF_{biomasa} < 1$ la planta es excluyente

Si el $1 < BCF_{biomasa} < 10$ la planta es acumuladora

Si el $BCF_{biomasa} > 10$ la planta es hiperacumuladora

Para determinar la capacidad de bioconcentración de la totora, solo se consideró la concentración del contaminante obtenido durante el experimento, ya que se sabe que las plantas ingresaron con concentraciones de Fe y Mn de 1 080 y 583 $mg.Kg^{-1}$, para propósitos de dichos cálculos, las unidades de concentración en litros se consideran como equivalente a Kg.

Tabla 16: Determinación del factor de bioconcentración en la biomasa de la planta de totora con relación Fe.

Distancias (m)	Concentración inicial $mg.Kg^{-1}$	Concentración final $mg.Kg^{-1}$	Concentración durante el experimento $mg.Kg^{-1}$	Concentración en el agua $mg.Kg^{-1}$	BCF
0	1 080	2 802	1 722	101	17.0
2.76	1 080	1 124	44	2.1	21.0
5.52	1 080	1 664	584	0.4	1 460.0

Como se puede observar en la Tabla 16, el BCF calculado para las tres distancias presenta resultados > 10 , dando a indicar que las plantas de totora es hiperacumuladora respecto a la bioacumulación del Fe.

Tabla 17: Determinación del factor de bioconcentración en la biomasa de la planta de totora con relación Mn.

Distancias (m)	Concentración inicial $mg.Kg^{-1}$	Concentración final $mg.Kg^{-1}$	Concentración durante el experimento $mg.Kg^{-1}$	Concentración en el agua $mg.Kg^{-1}$	BCF
0	583	1 218	635	51.2	12
2.76	583	675	92	8.3	11
5.52	583	909	326	0.3	1 087

Para este caso, se observa en la Tabla 17 que el BCF calculado para las tres distancias presenta resultados > 10 , dando a indicar que la planta de totora es hiperacumuladora respecto a la bioacumulación del Mn.

Según Skousen *et al.* (1998) indican que al emplear plantas acuáticas en los humedales produce la liberación de oxígeno a través de sus rizomas y raíces. El substrato oxigenado del humedal proporciona y permite la formación de un hábitat para que haya mayor desarrollo

de bacterias que actúan como catalizadoras en la reacción de oxidación de los contaminantes presentes en el humedal, transformando en el caso del hierro el Fe^{2+} a Fe^{3+} , el cual finalmente precipita en forma de hidróxido. Por otro lado, Stottmeister *et al.* (2003) sostienen que estas emisiones de oxígeno causan la formación de una película oxidativa protectora, colocada directamente sobre la superficie de la raíz que sirve como protección en condiciones de rizosferas anóxicas.

Además de oxígeno, las plantas también pueden emitir exudados a través de sus raíces hacia la rizosfera, que incluyen azúcares, alcoholes, ácidos carboxílicos, fenoles, aminoácidos, enzimas y vitaminas (como tiamina, riboflavina y piridoxina), que pueden estimular el crecimiento microbiano o la formación de asociaciones simbióticas (Champagne 2007; Stottmeister *et al.* 2003).

V. CONCLUSIONES

- Los tres sustratos (S1, S2 y S3), mostraron eficiencia y significancia estadística en el cambio del pH, necesitando solo una distancia de 1.38 m para cumplir con el Decreto Supremo N° 010-2010-MINAM (pH: 6.0 a 9.0), incrementándose a mayores distancias de recorrido del agua mostrando valores entre 6.2 y 7.9. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre sustratos, siendo los tres indicados para el tratamiento de drenaje ácido, cuya alcalinidad estaría asociada con la formación de especiaciones carbonatadas, debido a la disolución de la capa de roca caliza u oxidación de sustratos orgánicos (compost).
- El S3 presentó mayor capacidad de reducción de Eh para fines de tratamiento de drenajes ácidos, seguido por el S2, siendo el menos indicado el S1, en tal sentido se puede inferir que dicho comportamiento estaría influenciado por la presencia de microorganismos eficaces y plantas de totora.
- Para el cumplimiento del Decreto Supremo N° 010-2010-MINAM, respecto a la concentración de Fe en el agua residual, solo se necesitó una distancia de 2.76 m para el S1 y S2, y de 5.52 para el S3.
- Los tres sustratos (S1, S2 y S3) fueron eficientes en la remoción de Fe, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre ellos, lográndose las máximas eficiencias de remoción a una distancia de 5.52 m, siendo de 99.7% para el S1, de 99.3% para el S2 y de 99.6% para el S3.
- Para la remoción de Mn, los tres sustratos (S1, S2 y S3), resultaron ser eficientes en el tratamiento de drenajes ácidos, mostrando diferencias estadísticas significativas entre ellos, siendo el S1 el de mejor comportamiento en el recorrido del drenaje, y el de menor grado el S3, observándose las máximas eficiencias de remoción a una distancia de 5.52 m, siendo de 99.8% para el S1, de 98.6% para el S2 y de 99.5% para el S3.

- Se consideran las plantas de totora como híper acumuladoras, debido a que el factor de bioacumulación fue mayor a 10 para el Fe y Mn en todas las muestras evaluadas.
- En términos generales, si bien no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 sustratos; el S1 es el más recomendable desde el punto de vista económico, debido a que requiere menor área de tratamiento. Desde el punto de vista ambiental, el S3 es el más sostenible, debido a la presencia de la vegetación que mejora la hidrología, oxigenación, secuestro de partículas y la acumulación de contaminantes, disminuyendo la saturación del sustrato e incrementado el periodo de vida útil de dicho humedal.

VI. RECOMEDACIONES

- Efectuar estudios a nivel de campo que permitan evaluar el comportamiento de los sustratos y el tiempo de retención hidráulica en función a los factores ambientales.
- Evaluar la influencia de las plantas en la remediación de las aguas acidas de mina y la remoción de contaminantes en humedales.
- Desarrollar estudios de identificación y comportamiento del nivel poblacional de bacterias sulfatoreductoras, en los diferentes tipos de sustratos a lo largo de un sistema de tratamiento.
- Evaluar diseños de humedales artificiales que permitan tener un mejor flujo hidráulico y contacto entre el agua y el sustrato.
- Evaluar el comportamiento de los parámetros fisicoquímicas para los diferentes sustratos antes y después en un sistema de tratamiento.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMPL (Acuerdo Marco de Producción Limpia). 2002. Guía metodología sobre Drenaje Ácido en la Industria Minera – Chile.
- Akcil, A & Koldas, S. 2006. Acid mine drainage (DAM): causes, treatment and case studies. *Journal Clean. Product.* 14, 1139–1145.
- Ali, M.S. 2011. Remediation of acid mine waters, in: T.R. Rüde, A. Freund, C. Wolkersdorfer (Eds.), *Mine Water – Managing the Challenges*, 11th International Mine Water Association Congress, Aachen, Germany, pp. 253–258.
- Al-Recabi, W., Qing, H., Qing, W & Abbas, A. 2007. Utilization of constructed wetlands for wastewater treatment. *European Journal of Scientific Research.* 18(1):165-185.
- Arias, O. 2004. Estudio de la biodegradación de la materia orgánica en humedales construidos de flujo subsuperficial. Tesina, Barcelona, España, UPC. Department de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental.
- Audet, P & Charest, C. 2007. Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis in heavy metal phytoremediation: Meta-analytical and conceptual perspectives. Consultado el 8 Agos. de 2019. Disponible en http://mycorrhiza.ag.utk.edu/latest/latest07/07_8audet1.htm
- Babich, H & Stotzky, G. 1983. Temperature, pH, salinity, hardness and particulates mediate nickel toxicity to eubacteria, an actinomycete, and yeasts in lake, simulated estuarine, and seawater. *Aquatic Toxicology* (in press).
- Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals.
- Baruah, N.K., Kotoky, P., Bhattacharyya, K.G & Borah, G.C. 1996. Metal speciation in Jhanji River sediments. *Sci. Total Envir.*, 193(1): 1–12.
- Behrends, L. 2000. Reciprocating subsurface-flow wetlands for municipal and on-site wastewater treatment. In: Means, J.F., Hincbee, R.E. (Eds.), *Wetlands and Remediation*. Batelle Press, Columbus, OH, 179–186.

- Blowes, W., Ptacek, J., Jambor, L & Weisener, J. 2003. The geochemistry of acid mine drainage, *Treat. Geochem.* 9: 149–204.
- Buzzi, C., Viegas, S., Rodrigues, S., Bernardes, M & Tenório, S. 2013. Water recovery from acid mine drainage by electro dialysis, *Min. Eng.* 4: 82–89.
- Calmano, W., Hong, J & Forstner, U. 1993. Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Water Sci. Technol.*, 28 (8-9): 223-235.
- Champagne, P. 2007. Natural process and systems for hazardous waste treatment, 1° Ed., American Society of Civil Engineers (ASCE), Reston , Virginia, 189-256.
- Chang, I., Shin, P & Kim, B. 2000. Biological treatment of acid mine drainage under sulphate-reducing conditions with solid waste materials as substrate. *Water Res.* 34:1269 - 1277.
- Cheong, Y., Das, B., Roy, A & Bhattacharya, J. 2010. Performance of a SAPS-based chemobioreactor treating acid mine drainage using low-DOC spent mushroom compost, and limestone as substrate. *Mine Water Environ.* 29 (3): 217 - 224.
- Clarke, L.B. 1995. Coal mining and water quality, IEA Coal Research, IEACR/80 . Londres.
- Coleman, J., Hench, L., Garbutt, K., Sextone, A., Bissonnette, G & Skousen, J. 2001. Treatment of domestic wastewater by three plant species in constructed wet-lands. *Water Air Soil Pollut.* 128, 283–295.
- Dold, B. 2010. Basic concepts in environmental geochemistry of sulphide mine waste management, in: E.S. Kumar (Ed.), *Waste Management, In Tech*, Rijeka, pp. 173–198.
- Edens, F., Parkhurst, C., Casas, I & Dobogrosz, W. 1997. Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. *Poultry Science Association*: 179 – 196. (en linnea) *Poultry Production and Research Using EM Technologies*.
- Eger, P. 1994. Wetland treatment for trace metal removal from mine drainage: the importance of aerobic and anaerobic processes. *En: Water Sci. Technol*, 29: 249-256.
- EPA. 1998. *Design Manual, Constructed Wetlands and Aquatic Plant Systems for Municipal Wastewater treatment*.

- Ettner, D. 1999. Pilot scale constructed wetland for the removal of nickel from tailings drainage, Southern Norway. IMWA Congress, Mine, Water & Environment. Sevilla, 1, 207-211.
- Evangelou, P. 1998. Pyrite chemistry: the key for abatement of acid mine drainage. In: Geller A, Klapper H, Salomons W, editors. Acidic Mining Lakes: Acid Mine Drainage, Limnology and Reclamation. Berlin 7:197– 222.
- Faulkner, B & Skousen, G. 1995. Effects of land reclamation and passive treatment systems on improving water quality. Green Lands 25(4): 34-40.
- Fitz, J & Wenzel, W. 2002. Arsenic transformations in the soil–rhizosphere–plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. J. Biotechnol. 99, 259–278.
- Förstner, U., Calmaro, W., Hong, J & Kersten, M. 1990. Sediment criteria development. In: Sediments and Environmental Chemistry, D. Heling (Eds.). Springer Berlin, 311 – 338.
- Fowler, A., Holmes, R & Crundwell, K. 2001. On the kinetics and mechanism of the dissolution of pyrite in the presence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, Hydrometallurgy 59, 257–270, doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0304- 386X(00)00172-9.
- Fripp, J., Zienkiewicz, F & Charkavorki, H. 2000. Acid mine drainage treatment, EMRRP Technical Notes Collection, U.S. Army Engineer Research and Development Center, Vicksburg, MS. (ERDC TN-EMRRPSR-14)
- Fu, F & Wang, Q. 2011. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. J. Environ. Manage. 92, 407–418.
- Gaikwad, W., Sapkal, S & Sapkal, S. 2010. Removal of Copper Ions from Acid Mine.
- Gambrell, R.P. 1994. Trace and toxic metals in wetlands – a review. J. Environ. Qual. 23, 883–891.
- Gillham, W & O'Hannesin, F. 1992. Metal-catalysed abiotic degradation of halogenated organic compounds. IAH Conference, Modern Trends in Hydrogeology, Hamilton, Ontario, May 10-13, pp 94-103.
- Guevara, A. 2012. Utilización de humedales construidos en el tratamiento de drenajes ácidos de mina. Tesis Quim. Amb., Colombia, UIS. 162 p.
- Gruber, E. M., Schwarz, B., Germann, R., Breuss, M., Bonatti, J., & Hasibeder, W. 2001.

- Atrazine degradation by bioaugmented sediment from constructed wetlands. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3), 427–432.
<https://doi.org/10.1007/s002530100792>
- Hallberg, K.B, Johnson, D.B. 2005. Biological manganese removal from acid mine drainage in constructed wetlands and prototype bioreactors. *Sci Tot Environ* 338:115-124.
- Hedin, R.S., Nairn, R.W & Kleinmann, R.L.P. 1993. Passive treatment of coal mine drainage, information Circular IC-9389, United States Department of the Interior, Bruce Babbitt, Secretary, Bureau of Mines, Pittsburgh, PA. 35 pp.
- Hedin, R.S & Watzlaf, G.R. 1994b. The effects of anoxic limestone drains on mine water chemistry. International Land Reclamation and Mine Drainage Conference and Third International Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Pittsburgh, April, (1), 185-194.
- Hellier, W.W. 1996. The Bark Camp Run constructed wetlands: findings and recommendations for future design criteria. p. 550-559. In: Proceedings, Thirteenth Meeting of the American Society for Surface Mining and Reclamation, 1996. Knoxville, TN.
- Iakovleva, E., Mäkilä, E., Salonen, J., Sitarz, M., Wang, S & Sillanpää, M. 2015. Acid mine drainage (DAM) treatment: Neutralization and toxic elements removal with unmodified and modified limestone. *Ecol. Eng.* 81, 30–40.
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.046>
- IHE, 2000. Treatment of Acid Mine Drainage in Constructed Wetlands International Network for Acid Prevention (INAP). Global acid rock drainage guide (GARD Guide), Consultado el 10 de Jul. de 2019. Disponible en <http://www.gardguide.com>
- Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF). 2009. Beneficios de los microorganismos eficientes en la agricultura. (en línea) Consultado: Disponible en: <http://www.idiaf.org.do/noticias/detallemain.php?recordID=971>
- Islam, S., Gault, G., Boothman, C., Polya, A., Chatterjee, D & Lloyd, R. 2004. Direct evidence of arsenic release from Bengali sediments due to metal-reducing bacteria. *Nature* 430, 68–71.

- Jacks, G., Bhattacharya, P., Routh, J & Martin, M.T. 2002. Arsenic cycling in a covered mine tailings deposit. In: Schulz, H.D., Hadeler, A. (Eds.), *Geo. Proc. WileyPublication, Northern Sweden*, 303–309.
- Jennings, R., Neuman, R & Blicher, S. 2008. *Acid Mine Drainage and Effects on Fish Health and Ecology: A Review*, Reclamation Research Group Publication, Bozeman, MT.
- Johnson, D. 2003. Chemical and microbiological characteristics of mineral spoils and drainage waters at abandoned coal and metal mines, *Water Air Soil Pollut.: Focus* 3, 47–66, doi:<http://dx.doi.org/10.1023/A:1023977617473>.
- Johnson, D. 2004. *Bioremediation of Mine Waters*, School of Biological Sciences University of Wales, United Kingdom, August.
- Johnson, D & Hallberg, K. 2005. Acid mine drainage remediation options: a review. *Sci. Total Environ.* 338, 3–14. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.09.002>
- Kadlec, H. 2008. *Wallace S. Treatment Wetlands*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Kadlec, H & Knight, R. 1996. *Treatment Wetlands*. CRC Press, Boca Raton. 893 p.
- Kadlec, R & Knight, R. 2000. *Treatment wetlands*, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA. 898 p.
- Kadlec, H & Knight, R. 2005. *Treatment Wetlands*. CRC Press. Florida.
- Kalin, M. 2004. Passive mine water treatment: The correct approach? *Ecol. Eng.* 22, 299–304. doi:[10.1016/j.ecoleng.2004.06.008](http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2004.06.008).
- Karathanasis, A & Johnson, C. 2003. Metal Removal Potential by three aquatic plants in an Acid Mine Drainage Wetlands. *Mine Wat, Environ.* 22: 22-30.
- Kleinmann, P., Hedin, S & Nairn, W. 1998. Treatment of mine drainage by anoxic limestone drains and constructed wetlands. In: Geller A, Klapper H, Salomons W, editors. *Acidic Mining Lakes: Acid Mine Drainage, Limnology and Reclamation*. Berlin Springer. p. 303– 19.
- Kuschik, P., Nguyen, H., Richter, J., Paredes, D & Wiessner. 2012. Modell experiments on the treatment of mine effluents in constructed wetlands – System comparison and influence of hydrogen gas injection. *Conferencia Panamericana en sistemas humedales para el manejo, tratamiento y mejoramiento de la calidad del agua*. UTP, Colombia.

- Lapakko, K. 2002. Metal mine rock and waste characterisation tools: an overview, International Institute for Environment and Development, Minnesota Department of Natural Resources, USA, Available at <http://pubs.iied.org/pdfs/G00559.pdf> (accessed: 07.14).
- Lara, J. 1999. Depuración de aguas residuales urbanas mediante humedales artificiales. Tesis de Maestría, Universidad Politécnica de Cataluña. Departamento de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental. Tesina, Barcelona.
- López, E., Aduvire, O & Baretino, D. 2002. Tratamientos pasivos de drenajes ácidos de mina: estado actual y perspectivas de futuro. *Boletín Geológico y Minero*, 113 (1): 3-21 ISSN: 0366-0176, España.
- Lukacs, H & Ortolano, L. 2015. West Virginia has not directed sufficient resources to treat acid mine drainage effectively. *Extr. Ind. Soc.* 2, 194–197. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.exis.2014.12.002>
- Luther, W. 1987. Pyrite oxidation and reduction: molecular orbital theory considerations, *Geochim. Cosmochim. Acta* 51, 3193–3199, doi:[http:// dx.doi.org/10.1016/0016-7037\(87\)90127-X](http://dx.doi.org/10.1016/0016-7037(87)90127-X).
- Madigal, M., Martinko, J & Parker, J. 2000. Brock biología de los microorganismos. 8° Edición. Pentice Hall, Madrid.
- Marchand, L., Mench, M., Jacob, D & Otte, M. 2010. Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: a review. *Environ. Pollut.* 158, 3447e3461.
- Mariner, R., Johnson, D.B & Hallberg, K.B. 2008. Characterization of an attenuation system for the remediation of Mn(II) contaminated waters. *Hydrometallurgy* 94, 100 -104.
- Merlin, G & Cottin, N. 2012. Lab-scale performance evaluation of vertical flow reed beds for the treatment of chlorobenzene contaminated groundwater. *J. Environ. Prot.* 3, 847 - 855.
- Nairn, R.W., Hedin, R.S & Watzlaf, G.R. 1991. A preliminary review of the use of anoxic limestone drains in the passive treatment of acid mine drainage. In: *Proceedings, Twelfth West Virginia Surface Mine Drainage Task Force Symposium*, April 3-4, 1991, Morgantown, WV.

- Neculita, C., Zagury, G & Bussi re, B. 2007. Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate – reducing bacteria: Critical Review and research needs. *J. Environ. Qual.* 36:1-16
- Neculita, C.M., Zagury, G.J & Bussi re, B. 2008. Effectiveness of sulfate-reducing passive bioreactors for treating highly contaminated acid mine drainage: I. Effect of hydraulic retention time. *Appl. Geochem.* 23, 3442-3451.
- Olds, W., Tsang, W., Weber, A & Weisener, G. 2013. Nickel and Zinc Removal from Acid Mine Drainage: Roles of Sludge Surface Area and Neutralising Agents. *J. Min.* 2013, 5. doi:10.1155/2013/698031.
- Olivares, E & Peña, E. 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. Consultado el 10 de Jul. DEL 2019. Disponible en <http://www.scielo.org.ve/pdf/inci/v34n9/art04.pdf>
- Ordoñez, A. 1999. Sistemas de tratamiento pasivo para Aguas Asidas de Mina. Experiencias de laboratorio, Diseño y Ejecución. Tesis Dr. UO, España.
- Ordoñez, G. 2005. Evaluación de un biorreactor de compost para el tratamiento de agua contaminada con drenaje ácido de mina. Tesis Sc. Mg. UNALM, Lima, Perú.
- Ord ez, A., Lored, J & Pend s, F. 1999. A successive alkalinity producing system (RAPS) as operational unit in a hybrid passive treatment system for acid mine drainage. IMWA Congress, Mine, Water & Environment, Sevilla, 2, 575-581.
- Orozco, C., Pérez, A., Gonzales, M., Rodríguez, F & Alfayate, J. 2003. Contaminaci n ambiental una visi n desde la química, 1  Edición. Editorial Thomson. Madrid. P: 55-57.
- Park, J., Ko, J & Yun, L. 2008. Enhancement of bioremediation by *Ralstonia* sp. HM-1 in sediment polluted by Cd and Zn. *Bioresour. Technol.* 99, 7458 - 7463.
- Pearson, H & McDonnell, J. 1975. Use of crushed limestone to neutralize acid wastes. Proc. Paper 11131. *J. Environ. Eng. Div. Am. Soc. Civil Eng.* 101:139-158.
- Ramallo, R. 2003. Introduction to Wastewater Treatment Processes, Second Edition. Barcelona: Editorial Reverte, S.A.

- APNAN (Agricultura Natural para la Región Asia/Pacífico). 1995. Similar pages Sustainable Community Development/Effective Microorganisms (EM). Consultado el 10 de Jun. de 2019. Disponible en [http:// www.agriton.nl/apnanman.html](http://www.agriton.nl/apnanman.html) - 69k - Cached.
- APNAN (Agricultura Natural para la Región Asia/Pacífico). 2004. Consultado el 10 de Jul. De 2019. Disponible en <http://em.iespana.es/manuales/apnan/apnan.html>.
- Ricci, C., Ferreira, D., Aguiar, O & Amaral, S. 2015. Integration of nanofiltration and reverse osmosis for metal separation and sulfuric acid recovery from gold mining effluent. *Sep. Purif. Technol.* 154, 11–21. doi:10.1016/j.seppur.2015.08.040
- Robinson, L & Brennan, R.A. 2011. Anaerobic precipitation of manganese and coexisting metals in mine impacted water treated with crab shell-associated minerals. *Appl. Geochem* 26, 853 -862.
- Rodríguez, S. 2009. ¿Microorganismos Eficientes (EM)? Consultado el 10 de Jul. De 2019. Disponible en: http://aia.uniandes.edu.co/Documentos/ARTICULO%20EM%20_Manuel%20R.
- Rovira, J.V. 1993. Estudio de la contaminación por metales pesados del Río Jarama. Tesis Doctoral. Madrid, España 360 p.
- Ruihua, L., Lin, Z., Tao, T & Bo, L. 2011. Phosphorus removal performance of acid mine drainage from wastewater, *J. Hazard. Mater.* 190, 669–676, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.03.097>. 21514994.
- Sánchez, J. 2007. Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agroecosistemas. *Revista de UNC, Bogotá*, 159 -168.
- Sangwoo, J., Sunjoon, K & Juin, K. 2008. The status of the passive treatment systems for acid mine drainage in South Korea. *Environ Geol.* 55: 1181-1194.
- Seoanez, M. 1995. Aguas residuales urbanas, tratamientos naturales de bajo costo y aprovechamiento. Madrid: Mundi – Prensa.
- Silva, J. 2005. Humedales Construidos Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente.
- Simate, S. 2008. Bacterial Leaching of Nickel Laterites Using Chemolithotrophic Microorganism, MSc (Eng) Dissertation, University of the Witwatersrand, Johannesburg.

- Simon, A., Bonner, S., Page, A., Townsend, T., Mueller, C., Fuller, B & Autenrieth, L. 2004. Evaluation of two commercial bioaugmentation products for enhanced removal of petroleum from a wetland. *Ecol. Eng.* 22, 263- 277.
- Singer, C & Stumm, W. 1970. Acidic mine drainage: the rate-determining step, *Science* 167, 1121–1123, doi: <http://dx.doi.org/10.1126/science.167.3921.1121>. 17829406.
- Skousen, J., Rose, A., Geidel, G., Foreman, J., Evans, R & Hellier, W. 1998. *Handbook of Technologies for Avoidance and Remediation of Acid Mine Drainage*, the National Mine Land Reclamation Centre, West Virginia University, West Virginia.
- Skousen, J., Sexstone, A., Garbutt, K & Sencindiver, J. 1994. Acid mine drainage treatment with wetlands and anoxic limestone drains. En: Kent, D.M. (ed). *Applied wetlands science and technology*. Lewis Publishers, Boca Raton, 263-281.
- Song, J & Choi, Y. 2015. Design of photovoltaic systems to power aerators for natural purification of acid mine drainage. *Renew. Energy* 83, 759–766. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2015.05.014>.
- Song, H., Yim, G.J., Ji, S.W., Nam, I.H., Neculita, C.M & Lee, G. 2012. Performance of mixed organic substrates during treatment of acidic and moderate mine drainage in column bioreactors. *J. Environ. Eng.* 138, 1077- 1084.
- Stottmeister, U., WieBner, A., Kuschk, P., Kappelmeyer, U., Kastner, M., Bederski, O., Muler, R & Moormann, H. 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnology Advances.* 22: 93-117.
- Tolonen, T., Sarpola, A., Hu, T., Rämö, J & Lassi, U. 2014. Acid mine drainage treatment using by-products from quicklime manufacturing as neutralization chemicals. *Chemosphere* 117, 419–424. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.090>.
- U.S. EPA. 2000. *Coal remining best management practices guidance manual*. Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division. Washington DC. EPA 821-R-00-007.
- Vohla, C., Koiv, M., Bavor, H.J., Chazarenc, F & Mander, Ü. 2011. Filter materials for phosphorus removal from wastewater in treatment wetlands: a review. *Ecol.Eng.* 37, 70–89.

- Vymazal, J. 2011a. Constructed wetlands for wastewater treatment: five decades of experience. *Environ. Sci. Technol.* 45 (1): 61–69.
- Vymazal, J. 2011b. Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow: a review. *Hydrobiologia* 674, 133–156.
- Vymazal, J. 2013. The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: a review of a recent development. *Water Res.* 47, 4795–4811.
- Watzlaf, G & Hyman, D. 1995. Limitations of passive systems for the treatment of mine drainage. 17th Annual National Association of Abandoned Mine Lands Conference, Indiana, 186-199.
- Watzlaf, G. 1997. Passive treatment acid mine drainage in down- flow limestone systems. U.S. Department of Energy Technology Center, Pittsburgh, 233-244.
- Wiessner, A., Kappelmeyer, U., Kusch, P & Kästner, M. 2005. Influence of the redoxcondition dynamics on the removal efficiency of a laboratory-scale constructed wetland. *Water Res.* 39 (1), 248–256.
- Wildeman, T. 1993. Removal Processes in Constructed Wetlands. *Wetland Design for Mining Operations*. Published by Bitech Publishers Ltd. Canada.
- Willow, M.A & Cohen, R.R.H. 2003. pH, dissolved oxygen, and adsorption effects on metal removal in anaerobic bioreactors. *J. Environ. Qual.* 32:1212–1221.
- Wright, D.J & Otte, M.L. 1999. Wetland plant effects on the biogeochemistry of metals beyond the rhizosphere. *Biol. Environ. Proc. R. Ir. Acad.* 99B, 3–10.
- Yadav, H.L & Jamal, A. 2015. Removal of Heavy Metals from Acid Mine Drainage : A Review. *Int. J. New Technol. Sci. Eng.* 2, 77–84.
- Yang, J.X., Ma, Z.L., Ye, Z.H; Guo, X.Y & Qiu, R.L. 2010. Heavy metal (Pb, Zn) uptake and chemical changes in rhizosphere soils of four wetland plants with different radial oxygen loss. *J. Environ. Sci. (China)* 22, 696–702.
- Ye, Z., Whiting, S., Lin, Z., Lytle, C., Qian, J & Terry, N. 2001. Removal and distribution of iron, manganese, cobalt and nickel within a Pennsylvania constructed wetland treating coal combustion by-product leachate. *J. Environ. Qual.* 30: 1464-1473.

- Yoo, K., Sasaki, K., Hiroyoshi, N & Tsunekawa, M. 2004. Fundamental study on the removal of Mn^{2+} in acid mine drainage using sulfate reducing bacteria. *Mater. Trans.* 45, 2422 - 2428.
- Younger, L. 1998. Design, construction and initial operation of full-scale compost-based passive systems for treatment of coal mine drainage and spoil leachate in the UK. IMWA Symposium, Johannesburg, 413-424.
- Younger, L., Banwart, A., Hedin, S & Water, M. 2002. *Hydrology, Pollution, Remediation*, Kluwer Academic, The Netherlands.
- Zagury, G.J., Kulnieks, V & Neculita, C.M. 2006. Characterization and reactivity assessment of organic substrates for sulfatereducing bacteria in acid mine drainage treatment. *Chemosphere* 64: 944–954.
- Zaluski, M.H., Trudnowski, J.M., Harrington, M.A & Bless, D.R. 2003. Post-mortem findings on the performance of engineered SRB field-bioreactors for acid mine drainage control. Proc, 6th International Conference on Acid Rock Drainage. Cairns, QLD, 845-853.
- Zdun, T. 2001. *Modelling the Hydrodynamics of Collie Mining Void 5B*, MSc Dissertation, University of Western Australia, Australia.
- Zhang, M. 2011. Adsorption study of Pb(II), Cu(II) and Zn(II) from simulated acid mine drainage using dairy manure compost. *Chem. Eng. J.* 172, 361–368. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2011.06.017>
- Zhang, M & Wang, H. 2014. Organic wastes as carbon sources to promote sulfate reducing bacterial activity for biological remediation of acid mine drainage. *Miner. Eng.* 69, 81-90.
- Zhang, Y., Zhang, L., Liu, D., Shen, W., Liu, H & Xiong, Y. 2010. Effect of limited artificial aeration on constructed wetland treatment of domestic wastewater. *Desalination* 250, 915–920.
- Ziemkiewicz, F., Skousen, G & Simmons, J. 2003. Long-term performance of passive acid mine drainage treatment systems. *Mine Water Environ.* 22:118–129.

VIII. ANEXOS

Anexo 8.1: Resultados obtenidos de la evaluación de pH, Eh, Fe y Mn durante todo el experimento.

pH

Sustratos	Parámetro	Distancia (m)														
		0(IE)			1.38			2.76			4.14			5.52(SE)		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
R+C	pH.	2.02	2.03	2.04	6.25	6.32	6.30	6.99	6.77	6.91	7.01	6.49	7.00	8.29	7.59	7.73
R+C+EM		2.02	2.03	2.04	6.02	6.10	6.57	6.94	6.82	7.06	6.35	6.00	6.65	7.62	7.19	7.80
R+C+EM+T		2.06	1.93	2.10	5.84	6.61	6.53	6.70	7.00	7.00	6.95	6.08	6.48	7.76	7.44	7.99

Eh (mV)

Sustratos	Parámetro	Distancia (m)														
		0(IE)			1.38			2.76			4.14			5.52(SE)		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
R+C	Eh (mV)	404.18	401.80	409.20	122.78	169.30	100.90	118.26	161.07	149.97	119.60	150.33	147.90	32.5 4	118.90	142.10
R+C+EM		404.18	401.80	409.20	49.57	46.93	171.73	121.05	108.20	137.67	116.07	89.00	155.17	78.0 0	77.20	145.50
R+C+EM+T		404.54	399.32	408.15	55.13	56.80	58.05	100.35	100.89	103.12	120.10	107.80	110.19	75.7 4	55.39	56.61

Fe (mg.L⁻¹)

Sustratos	Parámetro	Distancia (m)														
		0(IE)			1.38			2.76			4.14			5.52(SE)		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
R+C	Fe (mg.L ⁻¹)	110.51	105.50	100.50	0.92	1.07	9.31	0.38	0.57	0.56	0.79	0.88	0.82	0.44	0.23	0.36
R+C+EM		110.51	105.50	100.50	4.20	3.12	32.95	0.73	1.96	1.26	4.08	7.45	6.11	1.10	0.45	0.57
R+C+EM+T		101.72	100.21	101.09	12.27	20.47	19.81	1.73	2.26	2.33	4.58	3.83	8.70	0.99	0.20	0.10

Mn (mg.L⁻¹)

Sustratos	Parámetro	Distancia (m)														
		0(IE)			1.38			2.76			4.14			5.52(SE)		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
R+C Mn	Mn (mg.L ⁻¹)	49.26	50.65	49.38	1.20	6.22	11.70	0.86	0.02	3.60	0.54	0.01	2.18	0.10	0.21	0.04
R+C+EM		49.26	50.65	49.38	5.26	8.71	10.00	0.35	0.33	2.47	6.21	15.22	4.13	1.97	0.13	0.02
R+C+EM+T		53.22	50.18	50.33	15.89	28.52	19.51	2.32	11.25	11.38	9.70	23.74	13.88	0.12	0.54	0.13

Anexo 8.2: Informe de análisis especial en foliar 1.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : EVER NÚÑEZ BUSTAMANTE
PROCEDENCIA : CUSCO
MUESTRA : TOTORA
REFERENCIA : H.R. 51975
BOLETA : 12611
FECHA : 13/11/2015

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	Mn ppm	Fe ppm
4562		583	1082



Anexo 8.3: Informe de análisis especial en foliar 2.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : EVER NUÑEZ BUSTAMANTE
PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
MUESTRA : TOTORA
REFERENCIA : H.R. 50574
BOLETA : 12231
FECHA : 31/07/15

Nº LAB.	CLAVES	Mn ppm	Fe ppm
3761	Muestra 01 (E)	1218	2802
3762	Muestra 02 (M)	675	1124
3763	Muestra 03 (S)	909	1664



Anexo 8.4: Informe de análisis especial en enmiendas.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



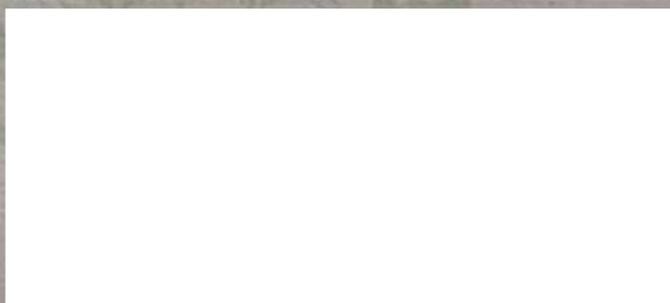
INFORME DE ANALISIS - ESPECIAL EN ENMIENDA

SOLICITANTE : EVER NUÑEZ BUSTAMANTE
PROCEDENCIA : LIMA
MUESTRA DE : CAL VIVA
REFERENCIA : H.R. 51650
BOLETA : 12517
FECHA : 13/10/2015

Nº LAB	CLAVES	Ca %	CaO %
309		45.00	63.00

Metodologías Empleadas:

- Calcio Total: Espectrofotometría de Absorción Atómica.





Anexo 8.5: Fotografías, (a) roca caliza y (b) plantas de totora.



Anexo 8.6: Fotografías, (a) verificación del crecimiento de totora y (b) obtención de plantas para su análisis.