



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA CIVIL**

**REMOCIÓN DE SULFATO Y METALES PESADOS EN MEDIOS FILTRANTES DE
PIEDRA CALIZA CON BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL MENCIÓN
HIDRÁULICA / SANITARIA / AMBIENTAL**

NORBERTO ANDRÉS WERNER SÁNCHEZ

**PROFESOR GUÍA:
KATHERINE LIZAMA ALLENDE**

**MIEMBROS DE LA COMISIÓN:
EDUARDO LEIVA LLANTÉN
GONZALO MONTES ATENAS**

**SANTIAGO DE CHILE
AÑO 2016**

RESUMEN DE LA MEMORIA PARA OPTAR
AL TÍTULO DE: Ingeniero Civil mención
Hidráulica / Sanitaria / Ambiental
POR: Norberto Andrés Werner Sánchez
FECHA: 30 de marzo de 2016
PROFESOR GUÍA: Katherine Lizama Allende

REMOCIÓN DE SULFATO Y METALES PESADOS EN MEDIOS FILTRANTES DE PIEDRA CALIZA CON BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

El presente estudio busca cuantificar la eficiencia de remoción de sulfato y metales pesados de agua sintética similar a un drenaje ácido de mina, a través de una instalación experimental con columnas compuestas de piedra caliza como medio filtrante. De dichas columnas, la mitad se encuentra inoculadas con bacterias sulfato reductoras que utilizan corteza de pino como fuente de carbono.

La experiencia presentó una remoción de 50% en la concentración de sulfato, mientras que para metales pesados tales como el hierro, arsénico, aluminio, plomo y zinc se obtuvieron eficiencias en la remoción cercanas al 100%. Las bacterias sulfato reductoras no tuvieron una buena adecuación al sistema de columnas, teniendo actividad sólo en los períodos cercanos a la inoculación.

Se proponen lineamientos para próximas investigaciones y se recomiendan soluciones que favorezcan experiencias futuras relacionadas con el uso de bacterias sulfato reductoras en filtros.

Agradecimientos

A mi profesora guía, Katherine Lizama, por creer en el Proyecto que llevamos a cabo, aportando con conocimientos y guías, ayudando cuando uno llegaba con problemas ya sea de carácter académico o administrativo. Agradezco también a mi profesor co-guía, Eduardo Leiva, por el apoyo e instrucción respecto a las materias que requerí de su ayuda.

Agradecer también a Viviana por el tremendo apoyo entregado en el laboratorio, tenemos la suerte de contar con una guía tan comprometida con nuestros objetivos que, sin duda es parte fundamental de los logros alcanzados. Gracias por los consejos y el apoyo irrestricto a nuestro trabajo. También agradecer a Manuel y Juan del taller por la disposición y el apoyo entregado en la confección del Proyecto. Y a todos los profesores y compañeros que, de una u otra forma, contribuyeron en este proceso.

Quisiera dar las gracias ante todo a mis padres, que me han apoyado en todas las circunstancias, favorables y adversas, a lo largo de todos estos años. Sin ellos no hubiera llegado a estas instancias y no sería la persona íntegra que creo ser hoy día. Agradecer a Pilar y Álvaro por el acogerme en su casa e instarme a seguir con mis objetivos, su apoyo fue incorporado en los cimientos de mi formación. También debo nombrar a mis tías Ingris, Ella y Laura por todo lo entregado en estos años.

Agradecer a mi compañera de vida Anita, por todo el apoyo entregado desde que volví a estudiar, esperando poder retribuir lo entregado para que tengamos un futuro mejor. Es difícil sintetizar todos los aspectos en los que has sido relevante para convertirme en la persona que soy hoy, de a poco espero poder integrar algunas de las muchas cualidades que tienes y que me ayudarían a ser un aporte a la sociedad.

A mi amigos, Nico y Max por el mutuo apoyo en las cuestiones hidráulicas y otras más. A Kaywalele F.C. por lo compartido y disfrutado mientras estuvimos juntos en la U, que sigue ahora, y ojalá siga por mucho tiempo más. A los sureños, Francisco por el apoyo constante y al C.O.D.B. por haber estado ahí, y que, a pesar de la distancia, se siente que están cerca.

Tabla de Contenidos

1. Introducción.....	1
1.1. Motivación.....	1
1.2. Objetivos.....	2
1.2.1. Objetivo General.....	2
1.2.2. Objetivos Específicos	2
1.3. Estructura del Documento.....	2
2. Revisión Bibliográfica	3
2.1. Drenaje Ácido de Mina (DAM).....	3
2.1.1. Metales Pesados	3
2.1.2. Sulfuro y sulfato.....	4
2.1.3. Caso Estudio: Río Azufre	5
2.2. Sistemas de Tratamiento de agua.....	5
2.2.1. Medios filtrantes	6
2.2.2. Medios de soporte de humedales construidos	6
2.2.3. Tratamientos Biológicos	7
3. Materiales y Métodos.....	8
3.1. Medios Filtrantes.....	8
3.1.1. Piedra Caliza	8
3.1.2. Corteza de Pino.....	10
3.2. Agua Sintética.....	11
3.3. Montaje Experimental	14
3.3.1. Columnas	14
3.3.2. Reactores Batch	17
3.3.3. Instrumentos y Equipos	18
3.4. Muestreo.....	19
3.3.1. Columnas	19
3.3.2. Reactores Batch	20
4. Resultados y Discusión	21
4.1. Columnas.....	21
4.2. Reactores Batch	30

5. Conclusiones y Perspectivas	36
5.1. Conclusiones	36
5.2 . Trabajo Futuro y Recomendaciones.....	37
6. Bibliografía	39

Anexo A: Registro pH en columnas

Anexo B: Registro Sulfato en columnas

Anexo C: Registro Batch Piedra Caliza

Anexo D: Registro Batch Corteza de Pino

Índice de Figuras

Figura 2.1 Ruta Transformación del arsénico.....	4
Figura 2.2 Imagen satelital Río Azufre	5
Figura 3.1 Curvas granulométricas muestras de Caliza	9
Figura 3.2 Difractograma Piedra Caliza.....	10
Figura 3.3 Distribución Columna	15
Figura 3.4 Montaje Experimental Columnas.....	15
Figura 3.5 Montaje Experimental Reactores Batch	18
Figura 4.1 Variación de pH en columnas sin bacterias.....	21
Figura 4.2 Variación de pH en columnas con bacterias.....	21
Figura 4.3 Concentración de sulfato removido en columnas sin bacterias	22
Figura 4.4 Concentración de sulfato removido en columnas con bacterias	23
Figura 4.5 Promedio de remoción de Sulfato	23
Figura 4.6 Oxígeno disuelto en columnas sin bacterias	24
Figura 4.7 Oxígeno disuelto en columnas con bacterias	24
Figura 4.8 Iones removidos muestreo 2	26
Figura 4.9 Iones removidos muestreo 11	27
Figura 4.10 Columna con precipitados de Óxidos de Hierro y Yeso	29
Figura 4.11 Aumento de pH en reactores batch con piedra caliza	31
Figura 4.12 Disminución Conductividad Eléctrica en reactores batch con Piedra Caliza	31
Figura 4.13 Remoción de sulfato en reactores batch con piedra caliza	32
Figura 4.14 Disminución de pH en reactores Batch con Pino.....	33
Figura 4.15 Variación de Conductividad Eléctrica en reactores Batch con Pino	33
Figura 4.16 Variación de Sulfato en reactores Batch con Pino.....	34
Figura 4.17 Variación de DQO en reactores Batch con Pino.....	34

Índice de Tablas

Tabla 3.1 Composición de la piedra caliza	8
Tabla 3.2 Caracterización química de la piedra caliza.....	9
Tabla 3.3 Parámetros Geotécnicos Piedra Caliza	9
Tabla 3.4 Caracterización corteza de Pino con Qemscan	10
Tabla 3.5 Fórmula modelo PhreeqC	11
Tabla 3.6 Fórmula Agua Sintética	12
Tabla 3.7 Fórmula Agua Sintética	12
Tabla 3.8 Parámetros promedio In Situ Agua Sintética	13
Tabla 3.9 Fórmula Medio de Cultivo BSR	16
Tabla 4.1 Iones removido muestreo 2	25
Tabla 4.2 Iones liberados muestreo 2	26
Tabla 4.3 Iones removido muestreo 11	26
Tabla 4.4 Iones liberados muestreo 11	27
Tabla 4.5 Evaluación de precipitación de SO ₄ como yeso.....	28
Tabla 4.6 Remoción y Norma de Riego NCh 1333-1978.....	30

1. Introducción

1.1. Motivación

La presencia de altas concentraciones de metales pesados y sulfato en las aguas superficiales y subterráneas limitan su uso para diversos fines tales como riego y agua potable, principalmente porque la presencia de metales pesados y sulfato afectan la salud de forma directa al beber agua, o de manera indirecta al regar cultivos con agua con estos contaminantes. Estos elementos están presentes en las aguas debido a condiciones naturales de un sector y a la actividad antropogénica tal como actividades mineras y agricultura.

En este estudio se abordará la remoción de metales pesados y sulfato mediante un sistema de filtros que reducirán las concentraciones de los elementos estudiados. Se preparará un agua que tiene características de drenaje ácido de mina (DAM), pero corresponde a un caso extremo, con alta acidez, tal como ocurre en el río Azufre, cuenca del río Lluta, en la XV Región de Arica y Parinacota. El río Azufre tiene un potencial uso en una de las zonas más áridas del país y no es aprovechado debido a la alta concentración de contaminantes que contiene, tales como arsénico, hierro, boro, sulfato, entre otros. Estos contaminantes son producto de la condición geológica natural del sector y de actividad minera que explotaba azufre y que se presume, fue cerrada de manera no adecuada, generando drenajes ácidos mineros al río Azufre (Leiva, 2013). Se estima que un sistema natural de tratamiento de aguas puede ser adecuado para paliar los potenciales efectos que tenga el agua contaminada sobre la población que la utilice.

Los sistemas naturales, específicamente los humedales construidos, han mostrado ser una tecnología eficiente en la remoción de arsénico y hierro (Lizama, Fletcher, & Sun, 2012), utilizando como sustrato zeolita y piedra caliza. Los humedales construidos son sistemas de remoción naturales que cuentan con medios de soporte (sustratos que soportan las plantas y pueden o no filtrar contaminantes). Además, cuentan con plantas que interactúan con el agua en tratamiento estando en contacto a través de un flujo superficial o subsuperficial.

Este estudio evaluará un sistema convencional de tratamiento de aguas (filtros) con los parámetros de diseño de un humedal construido utilizando como medio de soporte piedra caliza. Además, este estudio investigará el rol de bacterias sulfato reductoras (BSR) que potencialmente pueden reducir la concentración de los contaminantes estudiados. Se ha estudiado la remoción de contaminantes como el arsénico producto de la oxidación de metales a raíz de la actividad biológica (Leiva, y otros, 2013). Las bacterias sulfato reductoras reducen sulfato y promueven la precipitación de sulfuros de metales y el consumo de la acidez del medio.

Producto de lo expuesto anteriormente se busca aprovechar los conocimientos sobre medios filtrantes y bacterias sulfato reductoras que potencien la remoción de contaminantes. Utilizando la piedra caliza como un medio filtrante que ajusta el pH

ácido hacia uno neutro disminuyendo la concentración de metales pesados, además, utilizando la corteza de pino como fuente de carbono para las bacterias sulfato reductoras. Todo esto, bajo el contexto de su potencial aplicación en el río Azufre u otros cauces con características de drenajes mineros ácidos.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Cuantificar la remoción de sulfato y elementos tales como el arsénico (As), hierro (Fe), plomo (Pb), aluminio (Al), potasio (K), manganeso (Mn) y zinc (Zn) de un agua sintética de carácter ácido; a través de columnas de filtración con piedra caliza como medio filtrante principal y corteza de pino como fuente de carbono para las bacterias sulfato reductoras. Se compararán los resultados entre columnas inoculadas con BSR y las columnas no inoculadas.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Operar un sistema de filtros a escala de laboratorio que tenga un funcionamiento continuo y permita la supervivencia de las bacterias sulfato reductoras.
- Analizar comparativamente entre las distintas columnas parámetros relevantes tales como pH, conductividad eléctrica, temperatura, concentración de sulfato y oxígeno disuelto.
- Evaluar el comportamiento de los medios soportantes (caliza y corteza de Pino), así como la influencia de las bacterias sulfato reductoras en la remoción de los elementos estudiados.

1.3. Estructura del Documento

La memoria se organiza en cinco capítulos, siendo el primero el presente capítulo introductorio. El segundo capítulo presenta una revisión bibliográfica de los drenajes ácidos de mina, su composición, origen y el tratamiento para la remoción de sulfato y metales pesados. Además, se revisan estudios y avances que se han logrado en los sistemas de tratamiento tales como los filtros, humedales construidos y tratamientos biológicos.

El tercer capítulo detalla los materiales utilizados, el montaje experimental y los procedimientos realizados para obtener los resultados que se muestran en el capítulo cuatro. Finalmente, en el último capítulo se generan las conclusiones y discusiones asociadas a los resultados obtenidos del estudio.

2. Revisión Bibliográfica

2.1. Drenaje Ácido de Mina (DAM)

El drenaje ácido de mina son escurrimientos de soluciones ácidas sulfatadas, con un contenido significativo de metales disueltos, resultado de la oxidación química y biológica de minerales sulfurados y la lixiviación de metales pesados asociados. Sus fuentes pueden ser paredes de rajos, botaderos de estériles, de sulfuros de baja ley y de ripios, además de relaves (Dueñas, 2010).

Las principales características del drenaje ácido de mina son pH bajo (entre 1,5 y 5), alta concentración de metales pesados disueltos (tales como As, Fe, Zn, Pb, Cd, Cu, Al) y su alta conductividad producida por la oxidación, mediante la exposición al oxígeno, al agua y a la acción de algunas bacterias, de minerales ricos en sulfuros liberando sulfatos al drenaje (Blowes, Ptacek, Jambor, & CG, 2003) (Sheoran, 2006).

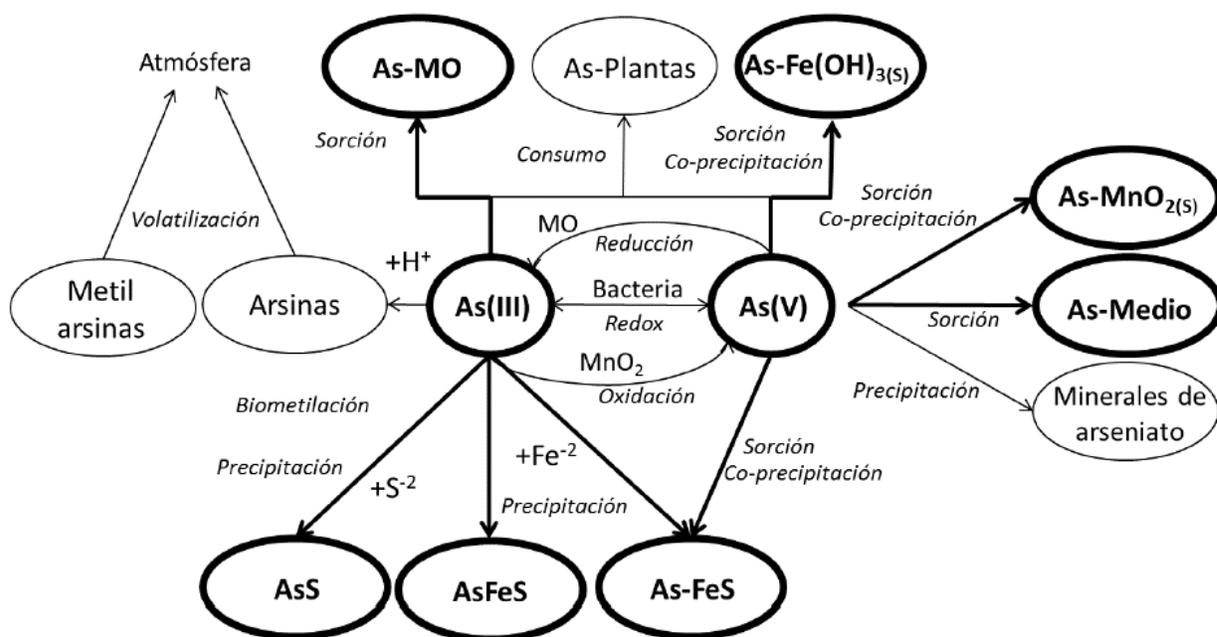
2.1.1. Metales Pesados

El arsénico (As) es un metaloide altamente reactivo que puede encontrarse en la naturaleza en compuesto orgánicos, inorgánicos o como gas arsina, dependiendo del estado de oxidación y pH (Lizama, Fletcher, & Sun, 2011b). En general la forma inorgánica es más toxica que la orgánica, pero la toxicidad de estos compuestos puede variar considerablemente dependiendo de su valencia, solubilidad, estado físico, pureza y de sus tasas de absorción y eliminación (ATSDR, 2007).

Ha existido una amplia investigación respecto a la remoción de As del agua debido a la peligrosidad para la salud humana de ingerir altas concentraciones de este metal a través del agua. Por ejemplo, se ha encontrado que la capacidad de remover As con zeolita disminuye con pH superior a 8 (Siljeg, Foglar, & Gudelj, 2012), además Chutia y otros (2009) determinaron que el porcentaje de remoción aumenta con el tiempo de contacto entre el agua contaminada y el suelo. Otro factor influyente es la temperatura. Se ha postulado que se requieren altas temperaturas (28°C-32°C) para remover As por medio de precipitación de sulfuros, debido a que la tasa de reducción de sulfatos disminuye con la temperatura (Lizama, Fletcher, & Sun, 2011b),

El hierro (Fe) es un contaminante si se encuentra en concentraciones elevadas, y requiere ser removido ya que afecta a la calidad del agua debido a que se forman depósitos, turbiedad, coloración, mal sabor y olor (WHO, 1996) (Postawa, 2013). Este elemento es determinante en la especiación del As mediante la precipitación y la adsorción tal como se aprecia en la Figura 2.1

Figura 2.1 Ruta Transformación del arsénico



Fuente: Adaptado de *Removal processes for arsenic in constructed wetlands* (Lizama, Fletcher, & Sun, 2011b)

Los procesos más relevantes se pueden apreciar en negrilla. Las especies principales son el arsenito **As(III)** y arseniato **As(V)**. Para el presente estudio se considera sólo la parte derecha e inferior del gráfico, ya que el agua sintética tratada no tiene contacto con plantas y tampoco se volatilizan al estar en un flujo controlado subsuperficial. En la Figura 2.1 se observa como los compuestos pueden ser sorbidos/coprecipitados en presencia de calcio, magnesio, aluminio y hierro (Lizama, Fletcher, & Sun, 2011b).

2.1.2. Sulfuro y sulfato

La reducción de sulfato mediante procesos biológicos ha sido extensamente estudiada como un mecanismo de remediación de drenajes ácidos de mina (Gibert, de Pablo, Cortina, & Ayora, 2002). Los sulfuros están presentes en muchos minerales como la Pirita, Calcopirita, Galena, Arsenopirita, entre otros (Blowes, Ptacek, Jambor, & CG, 2003). Estos minerales ricos en sulfuros promueven la liberación de metales pesados producto de la oxidación de estos minerales (He, Wang, & Tang, 1997) (Sheoran, 2006). La oxidación de sulfuros en condiciones naturales está dominada por reacciones microbianas y, por tanto, están sujetos a los parámetros que controlan las comunidades microbianas tales como la temperatura, potencial redox y la disponibilidad de oxígeno (Germida & Janzen, 1993).

2.1.3. Caso Estudio: Río Azufre

El altiplano de la cordillera de Los Andes se encuentra a más de 4000 msnm y se caracteriza por las pocas lluvias que afectan al sector (310 mm/año), por tanto el recurso hídrico es muy importante en la zona y es de vital importancia contar con él para que pueda ser aprovechado principalmente en riego. El río Azufre nace en los faldeos del volcán Tacora y desemboca en el río Lluta tal como se aprecia en la Figura 2.2, se encuentra en la XV Región de Arica y Parinacota, Chile. El río presenta altas concentraciones de As, B, Fe y sulfato, del orden de 3, 30, 100 y 3000 mg/l respectivamente (Leiva, y otros, 2013). Estas concentraciones de contaminantes se pueden explicar por las condiciones geológicas del terreno, una explotación minera de azufre que existió en el pasado en la zona y probablemente dejó muchos minerales expuestos a las condiciones atmosféricas. Además, las condiciones climáticas extremas como la que se tiene en la alta cordillera condicionan la composición química del agua (Leiva, y otros, 2013).

Figura 2.2 Imagen satelital Río Azufre



Fuente: Google Earth

2.2. Sistemas de Tratamiento de agua

Los tratamientos convencionales para la remoción de metales pesados más frecuentes utilizan procesos como la coagulación, floculación, precipitación, filtros con membranas, adsorción e intercambio iónico, entre otros. La adsorción y el intercambio iónico son los procesos más efectivos (Siljeg, Foglar, & Gudelj, 2012).

Uno de los principales mecanismos que actúan naturalmente en la remoción de As, es la adsorción de éste junto a hidróxidos de hierro. El arsenito As(III) es más tóxico que el arseniato As(V) y es mucho más difícil de remover de aguas contaminadas porque está

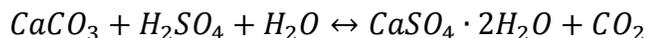
en su forma más estable, a diferencia del arseniato que suele estar cargado negativamente (Lizama, Fletcher, & Sun, 2011b). Ya que el As(V) se adhiere más fuertemente que el As(III), la eficiencia de remoción queda determinada por las condiciones climáticas, geoquímicas y por la disponibilidad de microorganismos oxidantes que establecen la especiación del metaloide (Leiva, y otros, 2013).

2.2.1. Medios filtrantes

Se ha estudiado la remoción de contaminantes en filtros con arcillas (Eguía, 1998), gravas y posteriormente se han ido sumando distintos tipos de medios filtrantes a los estudios tales como cáscara de coco, grava, aserrín, arena, carbón vegetal, carbón activado, entre otros. Los cuales alcanzaron variados niveles de eficiencia removiendo sulfuros, arsenito, entre otros contaminantes dependiendo del medio estudiado (Elizondo & Herrera, 2012) (Daus, Wennrich, & Weiss, 2004).

Se ha estudiado la remoción de sulfato mediante piedra caliza, obteniendo resultados satisfactorios en la remoción principalmente mediante la adsorción, a pesar de que el pH del agua tratada era cercano a 6,5 y que las concentraciones de sulfato eran menores a lo que se quiere investigar en el Proyecto. Mediante isoterms y experiencias batch se determinó la remoción de sulfato mediante precipitación y/o adsorción. (Silva, Lima, & Leao, 2012)

Se han presentado estudios en los que, existiendo una alta concentración de sulfato, y se tiene una sobresaturación de iones de calcio, ocurre precipitación a sulfato de calcio dihidratado (Yeso) a 25°C y con $K_{eq} = 10^{-4,61}$ se presenta la ecuación (Aubé & Zinck, 2003):



donde $CaCO_3$ corresponde a la piedra Caliza, H_2SO_4 a ácido sulfúrico y $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ al sulfato de calcio dihidratado (Yeso).

2.2.2. Medios de soporte de humedales construidos

Entre muchas definiciones de humedales construidos se presenta la siguiente: son humedales construidos por el hombre en áreas donde antes no existían y tienen como función principal el tratamiento de aguas contaminadas. En estos sistemas, los contaminantes son removidos por una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que se efectúan en un ambiente natural, entre los que se encuentra la precipitación, adsorción a las partículas del suelo, asimilación de las plantas y transformación microbiana (Watson, 1989) (Brix, 1999).

Existen humedales con flujo superficial o subsuperficial, flujo horizontal o vertical y además varía la disposición y el tipo de las plantas utilizadas. Estos cuentan con medios soportantes por los que pasa el flujo en el que las plantas se desarrollan. Este

estudio considerará principalmente investigaciones de humedales construidos que tengan relación con la utilización de caliza y corteza de pino.

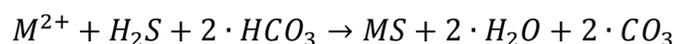
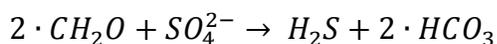
Se ha demostrado que la utilización de medios como la caliza y la zeolita en humedales construidos de flujo vertical han removido el As y Fe con alta eficiencia. En el caso de la piedra caliza se han alcanzado remociones cercanas al 99% mientras que para la Zeolita aproximadamente 90% (Lizama, Fletcher, & Sun, 2012).

Por otro lado, se ha estudiado extensamente el medio filtrante corteza de pino como medio para remover contaminantes a bajo costo (por ser un residuo en la industria forestal), y se ha encontrado que la corteza de pino tiene una alta capacidad de adsorción de Cd, Cr(III), Pb y Zn (Bailey & otros, 1999) (Montes, Montes, Valenzuela, Valero, & Díaz, 2009). Por estos motivos se ha elegido como medio orgánico la corteza de pino, ya que cumple la función de ser una fuente de carbono para las bacterias que se quieren colonizar y a su vez, tiene efectos positivos en la remoción de contaminantes como el Pb y Zn (Vergara, 2015).

2.2.3. Tratamientos Biológicos

Los sistemas de tratamientos biológicos están asociados principalmente a procesos microbiológicos que cambian el estado de oxidación de los metales y a su vez, disminuye la concentración de contaminantes (Johnson & Hallberg, 2005). Uno de los tratamientos más importantes de DAM es basado en bacterias sulfato reductoras (BSR) que reducen los sulfatos biológicamente y promueven la precipitación de sulfuros de metales y el consumo de la acidez del medio (Gibert, de Pablo, Cortina, & Ayora, 2002) (Christensen, Laake, & Lien, 1996) (Widdel, Musat, Knitterl, & Galushko, 2007). La remediación mediante BSR puede ser implementada mediante sistemas activos (biorreactores) o sistemas pasivos (humedales anaeróbicos o barreras permeables biológicas (Kaksonen & Puhakka, 2007) (Neculita, Zagury, & Bussiere, 2007).

En condiciones anaeróbicas, las bacterias sulfato reductoras generan sulfuro de hidrógeno, además la mayoría de los metales reaccionan generando sulfuros metálicos altamente insolubles (Sheoran, 2006).



Donde CH₂O corresponde a la materia orgánica y M representa a los metales de valencia 2.

En este trabajo, a partir de la revisión bibliográfica se diseña e implementa un sistema de tratamiento de DAM a escala de laboratorio que remueva metales pesados y sulfato. Este corresponderá a un sistema de filtros que contengan piedra caliza y corteza de pino, ya que la piedra caliza se presenta como un buen medio filtrante al remover exitosamente metales pesados y la corteza de pino es un buen candidato como fuente de carbono para la incorporación bacterias sulfato reductoras en filtros.

3. Materiales y Métodos

3.1. Medios Filtrantes

La selección de los medios filtrantes fue realizada en base a investigaciones previas en el tratamiento de aguas con humedales construidos. La piedra caliza ha sido seleccionada como el principal removedor de metales pesados y se incluyó la corteza de pino como medio orgánico que abastecerá de carbono las bacterias que sean inoculadas.

Debido a los resultados satisfactorios que obtuvieron Lizama (2012) y Henry (2015) removiendo contaminantes al utilizar piedra caliza como medio filtrante en un humedal construido, se decidió seguir explorando las capacidades de este material. Además, la piedra caliza cumple un rol fundamental al elevar el pH del agua que tendrá contacto con las bacterias sulfato reductoras, esto debido a que las BSR necesitan de un pH cercano a 6 para que se puedan reproducir (Leiva, 2015), al proceso de aumentar la población de bacterias se le denomina enriquecimiento.

3.1.1. Piedra Caliza

La piedra caliza es una roca sedimentaria y su principal compuesto es el carbonato de calcio (CaCO_3). La adquisición del material fue por parte de la empresa CAP Acero y proviene de la Isla Guarello, ubicada en el archipiélago Madre de Dios en la Región de Magallanes. La ficha técnica con los elementos que contiene el material está ilustrada en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Composición de la piedra caliza

Elemento	Fórmula	Porcentaje másico (%)
Carbonato de calcio	CaCO_3	94-98
Sílice	SiO_2	0,4-1,0
Fierro	Fe_2O_3	0,1-1,0
Óxido de Mg o carbonato de Mg.	MgO o MgCO_3	0-0,1

Fuente: CAP Acero

Adicionalmente se obtuvo una composición química de los materiales antes presentados en el laboratorio de Calidad de Aguas de la Universidad de Chile. Se estiman como resultados adecuados los valores correspondientes a "Caliza 2" ya que la Muestra N°1 presenta 1,86 g de calcio por 1 g de muestra, por tanto se invalida la muestra. En la Tabla 3.2 muestra el detalle de la composición química obtenido en el laboratorio.

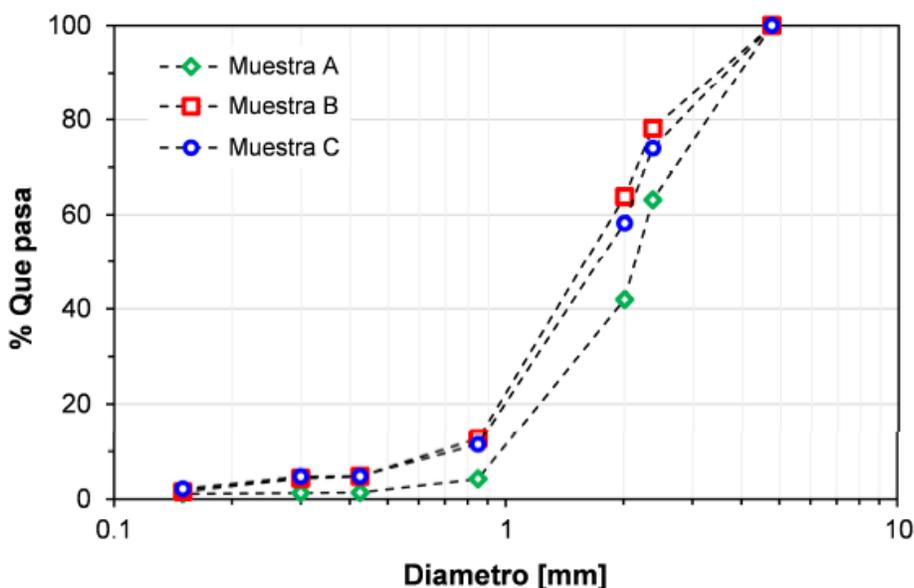
Tabla 3.2 Caracterización química de la piedra caliza

Muestra	Concentración de elementos (mg/g)								
	Boro	Hierro	Arsénico	Magnesio	Aluminio	Silicio	Potasio	Calcio	Estroncio
Caliza 1	0,002	15,25	0,040	14,02	1,72	0,834	0,275	1860,6	3,23
Caliza 2	0,001	3,19	0,010	5,78	0,78	1,833	0,086	870,1	1,72

Fuente: Henry, 2015

La granulometría correspondiente a la piedra caliza fue realizada por el Laboratorio de Sólidos y Medios Particulados de la Universidad de Chile. La caracterización se realizó mediante 3 muestras que se tamizaron en 7 intervalos desde la malla #4 hasta #100 y los resultados se presentan en la Figura 3.1. A partir del análisis granulométrico se obtuvieron los parámetros geotécnicos de la piedra caliza y se presentan en la Tabla 3.3.

Figura 3.1 Curvas granulométricas muestras de Caliza



Fuente: Informe Laboratorio de Geotecnia U. de Chile

Tabla 3.3 Parámetros Geotécnicos Piedra Caliza

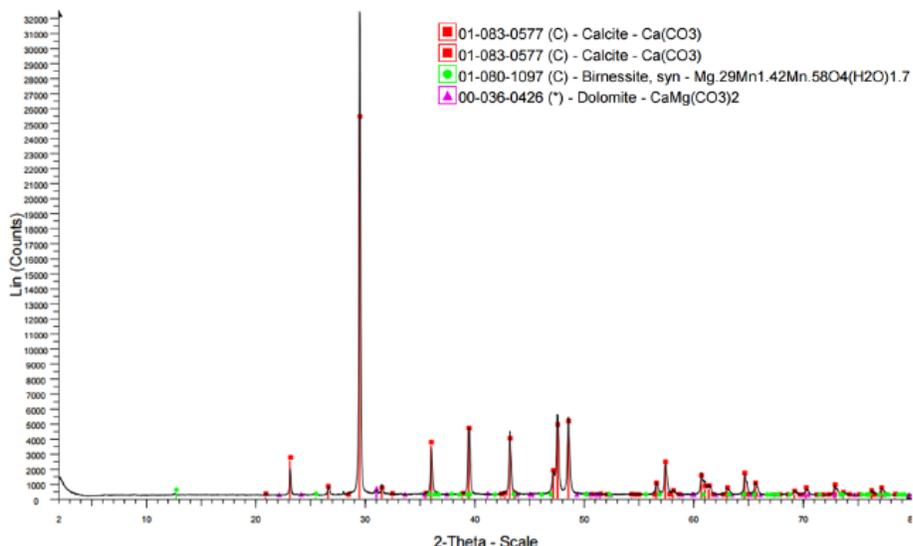
Medio	Área Superficial (m ² /g)	Peso esp. Máximo (KN/m ³)	Peso esp. Mínimo (KN/m ³)	Gravedad Específica de Suelo
Piedra Caliza	0,038	18,2	14	2,7

Fuente: Informe Laboratorio de Geotecnia U. de Chile

Para la determinación de las fases cristalinas de la piedra caliza, se analizó una muestra mediante un difractómetro de rayos X (DRX) en el Laboratorio de Cristalografía del Departamento de Física de la Universidad de Chile. Utilizando un difractómetro Bruker D8 Advance equipado con un ánodo de cobre ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) y una fuente de radiación con una potencia de 40 KV con 30 mA se mide la intensidad de difracción en intervalos de $0,02^\circ$ cada 0,1 segundos a 24°C . A continuación, se presenta el difractograma que identifica las fases cristalinas de la piedra caliza. Cabe destacar que

esta información es sólo para conocer los minerales cristalinos presentes en la piedra caliza y por tanto no será utilizada para analizar los resultados que se obtengan.

Figura 3.2 Difractograma Piedra Caliza



Fuente: Henry, 2015

3.1.2. Corteza de Pino

La corteza de pino es un medio orgánico y está compuesta por 48,15% de carbón, 45,95% de oxígeno y 5,51 % de hidrógeno (Vergara, 2015). La presencia de grupos funcionales como los grupos carboxilos (celulosa) y fenólicos (lignina), genera que ésta tenga una superficie heterogénea. Se ha estudiado la corteza de pino como medio adsorbente de metales (Gaballah & Kilbertus, 1998) (Montes, Montes, Valenzuela, Valero, & Díaz, 2009), lo que determinó que este material sea utilizado como fuente de carbono para las bacterias sulfato reductoras. Para conocer los elementos principales contenidos en la corteza de pino se presenta un análisis mineralógico realizado mediante Rayos X-EDS (Qemscan™), y el detalle de su resultado se encuentra en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4 Caracterización corteza de Pino con Qemscan

Elemento	Concentración (mg metal/g corteza)
Cobre	34,96
Azufre	10,04
Arsénico	35,32
Plomo	133,28
Plata	56,91
Oro	50,07
Fierro	451,91

Fuente: Vergara, 2015

Con relación a la corteza de pino se decidió chancar el material y tamizar de manera de obtener sólo partículas cuyo diámetro sea mayor a 2 mm y menor a 3,35 milímetros. Esto se realizó para uniformizar las partículas de manera que tengan un tamaño lo suficientemente grande para que no se degrade con facilidad y a su vez, sean partículas pequeñas que permitan compactarlas evitando vacíos en su interior y sean adecuadas para alojar bacterias sulfato reductoras.

3.2. Agua Sintética

Se preparó un agua sintética de las características del río Azufre (Leiva, 2013), la fórmula se confeccionó mediante una modelación inversa con el software PhreeqC (USGS). Este proceso consiste en fijar las concentraciones objetivo del agua sintética y mediante ensayos de prueba y error se busca la combinación de reactivos que se tienen disponibles de manera que se cumplan los parámetros de diseño y el modelo converja. El programa entregó los valores presentados en la Tabla 3.5. La concentración de los iones que entrega el modelo se presenta en la Tabla 3.6.

Tabla 3.5 Fórmula modelo PhreeqC

Reactivos de PhreeqC	Concentración [mg/l]	Número de moles	Reactivos en laboratorio	Peso Molecular [gr/mol]	Masa [gr]	Volumen [ml]
H ₃ BO ₃	172,69	2,79E-03	B**	61,83	0,030	30
As ₂ O ₅	5,40	2,35E-05	As**	229,84	0,0035	3,5
CaCl ₂	738,35	6,65E-03	CaCl ₂	110,98	0,7383	-
FeCl ₃	292,28	1,80E-03	FeCl ₃	162,2	0,2923	-
KCl	134,26	1,80E-03	KCl	74,55	0,1343	-
NaCl	791,86	1,36E-02	NaCl	58,44	0,7919	-
Al ₂ (SO ₄) ₃	382,87	1,12E-03	Al ₂ (SO ₄) ₃ *18H ₂ O	666,132	0,7454	-
MgSO ₄	622,79	5,17E-03	MgSO ₄ *7H ₂ O	246,47	1,275	-
MnSO ₄	33,19	2,20E-04	MnSO ₄ *H ₂ O	169,02	0,0372	-
Na ₂ SO ₄	116,56	8,21E-04	Na ₂ SO ₄	142,04	0,1166	-
PbSO ₄	2,21	7,29E-06	PbSO ₄	303,26	0,0022	-
ZnSO ₄	32,31	2,00E-04	ZnSO ₄ *7H ₂ O	287,56	0,0575	-
H ₂ SO ₄	3150,33	3,21E-02	H ₂ SO ₄ 97%	98,08	3,15	1,75
Na ₂ CO ₃	6,99	6,60E-05	Na ₂ CO ₃	105,99	0,007	-

Fuente: Maltos, 2015

Tabla 3.6 Fórmula Agua Sintética

Ion	Concentración [mg/l]
Cl ⁻	1208
SO ₄	4067
Na	352
K	70,4
Ca	267
Mg	126
Zn	13,1
Pb	1,43
Fe	101
Al	60,4
Mn	24,2
B	30,2
As	3,52

Fuente: Maltos, 2015

Se enviaron muestras de la preparación del agua sintética al laboratorio ANAM para que analicen metales pesados y sulfato presentes en el agua. Los resultados arrojaron un déficit de Cl y Ca de un 20% y 35% respectivamente (Maltos, 2015), por tanto, se decidió aumentar proporcionalmente la cantidad de CaCl₂, estableciendo fórmula definitiva del agua sintética que se presenta en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7 Fórmula Agua Sintética

Reactivo	Concentración
	(g/l)
MgSO ₄ 7H ₂ O	1,275
NaCl	0,792
Al ₂ (SO ₄) ₃ 18H ₂ O	0,745
KCl	0,134
Na ₂ SO ₄	0,117
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,058
MnSO ₄ H ₂ O	0,037
Na ₂ CO ₃	0,007
PbSO ₄	0,002
CaCl ₂	0,752
FeCl ₃	0,292
Solución 1 gr/lt	(ml)
B	30
As	3,5
H ₂ SO ₄	1,75

Cabe destacar que el boro y arsénico son incluidos en la fórmula en soluciones con concentración 1 g/L de agua destilada a partir de pentóxido de diarsénico (As_2O_5) y ácido bórico (H_3BO_3), respectivamente.

La preparación del agua sintética consiste en pesar los reactivos sólidos y depositarlos en un matraz aforado de 2 L con de agua destilada. Posteriormente se añaden los reactivos líquidos, previamente ambientados, mediante pipetas aforadas y micropipetas, para que, finalmente se agite mediante un pez agitador hasta que se disuelvan los sólidos. Usualmente se prepararon 4 litros de agua sintética, se pesaron y añadieron los reactivos correspondientes en el matraz aforado de 2 litros, posteriormente se deposita en un envase más grande y se mezcla con 2 litros de agua destilada hasta alcanzar el volumen requerido.

La experiencia en columnas y la preparación del agua sintética funciona a una temperatura aproximada de 21°C y las características promedio medidas del agua sintética para parámetros que se miden *in situ* se presentan en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8 Parámetros promedio In Situ Agua Sintética

Parámetro	Unidad	Valor
pH	-	1,5
EC	mili Siemens	17
Sulfato	mg/l	3600

3.3. Montaje Experimental

Los experimentos que se desarrollaron en este estudio se centran en los filtros en columnas, sin embargo, el filtro cuenta con una combinación de medios filtrantes, por lo que resulta necesario realizar una segunda experiencia con reactores Batch que permitirán verificar el comportamiento de cada medio analizándolo mediante etapas, tal como ocurriría en un filtro al pasar a través de sus medios filtrantes.

3.3.1. Columnas

El montaje consta de 6 columnas de acrílico de 5,7 cm de diámetro dispuestos de manera vertical con conectores de 4 mm de diámetro a la entrada y salida de la columna tal como se aprecia en la Figura 3.4. Cada columna está armada con 3 sustratos: en la parte inferior cuenta con 200 g de grava seleccionada entre 3 mm y 6 mm de diámetro, ocupando una altura aproximada de 5 cm de columna. Posteriormente se le agregan 35 g de corteza de pino seco y finalmente, la parte superior de la columna es rellena con piedra caliza de tal manera que se alcance una densidad relativa del 70% para que se asegure un flujo uniforme y no existan vías preferenciales por las cuales el agua escurra y no interactúe de manera plena con la piedra caliza. Para lograr la compactación requerida se calcula el peso para llenar 20 cm de la columna y que equivale a 869,5 gr de piedra caliza. Este medio se instaló colocando y compactando capas de 3 cm aproximadamente. El detalle de la composición de una columna se encuentra en la Figura 3.3.

Cabe destacar que, en el extremo superior, inferior y en el centro de las columnas se colocaron placas circulares con mallas de manera que se filtre un porcentaje de finos y se uniformice el flujo. Se numeraron las columnas de 1 hasta 6 para diferenciarlas, asignando los números 1, 2 y 3 a las columnas sin BSR y a las columnas 4, 5 y 6 ómo las columnas inoculadas con BSR. Además, se dejó un tapón en las columnas 4, 5 y 6, específicamente en el sector donde está la corteza de pino para que fueran inoculadas con bacterias. Las columnas sin bacterias (1, 2 y 3) se mantuvieron selladas durante toda la experiencia.

Figura 3.3 Distribución Columna

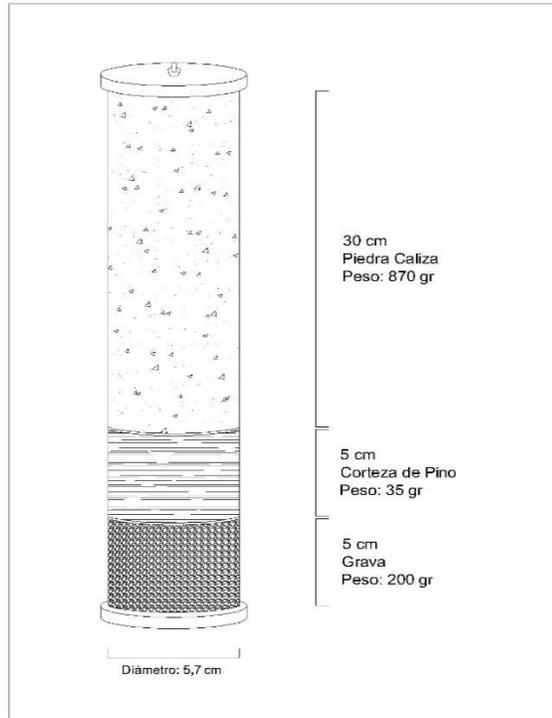


Figura 3.4 Montaje Experimental Columnas



El detalle de la Figura 3.4 se presenta a continuación:

- 1.- Estanque de 5L abastecedor de agua sintética
- 2.- Mangueras de 4mm
- 3.- Grupo de 3 columnas sin inoculación (1,2 y 3)
- 4.- Grupo de 3 columnas inoculadas con bacterias (4, 5 y 6)
- 5.- Manguera Masterflex número 13
- 6.- Bomba Peristáltica Masterflex
- 7.- Envases receptores de agua tratada

Una vez montada la instalación experimental, se cebaron las columnas con agua destilada para que eliminara los finos que trae el material, para esto se mantuvo un caudal de salida de 0,01 ml/min. Se mantuvo en funcionamiento el sistema por aproximadamente una semana y luego se detuvo. Entonces se comenzó con la inoculación de una solución con una mezcla de BSR cultivadas a partir de las muestras obtenidas en el sector de Aguas Calientes del río Azufre por Leiva (2013). Esta solución rica en bacterias se inoculó en la corteza de pino a razón de 5 ml diario para cada columna (C4, C5 y C6) por una semana.

Transcurrida esa semana se preparó una solución como medio de cultivo de las BSR a partir de experiencias satisfactorias obtenidas por Leiva (2015). Se inyectó 10 ml dicha solución en cada columna y estaba concentrada en razón de 4:1. La fórmula del medio de cultivo se presenta en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9 Fórmula Medio de Cultivo BSR

Reactivo	Concentración
	(g/l)
$K_2H_2PO_4$	0,50
Na_2SO_4	4,50
NH_4Cl	1,00
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,06
$CaCl \cdot 6H_2O$	0,06
Citrato de Sodio	0,30
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,004

Fuente: Leiva, 2015.

Después de inyectada la solución del medio de cultivo se dejó el sistema detenido por 1 semana para que las bacterias se adapten en las columnas. Posteriormente se reinocularon las columnas con bacterias en el día 104 de funcionamiento, en esta ocasión se inyectaron 3 ml de solución enriquecida con bacterias durante 5 días. Esta solución se preparó a partir de muestras de BSR obtenidas por Leiva (2013) y el medio de cultivo presentado en la Tabla 3.9.

El caudal de operación de la instalación está determinado por la carga hidráulica que se le aplica al área transversal de la columna. El valor comúnmente utilizado en la operación de humedales artificiales es de $q = 20$ mm/día (Kadlec & Knight, 1996), por tanto, por unidad de superficie de la columna se obtiene un caudal Q igual a 0,036

ml/min. El caudal efectivo que extrae la bomba a cada columna se verá reflejado en los volúmenes extraídos entre cada muestreo.

El sistema comenzó a operar con agua sintética el 28 de julio de 2015 y lo acumulado en la primera semana se descartó debido a potenciales diluciones debido a la presencia de agua destilada remanente del proceso de limpiado. Se muestreó cada 7 días lo que implicó acumular aproximadamente 400 ml de agua tratada por semana. El agua sintética se preparó aproximadamente cada 10 días debido a la capacidad del estanque de abastecimiento, preparando usualmente un volumen de 4 litros. El sistema operó hasta el 9 de diciembre de 2015, lo que permitió realizar 16 muestreos en 17 semanas de funcionamiento.

3.3.2. Reactores Batch

La experiencia con reactores batch nace a partir de los resultados obtenidos en la experiencia de las columnas, esto porque se evidenció una remoción de sulfato que no existía en las experiencias pasadas de Lizama (2012) y Henry (2015). Tratando de asemejarse a la experiencia de las columnas, los experimentos con reactores batch se dividen en dos etapas. Primero se trató el agua sintética con piedra caliza buscando acercarse a lo que ocurre en la primera parte de la columna donde existe la interacción sólo de agua sintética y piedra caliza. Posteriormente se utilizó el agua tratada para usar en reactores que tengan corteza de pino y BSR, al igual que lo que ocurre en la parte inferior de las columnas donde llega el agua tratada por la piedra caliza al sector donde está el pino con y sin bacterias. El primer montaje contó con 15 reactores, tal como se aprecia en la Figura 3.5, los que están distribuidos de la siguiente manera:

- 9 reactores con 150 gr de Piedra Caliza y 250 ml de agua sintética
- 3 reactores con 250 ml de agua sintética
- 3 reactores con 150 gr de Piedra Caliza y 250 ml agua destilada

Por otro lado, el segundo montaje contó con 10 reactores los que se distribuyen de la siguiente manera:

- 4 reactores con 15 gr de Corteza de Pino y 250 ml de agua tratada
- 4 reactores con 15 gr de Corteza de Pino, 250 ml de agua tratada y 20 ml de una mezcla de los inóculos con BSR utilizados previamente en las columnas
- 2 reactores con 15 gr de Corteza de Pino y 250 ml de agua destilada.

La cantidad de reactores utilizados se estimó considerando la capacidad de generar agua tratada y de que esta llenara los reactores tratando de dejar la menor cantidad de aire en el interior. Además, a los reactores con bacterias se le inyectó gas nitrógeno antes de ingresarlos al agitador mediante una pipeta. Este proceso duró aproximadamente 2 minutos cubriendo todas las zonas del reactor para que no existiera oxígeno y por tanto generar condiciones anaeróbicas para la supervivencia de las bacterias inoculadas.

Figura 3.5 Montaje Experimental Reactores Batch



3.3.3. Instrumentos y Equipos

Los instrumentos de vidrio utilizados y los envases en que se recolectaron las muestras siempre fueron lavados con una solución ácida de HCl al 10%, esto para evitar la contaminación del agua sintética y las muestras.

Los instrumentos y equipos utilizados fueron:

- Micropipetas Brand de 100-1000 μ l y 10-100 μ l.
- Matraces aforados Pyrex de 50 ml, 100 ml y 2000 ml.
- Pipetas aforadas Corex N°7-100 de 2, 4, 5, 10 y 100 ml.
- Matraz Erlenmeyer Pyrex de 1000 ml.
- Jeringas fungibles desechables de 50 ml.
- Filtros para jeringa de 25 mm 0,45 μ m.
- Secadora de Material Memmert, modelo typ UFB500, Alemania.
- Bomba Peristáltica Masterflex L/S modelo 07575-10, Cole Palmer, utilizado para controlar el flujo que pasaba a través de las columnas.
- Mangueras número 13 Masterflex.
- Shaker Zhicheng ZHWY-2000, utilizado para la experiencia con reactores Batch.
- Multiparámetro Hach modelo HQ40d, utilizado para medir pH, oxígeno disuelto y temperatura.
- Conductivímetro Corning, modelo Check Mate 90, USA, utilizado para medir conductividad eléctrica y temperatura.

- Espectrofotómetro Hach DR5000, utilizado para medir concentraciones de sulfato y DQO.
- Celdas Hach para medir sulfato en espectrofotómetro DR5000.
- Viales DQO Hach de alto rango para espectrofotómetro DR5000.
- Reactivo SulfaVer 4 para medición de sulfatos en espectrofotómetro DR5000.

3.4. Muestreo

3.3.1. Columnas

La recolección de muestras se realizó cada 7 días, usando envases de plásticos de 500 ml. En primer lugar, se pesa el volumen de líquido que se extrajo de cada columna, para que posteriormente se extraigan 4 muestras de 50 ml, de las cuales la mitad se filtró por 0,45 μm y luego se acidificó una muestra filtrada y otra no filtrada con 0,23 ml de HNO_3 para los 50 ml de cada muestra. Por otro lado, se extraen 30 ml de muestra filtrada y se acidifican con 0,06 ml de H_2SO_4 para los 30 ml extraídos, estas muestras son exclusivamente para medir DQO.

La metodología de medición de los parámetros in situ es la siguiente:

- pH y temperatura: multiparámetro Hach con agitación. Se tomó como valor definitivo la medición que se repitiera 3 veces seguidas.
- Conductividad eléctrica y temperatura: conductímetro Corning. Se tomó como valor definitivo la primera medición.
- Sulfato: Método 8051 SulfaVer 4 (1-70 mg/l), procedimiento equivalente a Método USEPA 375.4 para aguas residuales.
- DQO: Método 8000 con viales de alto rango (20-1500 mg/l).

La medición de Metales y Metaloides se realizaron en laboratorios externos, los que utilizaron la siguiente instrumentalización:

Laboratorio de Geoquímica de Fluidos para la medición de As, B, Fe, Ca, Mg, Al y Si

- Espectrometría de masas cuadrupolo con fuente de plasma de acoplamiento inductivo y celda de colisión, Thermo Scientific ICP-MS Q.
- Espectrofotómetro portátil para medición de sílice Hanna Instruments HI 96705.

Laboratorio de ANAM para la medición de metales y metaloides

- Espectroscopia de Emisión de Plasma-Método de Plasma Acoplado Inductivamente con Detector Óptico (OES) para el análisis de B, Ca, Fe, Mg y Si.
- Espectroscopia de Emisión de Plasma-Método de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP) para el análisis de As y Al.

3.3.2. Reactores Batch

Para el caso de los reactores Batch con agua sintética y piedra caliza, se buscó que el resultado final de la experiencia entregara un pH neutro al igual que lo ocurrido en la experiencia de las columnas donde el efluente tiene un pH superior a 7. Para esto se realizaron 3 muestreos, el primero a las 12 horas, el segundo a los 7 días y el tercero a los 14 días, todos en triplicado. El muestreo a las 12 horas tiene relación con el tiempo de retención hidráulico que tienen las columnas y los otros dos muestreos quedaron definidos a partir del pH que neutro que se buscaba obtener.

Los muestreos para los reactores con pino y las bacterias se realizaron a los 4 y 11 días, esto principalmente para que hubiera tiempo suficiente para que crezcan las bacterias. Cada muestreo fue hecho en duplicado para reactores con bacterias y sin bacterias.

La metodología utilizada en la medición de parámetros corresponde a la misma que en las columnas, sin embargo, en los reactores Batch no se midieron las concentraciones de metales pesados, sólo los parámetros pH, conductividad eléctrica, temperatura, concentración de Sulfato y DQO.

4. Resultados y Discusión

4.1 Columnas

La Figura 4.1 y 4.2 presenta una evolución temporal del aumento del pH en las muestras separadas por las columnas sin bacterias y con ellas, respectivamente. Las columnas sin bacterias corresponden a las numeradas como C1, C2 y C3, mientras que las columnas con bacterias corresponden a las definidas como C4, C5 y C6. Los valores graficados corresponden a la diferencia entre el pH que contiene el agua sintética antes de ingresar a las columnas y el pH de las muestras extraídas después de una semana. Las mediciones mostradas corresponden a muestras recogidas de una misma columna, vale decir, muestra la evolución temporal del sistema.

Figura 4.1 Variación de pH en columnas sin bacterias

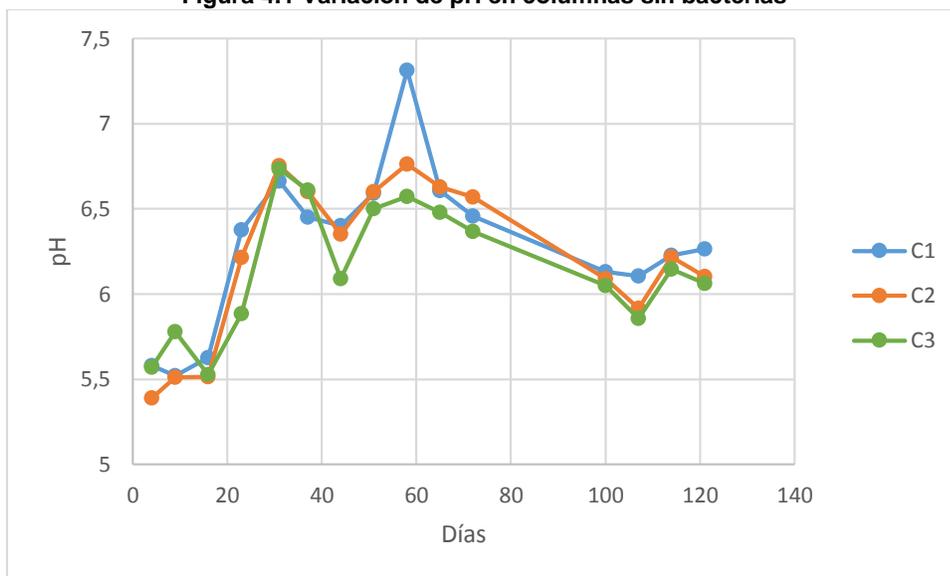
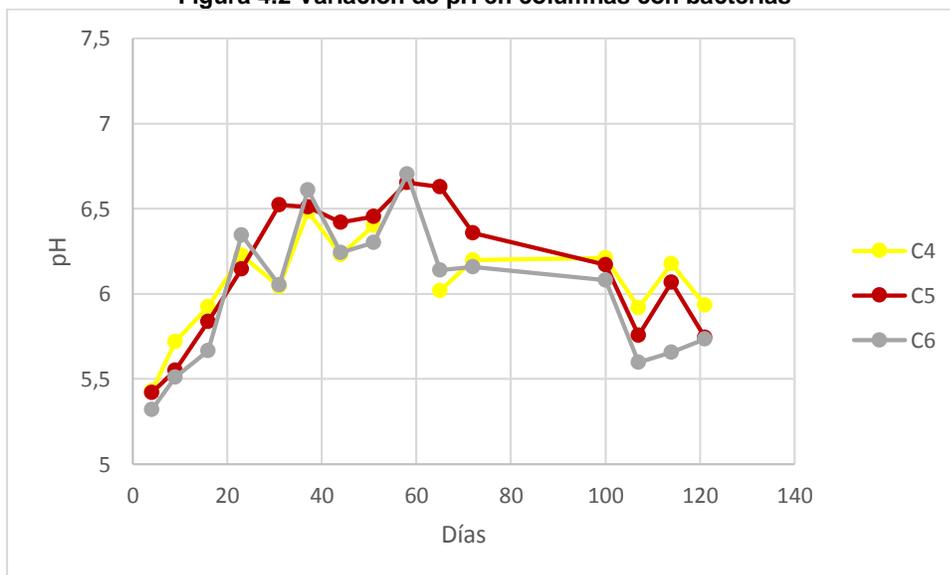


Figura 4.2 Variación de pH en columnas con bacterias



Se puede apreciar que la diferencia entre las columnas con y sin bacterias no es considerable, sin embargo, ambos muestran una evolución temporal que tiene su peak entre los 30 y 60 días de funcionamiento. Se pudo observar que el sistema, tal como se ha instalado, subirá el pH como mínimo 5 puntos para un agua sintética con pH cercano a 1,5, alcanzando un máximo de 6,5 y finalmente decaer paulatinamente hasta 6 puntos en el aumento de pH. El detalle de los valores registrados para las columnas y el agua sintética se encuentra en el Anexo A.

La concentración de sulfato es uno de los parámetros más importantes del presente estudio, ya que tiene directa relación con el comportamiento de las bacterias sulfato reductoras y los medios filtrantes. Tal como se presentó en la metodología, cabe recordar que existen 2 hitos donde se inocularon BSR, en el día 0 y en el día 104 de funcionamiento. Además, la bomba estuvo detenida por la falla de unas mangueras entre los días 69 y 76 de funcionamiento, en este período el experimento se detuvo sin que se le realizaran cambios.

En la Figura 4.3 y 4.4 se presenta la evolución temporal de la remoción de sulfato en columnas sin bacterias y con ellas, graficando la diferencia entre la concentración que tiene el agua sintética y la concentración que tiene el agua tratada. Estas mediciones se realizaron en el momento que se extrajeron las muestras y siguieron el protocolo indicado en el acápite de operación del experimento.

Figura 4.3 Concentración de sulfato removido en columnas sin bacterias

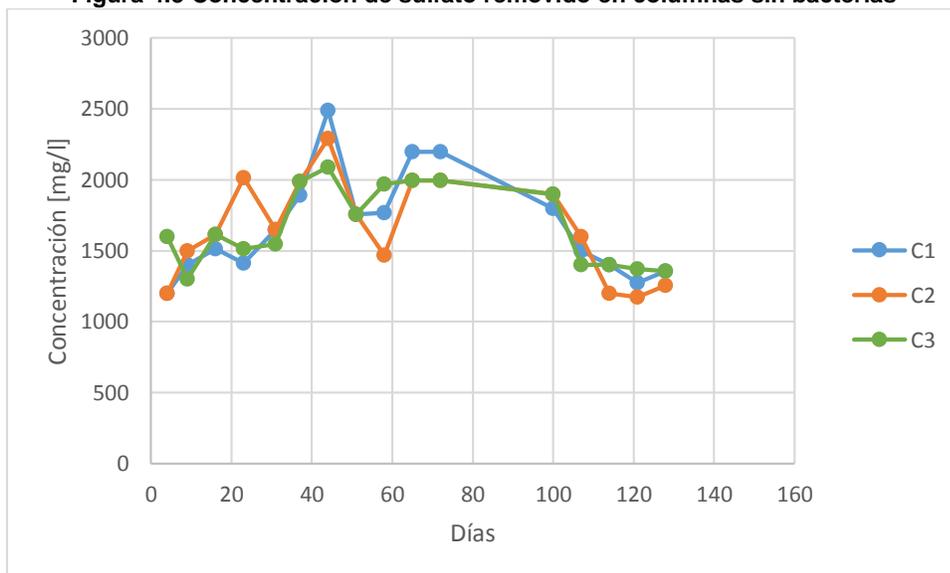
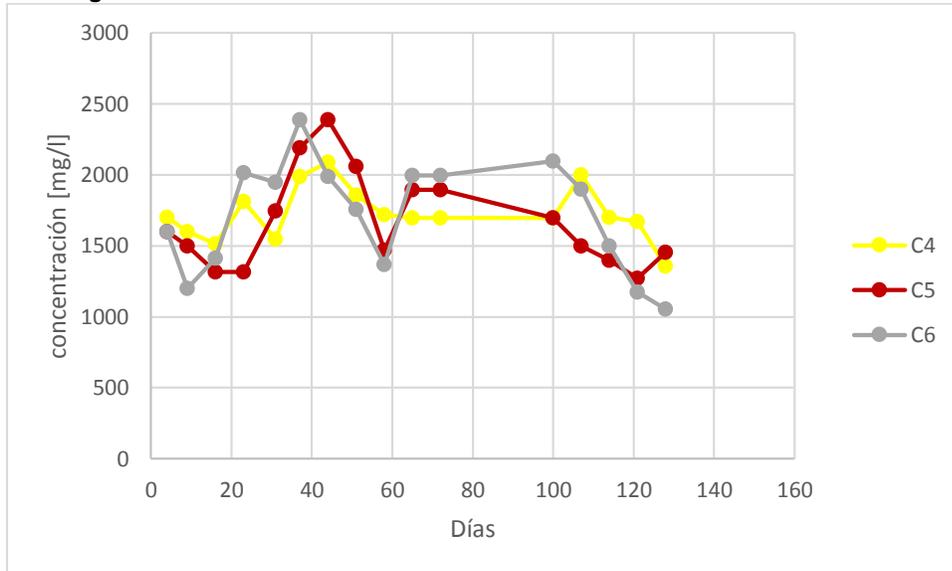
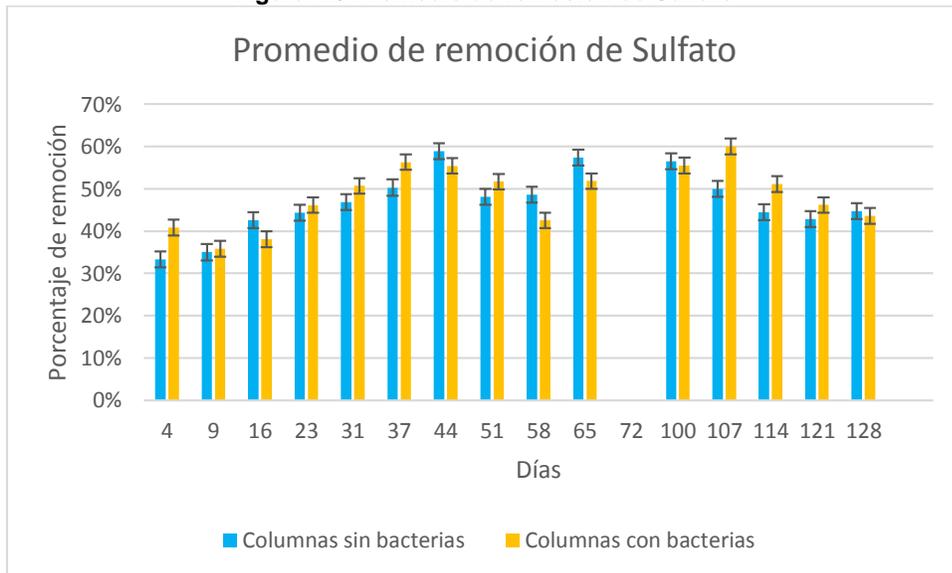


Figura 4.4 Concentración de sulfato removido en columnas con bacterias



Se busca comparar la remoción entre las columnas sin bacterias y con bacterias, para esto se promediaron las concentraciones removidas entre las columnas C1, C2 y C3 y por otro lado las columnas C4, C5 y C6, tal como se presenta en la Figura 4.5.

Figura 4.5 Promedio de remoción de Sulfato



Se aprecia una diferencia de un 8% en el muestreo del día 4 y de un 10% en el muestreo del día 107 a favor de las columnas con bacterias, ambos ocurren justo después de la inoculación de bacterias sulfato reductoras. En los otros muestreos no se aprecian diferencias notables y se intercalan entre qué columnas remueven más sulfato. El gráfico presenta los rangos de error estándar, que en la mayoría de los casos se superponen entre las columnas con bacterias y sin bacterias, por lo que se podría considerar que el valor es el mismo.

Los resultados obtenidos indican una remoción de sulfato constante, que puede ser atribuible a la precipitación y/o adsorción del sulfato con la piedra caliza, esto formaría yeso o etringita (Cao, Zhang, Mao, Fang, & Yang, 2009), la fórmula con la que se forma el yeso se presenta a continuación:



Ante la necesidad de conocer otro parámetro para medir la presencia de bacterias en las columnas, se midió el oxígeno disuelto en los recipientes que contienen el agua tratada justo antes de ser retirados. Los resultados se presentan en las Figuras 4.6 y 4.7.

Figura 4.6 Oxígeno disuelto en columnas sin bacterias

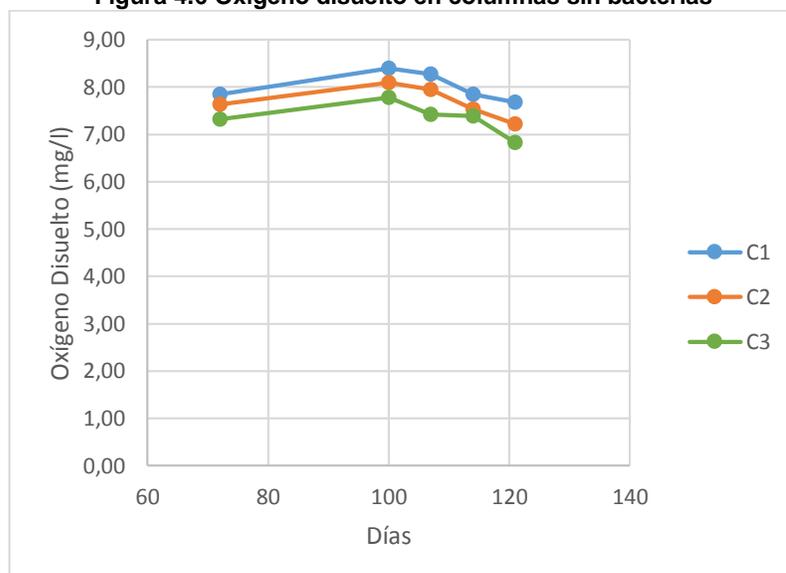
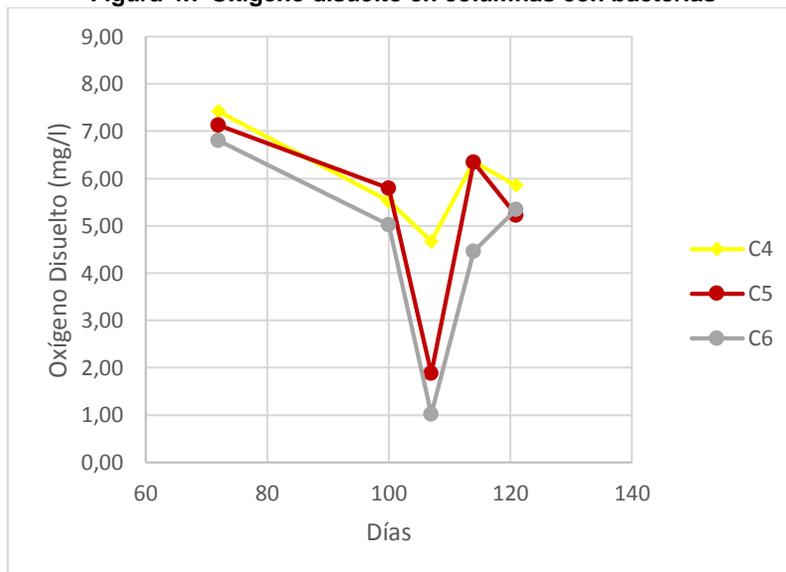


Figura 4.7 Oxígeno disuelto en columnas con bacterias



Los gráficos representan el período antes y después de la segunda inoculación que ocurrió en el día 104, y se aprecia notoriamente la disminución de oxígeno disuelto producto de las bacterias sulfato reductoras. Sin embargo, al igual que en la concentración de sulfato, la acción de las bacterias sólo duró una semana y aparentemente las bacterias no se adaptaron a su fuente de carbono. De hecho, los recipientes en el muestreo donde ocurrió la disminución de oxígeno disuelto presentaban características donde se podía ver y oler la actividad microbiana distinto a las muestras de las columnas sin bacterias. Esto no ocurrió significativamente en las semanas posteriores, e indica un desplazamiento casi inmediato de las bacterias en el sentido del flujo, saliendo del sistema, lo que incorpora factores hidrodinámicos que influyen en las características óptimas para poder cultivar y enriquecer bacterias en columnas.

Por otro lado, se analizó la concentración de iones en el laboratorio CEGA, seleccionando muestras del agua sintética definida en el acápite 3.2, una columna sin bacterias y otra con bacterias para el muestreo 2 (día 9) y muestreo 11 (día 100). Se pudo apreciar que existen iones que disminuyeron después de pasar por las columnas, pero, por otro lado, existen iones que aumentaron, esto se debe al aporte que realizan los medios filtrantes al liberar iones tales como Ca y Mg. En las Tablas 4.1 y 4.2 se presenta el detalle de los iones removidos y se ilustran en las Figuras 4.8 y 4.9, mientras que los iones liberados se presentan en las Tablas 4.2 y 4.4.

Tabla 4.1 Iones removido muestreo 2

Ion	Agua Sintética Muestreo 2	Columna sin bacterias Muestreo 2		Columna con bacterias Muestreo 2	
	[mg/l]	[mg/l]	% removido	[mg/l]	% removido
Na	349	332	5%	326	7%
K	172	68,1	60%	65,4	62%
Fe	99,2	1,2	99%	1,2	99%
B	31,4	19,2	39%	17,2	45%
Al	63,6	0,135	100%	0,135	100%
Mn	12	9,27	23%	9,85	18%
Zn	13,8	0,853	94%	0,119	99%
As	3,41	0,014	100%	0,014	100%
Pb	1,84	0,012	99%	0,0027	100%
Cl-	1285	1154	10%	1148	11%
SO4 2-	3865	2459	36%	2187	43%

Figura 4.8 Iones removidos muestreo 2

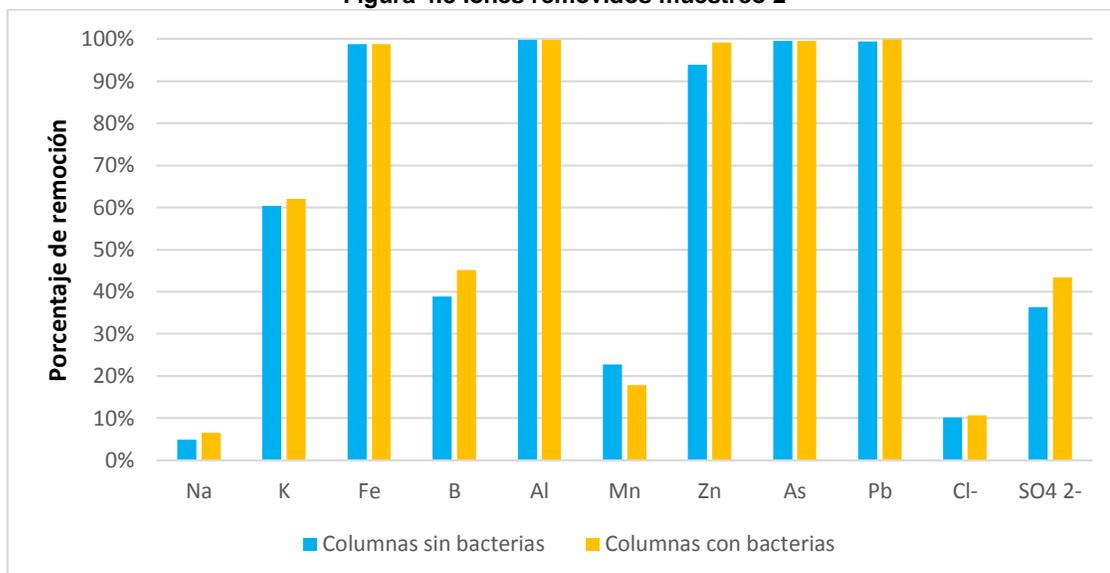


Tabla 4.2 Iones liberados muestreo 2

Ion	Agua Sintética Muestreo 2	Columna sin bacterias Muestreo 2		Columna con bacterias Muestreo 2	
	[mg/l]	[mg/l]	% liberado	[mg/l]	% liberado
Ca	206	1306	534%	1164	465%
Mg	129	137	6%	143	11%

Tabla 4.3 Iones removido muestreo 11

Ion	Agua destilada Muestreo 11	Agua Sintética Muestreo 11	Columna sin bacterias Muestreo 11		Columna con bacterias Muestreo 11	
	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	% removido	[mg/l]	% removido
Na	0,15	349	345	1%	344	1%
K	0,39	76,1	75,2	1%	78,4	0%
Fe	1,2	92	1,2	99%	1,2	99%
B	0,008	30,9	30,5	1%	30,8	0%
Al	0,042	63,9	0,135	100%	0,135	100%
Mn	0,001	11,7	12,2	0%	11,4	3%
Zn	0,044	13,8	7,75	44%	0,117	99%
As	0,0002	3,51	0,014	100%	0,014	100%
Pb	0,002	1,33	0,0027	100%	0,0027	100%
SO4 2-	1,25	3980	1988	50%	2310	42%

Figura 4.9 Iones removidos muestreo 11

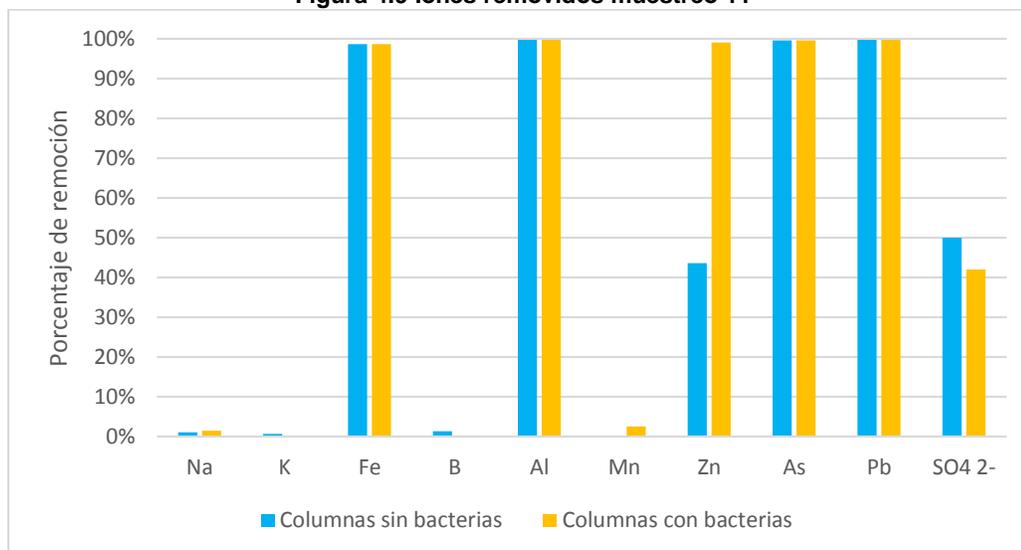


Tabla 4.4 Iones liberados muestreo 11

Ion	Agua destilada Muestreo 11	Agua Sintética Muestreo 11	Columna sin bacterias Muestreo 11		Columna con bacterias Muestreo 11	
	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	% añadido	[mg/l]	% añadido
Ca	0,5	205	1095	435%	1130	453%
Mg	0,09	128	149	16%	149	16%
Cl-	1,73	1168	1183	1%	1184	2%

Se aprecia que el porcentaje de remoción de As y Fe removidos tienen semejanza con lo obtenido por Lizama y otros (2012) y Henry (2015), sin embargo, respecto a estos mismos estudios hay una diferencia de la concentración de sulfato del agua sintética que se utilizó en esas experiencias, en ellas no se evidenciaron cambios en la concentración de sulfato en el agua tratada, mientras que en la presente experiencia hubo una disminución entre 1000 y 1500 mg/l. Cabe destacar que el agua sintética de las experiencias de Lizama y Henry antes expuestas tenían concentraciones más bajas de sulfato, cercanas a 1500 mg/l, mientras que la concentración en esta experiencia rondaba los 3500 mg/l.

Al analizar estequiométricamente la formación de yeso, se tiene una constante de solubilidad $K_{so} = 10^{-4,9}$ (Jenkins, 2002), lo que se relaciona con el producto de solubilidad, vale decir, la concentración de Ca multiplicado por la concentración de SO_4 es igual a la constante de solubilidad. Luego, mediante las concentraciones de los iones mostradas en las Tablas 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4 indicarán si las concentraciones son suficientes para que exista precipitación y por tanto, formación de yeso. De los resultados se nota un gran aumento en la concentración de Ca, pero no se sabe cuánto es aporte de la caliza. A partir de la diferencia de las concentraciones de SO_4 y la constante de solubilidad se evaluará si existe suficiente Ca para que los sulfatos hayan precipitado como yeso. La fórmula evaluada se presenta a continuación, cabe destacar que las concentraciones son en Mol/L.

$$[Ca^{2+}] = \frac{K_{so}}{[SO_4^{2-}]}$$

Al evaluar si existe el Ca necesario para que precipite el SO₄ como yeso, se obtuvieron los siguientes resultados presentados en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5 Evaluación de precipitación de SO₄ como yeso

Parámetro	Columna sin bacterias M2		Columna con bacterias M2		Columna sin bacterias M11		Columna con bacterias M11	
	[mg/l]	Molar	[mg/l]	Molar	[mg/l]	Molar	[mg/l]	Molar
[SO ₄] removido	1406	0,015	1678	0,017	1992	0,021	1670	0,017
[Ca] requerido	0,07	0,0018	0,06	0,0015	0,05	0,0012	0,06	0,0015
[Ca] medido	1306	0,033	1164	0,029	1095	0,027	1130	0,028
	Precipita		Precipita		Precipita		Precipita	

Para corroborar la interrogante sobre qué medio filtrante está removiendo sulfato, es decir si sólo la piedra caliza remueve el sulfato o también los hace la corteza de pino, se realizó una experiencia batch que permita determinar si el sulfato removido corresponde a la acción de la piedra caliza y/o la corteza de pino.

Un claro indicador de la remoción de Fe es la presencia de hidróxidos de fierro en la columna, estos elementos precipitan en los costados de la misma y se acumulan a medida que las columnas siguen recibiendo agua sintética. Esto se ve reflejado en la figura 4.10.

Figura 4.10 Columna con precipitados de Óxidos de Hierro y Yeso



Como se mencionó en la introducción, el principal potencial de los drenajes ácido de mina es su uso en riego, para estimar qué tan cercanas de la norma de riego se encuentran las concentraciones de iones se calculó un promedio de las concentraciones de los iones en el agua tratada con la que regula la norma de riego NCh 1333-1978, comprobando si la cumple. Luego, se aprecia en la Tabla 4.6 que para el boro, manganeso, zinc, cloruros y sulfato no se cumple la norma de riego, siendo insuficiente la remoción que aportan las columnas.

Tabla 4.6 Remoción y Norma de Riego NCh 1333-1978

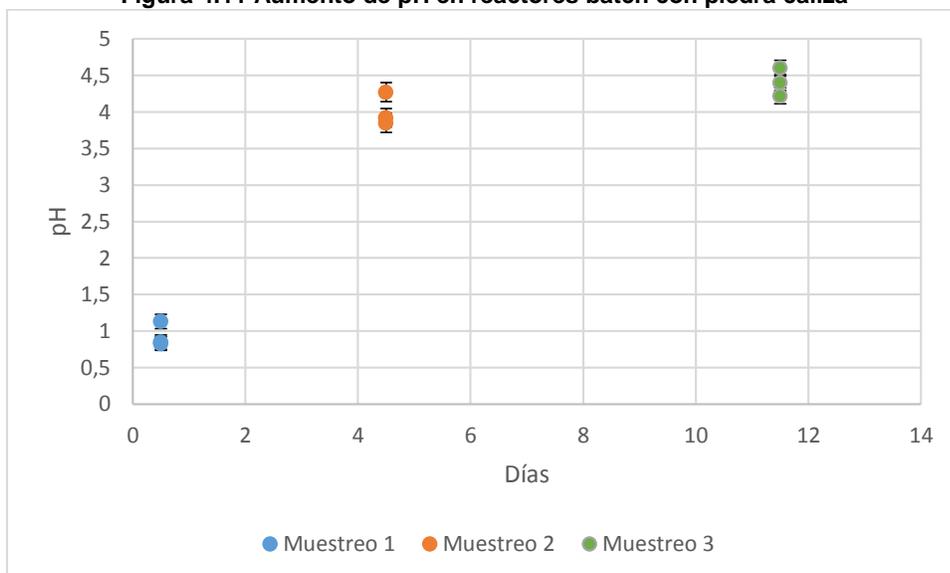
Parámetro	Agua Sintética [mg/l]	Agua Tratada [mg/l]	Norma Riego [mg/l]	Cumplimiento
Na	349	336,8	20	< 35 OK
K	124,05	71,78		
Ca	205,5	1173,75		
Mg	128,5	144,5		
Fe	95,6	1,2	5	OK
B	31,15	24,43	0,75	NO
Al	63,75	0,135	5	OK
Mn	11,85	10,68	0,2	NO
Zn	13,8	2,21	2	NO
As	3,46	0,014	0,1	OK
Pb	1,585	0,005	5	OK
Cl-	1226,5	1167,3	200	NO
SO4 2-	3922,5	2236,0	250	NO
pH	1,4	7,46	5,5 - 9,0	OK

4.2 Reactores Batch

La experiencia con reactores batch se dividió en 2 partes, la primera con agua sintética y piedra caliza, y la segunda con agua tratada en reactores con corteza de pino con y sin bacterias. Para ambos casos se midieron los parámetros relevantes, esto corresponde a pH, conductividad eléctrica y concentración de sulfato. Cabe destacar que los reactores son independientes entre ellos, por eso están graficados como puntos, y sabiendo que su estado inicial es el mismo, se puede analizar la evolución temporal de su comportamiento.

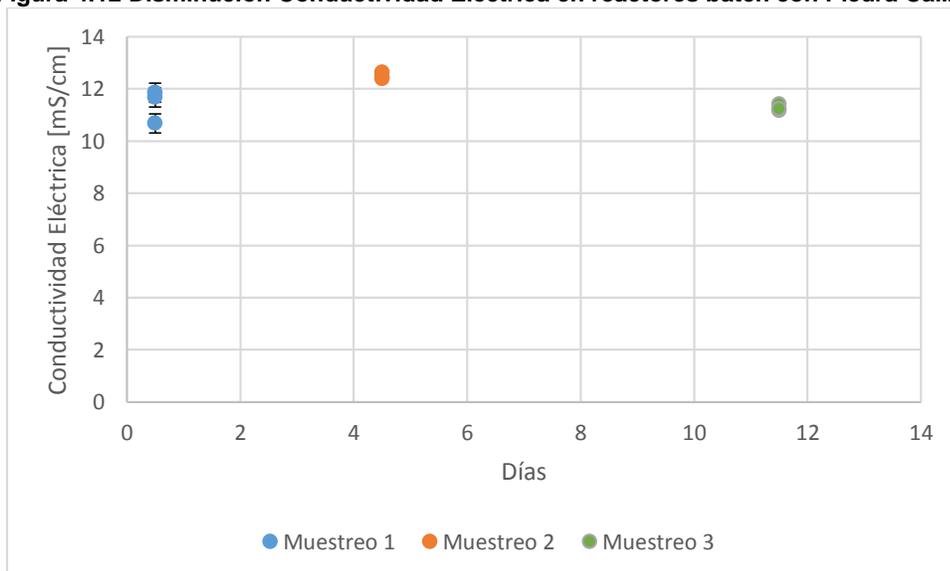
Para la experiencia de Reactores Batch con piedra caliza, se realizaron 3 muestreos, el primero a las 12 horas, el muestreo 2 a los 4,5 días y el muestreo 3 transcurridos 11,5 días. Cada muestreo se realizó en triplicado, vale decir, se extrajeron 3 reactores del agitador más los blancos respectivos de agua sintética y agua destilada con caliza. El detalle del registro para una masa de 150 gr de piedra caliza y 250 ml de solución use encuentra en el Anexo C.

Figura 4.11 Aumento de pH en reactores batch con piedra caliza



Tal como es la particularidad de la piedra caliza, esta tiende a aumentar el pH de la solución con la que está en contacto, especialmente si parte con un pH cercano a 1,9. Se puede apreciar en la Figura 4.11 que al cabo de 11,5 días el pH aumenta en 4,5 unidades aproximadamente. Estos valores de pH son inferiores a lo ocurrido en la columna, que tiene un período de retención hidráulico de 12 horas en la piedra caliza y que, para el caso de los reactores batch logra un aumento de pH cercano a 1 punto.

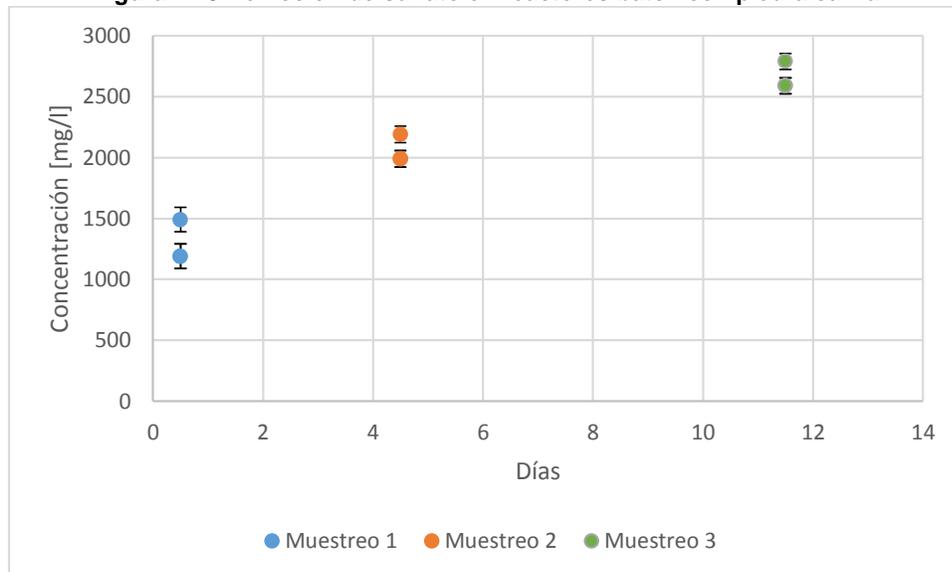
Figura 4.12 Disminución Conductividad Eléctrica en reactores batch con Piedra Caliza



Respecto a la conductividad eléctrica en la Figura 4.12 se aprecia que existe un período que tiene mayor eficiencia en la disminución de CE, sin embargo, la variación entre muestreos no son tan grandes lo que implicaría cierta uniformidad en la disminución de la conductividad eléctrica a partir de su conductividad inicial previo a ingresar al

agitador. La conductividad esta representada como la diferencia entre la conductividad inicial y la medida después del tratamiento, como existe una disminución, indica que existen menos iones en el agua y por tanto estos se unieron por complejación con otros compuestos por ya sea por adsorción y/o precipitación.

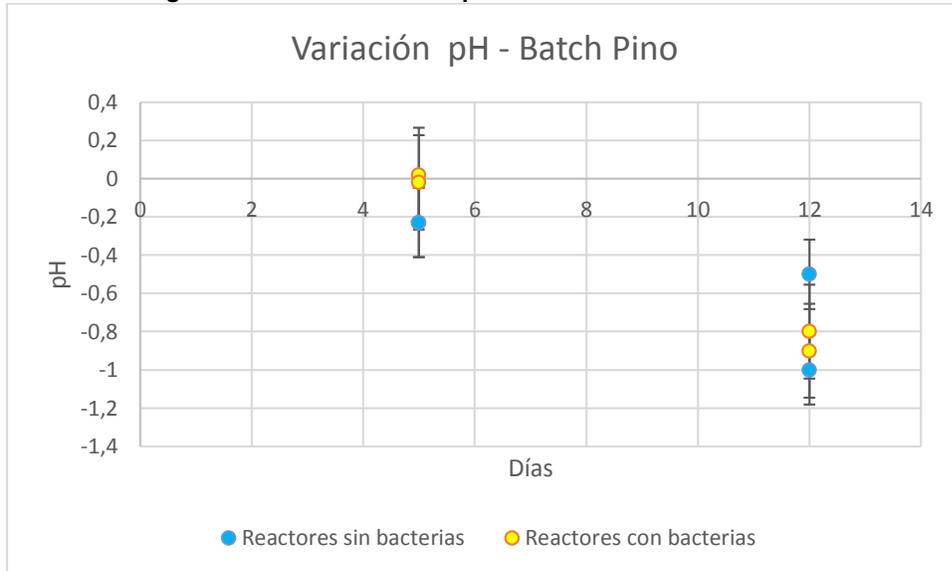
Figura 4.13 Remoción de sulfato en reactores batch con piedra caliza



La remoción de sulfato en los batch de piedra caliza entrega indicios sobre qué elemento removía sulfato en las columnas. Se puede apreciar en la Figura 4.12 que los valores obtenidos para el Muestreo 1, que tiene un tiempo de contacto de 12 horas, se encuentran valores cercanos a lo ocurrido en las columnas con un tiempo de retención hidráulico de 12 horas. A medida que aumenta el tiempo de contacto, aumenta la remoción de sulfato, sin embargo, el tiempo requerido es muy prolongado como para poder asimilarlo en tiempo de retención hidráulica en columnas. El detalle del registro obtenido para la experiencia de batch con piedra caliza se encuentra en el Anexo C.

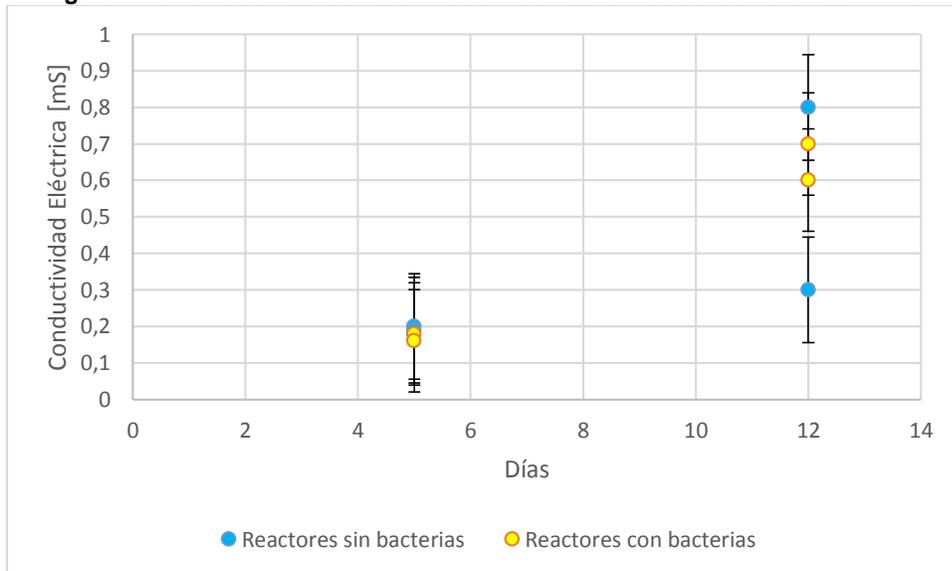
Por otro lado, se realizó la experiencia con el agua tratada de los batch de piedra caliza y la corteza de pino como fuente de carbono para las bacterias. En esta experiencia se realizaron 2 muestreos, y cada muestreo constaba de 2 reactores de agua tratada con corteza de pino inoculados con bacterias y 2 reactores de agua tratada con corteza de pino sin bacterias. El primer muestreo se realizó a los 5 días de iniciada la experiencia y el segundo muestreo ocurrió transcurridos 12 días. Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 4.14 y, a diferencia de los Batch de piedra caliza, esta experiencia esta diferenciada por los reactores con y sin bacterias, en lugar del muestreo como ocurría anteriormente.

Figura 4.14 Disminución de pH en reactores Batch con Pino



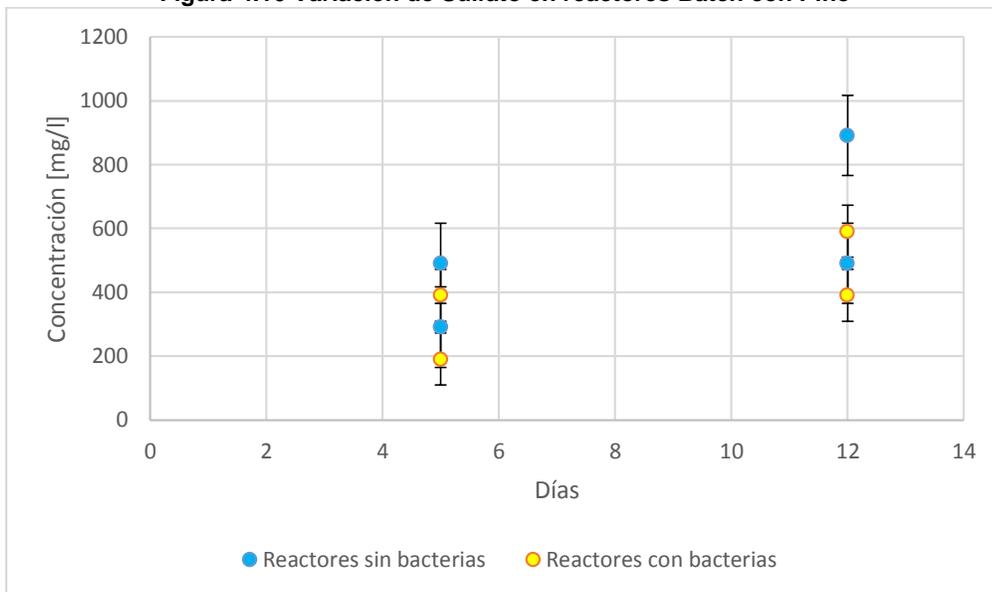
Se aprecia principalmente una disminución en el pH producto del pino con el agua tratada, además esta diferencia se hace más grande a medida que aumenta el tiempo de contacto, aumentando entre 0,3 y 0,8 puntos la diferencia transcurridos 7 días. Esto se debe principalmente a que la corteza de pino es más acida que la solución de agua tratada, con un pH cercano a 4,5 (Blázquez, 2011) .

Figura 4.15 Variación de Conductividad Eléctrica en reactores Batch con Pino



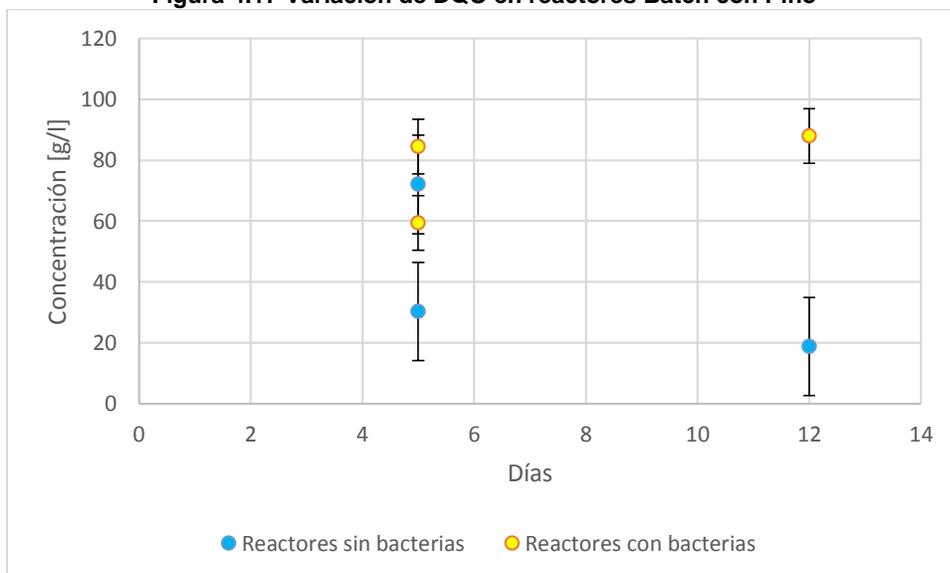
La variación de conductividad eléctrica tampoco presenta diferencias entre los reactores sin bacterias y con bacterias tal como se aprecia en la Figura 4.15. Además, se observa un aumento en la conductividad a medida que aumenta el tiempo de contacto, incrementándose entre 0,1 y 0,6 mS/cm transcurridos 7 días.

Figura 4.16 Variación de Sulfato en reactores Batch con Pino



Al contrario del Batch con piedra caliza, en la figura 4.16 se ve un aumento en la concentración de sulfato producto del contacto entre el agua tratada y la corteza de pino que va aumentando con el tiempo. Los valores no muestran una diferencia entre los reactores con bacterias y sin bacterias por lo que se estima que las bacterias no se enriquecieron en los reactores, y por tanto no redujeron el sulfato. Este leve incremento puede ser explicado por la disolución del yeso que se formó en el tratamiento con piedra caliza.

Figura 4.17 Variación de DQO en reactores Batch con Pino



Adicionalmente se realizó una medición de demanda química de oxígeno buscando la presencia de bacterias en los reactores y para conocer el comportamiento del pino. Se analizó el DQO para todas las muestras del primer muestreo y sólo 2 muestras (una con bacterias y la otra sin bacterias) del segundo muestreo. Tal como se aprecia en la Figura 4.17, existe un aumento con respecto al DQO que tenía el agua tratada, por tanto se puede decir que el pino aporta DQO al sistema y tal como se aprecia en el gráfico el aporte de DQO en los reactores con bacterias es mayor a los reactores que no las contienen, además no existe una variación significativa de la DQO a través del tiempo.

5. Conclusiones y Perspectivas

5.1. Conclusiones

En relación al experimento en columnas, se puede concluir que las columnas presentan una alta remoción de metales pesados tales como arsénico, fierro, aluminio, zinc y plomo, alcanzando eficiencias de remoción cercanas al 100% independiente del tiempo de que haya transcurrido en el sistema de columnas (en un tiempo de operación de 120 días). Por otro lado, existen remociones menores de iones tales como el sodio, potasio, boro, manganeso y cloruros, que se removieron en los primeros días de funcionamiento de la experiencia, pero al cabo de 100 días no existe remoción de estos iones por la saturación de Piedra Caliza, no pudiendo interactuar con los iones principalmente mediante la adsorción de los mismos.

La remoción de sulfato se debió a la piedra caliza tal como quedó demostrado en la experiencia Batch. Se puede hacer el símil entre las columnas y los batch con el tiempo de retención hidráulico de las columnas y los reactores debido a que se tienen disminuciones del orden de 1000 mg/l para ambos casos.

Tal como se presentó en la revisión bibliográfica, cuando hay altas concentraciones de sulfato y de iones de Calcio precipitan formando Yeso. Esto se ve reflejado en una sustancia blanquecina que cubre la sección de la Corteza de Pino. Este producto es difícil de identificar ya que su solidificación requiere de mucho tiempo. Este mismo fenómeno ocurre para concentraciones más bajas de sulfato (Silva, Lima, & Leao, 2012) y concentraciones cercanas a 2500 mg/l (Aubé & Zinck, 2003), pudiendo existir variaciones en las proporciones de remoción dependiendo de la naturaleza y composición de las aguas tratadas.

Las experiencias pasadas (Lizama, Fletcher, & Sun, 2012) (Henry, 2015) no presentaron cambios en la concentración de sulfatos debido a que la concentración de sulfato en el agua sintética era menor que la utilizada en este estudio (1200 mg/l para Henry (2015), 1000 mg/l para Lizama (2012) y 3500 mg/l para el presente estudio). La remoción de sulfatos a través de formación de Yeso se debe a que se tiene una alta concentración de sulfatos, más el calcio añadido por la piedra caliza eleva el producto de solubilidad más allá de la saturación. Esto ocurre para concentraciones de sulfato mayores a 2500 mg/l (Aubé & Zinck, 2003).

Con respecto a las bacterias sulfato reductoras, la evidencia indica que estas no consiguieron adaptarse y utilizar la Corteza de Pino como fuente de carbono. En el muestreo del día 107 se apreció un cambio considerable en la concentración de sulfato y en el oxígeno disuelto, pero esto se debió a que las bacterias fueron trasladadas desde la columna hacia los envases receptores donde tenía fuentes de carbono (residuos de la corteza de pino), no existía flujo y por tanto no existía oxigenación extra al encontrarse en un recipiente cerrado sólo recibiendo el agua tratada de las columnas.

Existieron diversos factores que contribuyeron para que las bacterias no encontraran adecuado el medio donde fueron inoculadas. El principal es que las columnas contaban con un flujo vertical, esto implica que existe una mayor oxigenación que un flujo horizontal y esto, combinado con la velocidad del flujo y el efecto gravitacional no favorece a que las bacterias se fijen en la fuente de carbono. Además, la corteza de pino se encuentra en una porción reducida de la columna y por tanto a medida que se mueven las bacterias tienen menos probabilidades de encontrar una fuente de carbono adecuada.

5.2. Trabajo Futuro y Recomendaciones

Para investigar la corteza de pino u otro medio orgánico con BSR se recomienda utilizar filtros que tengan flujo horizontal para que, en el caso de que las bacterias se desplacen, no salgan de las columnas. En caso de que se requiera utilizar un flujo vertical es conveniente aumentar el volumen de materia orgánica en la columna y si es posible mezclarlo con otro medio filtrante de manera que la fuente de carbono se encuentre en diversas partes de la columna, y así, en caso de que viaje la bacteria, pueda encontrar otra fuente de carbono.

Si se mezcla un medio filtrante como piedra caliza con corteza de pino se recomienda tratar el medio orgánico inoculándolo con bacterias antes de que fuese instalado en la columna. Esto se puede preparar digiriendo la materia orgánica con un medio adecuado para el enriquecimiento de las bacterias, de esta forma no habrá necesidad de abrir la columna para inocular.

Como estudios futuros se propone estudiar la corteza de pino y otros medios orgánicos como medio adsorbente de metales, específicamente buscando la remoción de los elementos que no cumplieron con la norma de riego. En este mismo sentido se puede estudiar las bacterias sulfato reductoras y sus fuentes de carbonos más adecuadas, estimando el nivel de enriquecimiento de las mismas, de manera que pueda soportar distintos sentidos de flujo, velocidades y disposiciones. También es importante conocer los rangos tolerables de oxígeno en las bacterias, ya que son facultativas no estrictas y por lo tanto pueden requerir de soluciones que disminuyan el oxígeno disuelto que posea el agua a tratar. Todo esto con el objetivo de conocer los parámetros óptimos que permitan implementar la inclusión de BSR en sistemas naturales de remediación.

Sin duda otro estudio futuro debe contemplar la implementación de un filtro o humedal construido a una mayor escala que permita soslayar interrogantes tales como:

- granulometría a utilizar,
- transporte de sólidos asociado,
- reaireación del sistema,
- selección de los medios filtrantes a partir de la geología del sector,

- análisis hidrológico que permita diseñar la obra,
- rangos de caudales operativos, además de estimar el riesgo de falla.

Estos factores permitirán hacer una obra civil con la menor cantidad de intervenciones, de manera que sea eficiente energéticamente, su impacto ambiental sea moderado y su evaluación económica sea rentable con respecto a todos los beneficios que aportaría poder utilizar aguas provenientes de drenajes ácidos de mina.

6. Bibliografía

- ATSDR. (2007). Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades, división de toxicología y medicina ambiental. *Resumen de salud Pública: Arsénico*, CAS# 7440-38-2.
- Aubé, B., & Zinck, J. (2003). Lime Treatment of Acid Mine Drainage in Canada. *Brazil-Canada Seminar of Mine Rehabilitation*. Florianópolis .
- Bailey, S., & otros, e. (1999). A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water research*, 11(33), 2469-2479.
- Blázquez, y. o. (2011). Evaluation and comparison of the bioabsorption process of copper ions onto olive stones and pine bark. *Journal of industrial and engineering chemistry*, 824-833.
- Blowes, D. W., Ptacek, C. J., Jambor, J., & CG, W. (2003). *The Geochemistry of Acid Mine Drainage*. Oxford: DH Heinrich; KT Karl.
- Brix, H. (1999). Use of constructed wetland in water pollution control: Historical development, present status, and future perspectives. *Water Sciences Technology*.
- Cao, J., Zhang, G., Mao, Z., Fang, Z., & Yang, C. (2009). Precipitation of valuable metals from bioleaching solution by biogenic sulfides. *Mineral engineering*, 289-295.
- Christensen, B., Laake, M., & Lien, T. (1996). Treatment of acid mine water by sulfate-reducing bacteria; Results from a bench scale experiment. *Water Research*, 7(30), 1617-1624.
- Chutia, P., Kato, S., Kojima, T., & Satokawa, S. (2009). Arsenic adsorption from aqueous solution on synthetic zeolites. *Journal of Hazardous Materials*, 1(162), 440-447.
- Daus, B., Wennrich, R., & Weiss, H. (2004). Sorption materials for arsenic removal from water: a comparative study. *Water Research*, 12(38), 2948-2954.
- Dueñas, C. G. (2010). *Generación de Drenaje Ácido*. Iquique: Fundación Chile.
- Eguía. (1998). *Uso de arcillas en la eliminación de iones metálicos por filtración*. Monterrey: Universidad autónoma de Nuevo León.
- Elizalde-Gonzalez, M., Mattusch, J. E., & Wennrich, R. (2001). Sorption on natural solids for arsenic removal. *Chemical Engineering Journal*, 1(81), 187-195.

- Elizondo, A., & Herrera, E. (2012). *Evaluación de medios filtrantes para la reducción de sulfuro de hidrógeno en el mejoramiento de la calidad del biogás*. Honduras: Departamento de Ambiente y Desarrollo.
- Gaballah, I., & Kilbertus, G. (1998). Recovery of heavy metals ions through decontamination of synthetic solutions and industrial effluents using modified barks. *Journal of Geochemical Exploration*, 1-3(62), 241-286.
- Germida, J., & Janzen, H. (1993). Factors affecting the oxidation of elemental sulfur in soils. *Fertilizer Research*, 1-2(35), 101-114.
- Gibert, O., de Pablo, J., Cortina, J. L., & Ayora, C. (2002). Treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria using permeable reactive barriers: A review from laboratory to full-scale experiments. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 4(1), 327-333.
- Gray, N. (1997). Environmental impact and remediation of acid mine drainage: A management problem. *Environmental Geology*, 1(30), 62-70.
- He, M., Wang, Z., & Tang, H. (1997). Spatial and temporal patterns of acidity and heavy metals in predicting the potential for ecological impact on the Le An river polluted by acid mine drainage. *Science of the Total Environment*, 1(206), 67-77.
- Henry, D. (2015). *Remoción de arsénico de agua contaminada utilizando zeolita y piedra caliza: Evaluación experimental de la capacidad de remoción y su potencial aplicación como medios de soporte en humedales artificiales*. Universidad de Chile, Departamento de Ingeniería Civil.
- Herrera, L., Hernández, J., & Sáez, C. (s.f.). *Opciones tecnológicas asociadas a las bacterias reductoras de sulfato*. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas.
- Jenkins, D. (2002). *Water Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc.
- Johnson, D., & Hallberg, K. (2005). Acid mine remediations options. *Science of the Total Environment*, 1-2(338), 3-14.
- Kadlec, R., & Knight, R. (1996). *Treatment Wetlands*. Boca Ratón: CRC Press.
- Kaksonen, A., & Puhakka, J. (2007). Sulfate reduction based bioprocessed for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. *Engineering of Life Science*, 6(7), 541-564.
- Leiva, E. (2013). *Proyecto Mejoramiento río Azufre en la cuenca del río Lluta*. Informe Técnico, Pontificia Universidad Católica de Chile.

- Leiva, E. (2015). *Biotic sulfate reduction processes for AMD treatment from elemental sulfur mine*. Memoria para optar al grado de Doctor, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Leiva, E., Rámila, C., Vargas, I., Escauriaza, C., Bonilla, C., Pizarro, G., . . . Pastén, P. (2013). Natural attenuation process via microbial oxidation of arsenic in high andean watershed. *Science of the Total Enviroment*, 490-502.
- Leiva, E., Rámila, C., Vargas, I., Escauriaza, C., Bonilla, C., Pizarro, G., . . . Pastén, P. (2014). Natural Attenuation process via microbial oxidation of arsenic in the high Andena Watershed. *Science of the Total Enviroment*, 490-502.
- Lizama, K., Fletcher, T. D., & Sun, G. (2011b). Removal processes for arsenic in constructed wetlands. *Chemosphere*, 8(84), 1032-1043.
- Lizama, K., Fletcher, T. D., & Sun, G. (2012). The efect of the sustrate media n teh removal of arsenic, boro and iron from an acidic wastewater in planted column reactors. *Chemical Engineeing Journal*(179), 119-130.
- Maltos, R. (2015). *Trabajo dirigido*. Universidad de Chile, Ingeniería Civil.
- Montes, S., Montes, G. F., Valenzuela, M., Valero, E., & Díaz, O. (2009). Evaluation of the Adsorption-Desorption process from concentrating heavy metal ions from acidic wastewaters. *Adsorption Science & Tecnology*, 27(5), 513-521.
- Neculita, C., Zagury, G., & Bussiere, B. (2007). Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate-reducing bacteria: Critical review and research needs. *Journal of Enviromental Quality*, 1(36), 1-16.
- Postawa, A. &. (2013). Best practice guide on the control of Iron and Manganese in water supply. *IWA Publishing*.
- Sheoran, A. &. (2006). Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlans: A critical review. *Minerals Engineeing*, 19(2), 105-116.
- Siljeg, M., Foglar, L., & Gudelj, I. (2012). The removal of arsenic with natural anda modified clinoptilolite. *Chemestry anda Ecology*, 1(28), 75-87.
- Silva, A., Lima, R., & Leao, V. (2012). Mine water treatment with limestone for sulfate removal. *Jorunal of hazardous materials*, 45-55.
- Vergara, P. (2015). *Optimización de la remoción de metales pesados presentes en riles mineros mediante el uso de bioadsorbentes*.
- Watson, J. (1989). *Perfomance espectations and loadings rates for constructed wetlands*.

WHO. (1996). *guidelines for drinking water quality* (2nd ed., Vol. 2). Geneva: World Health Organization.

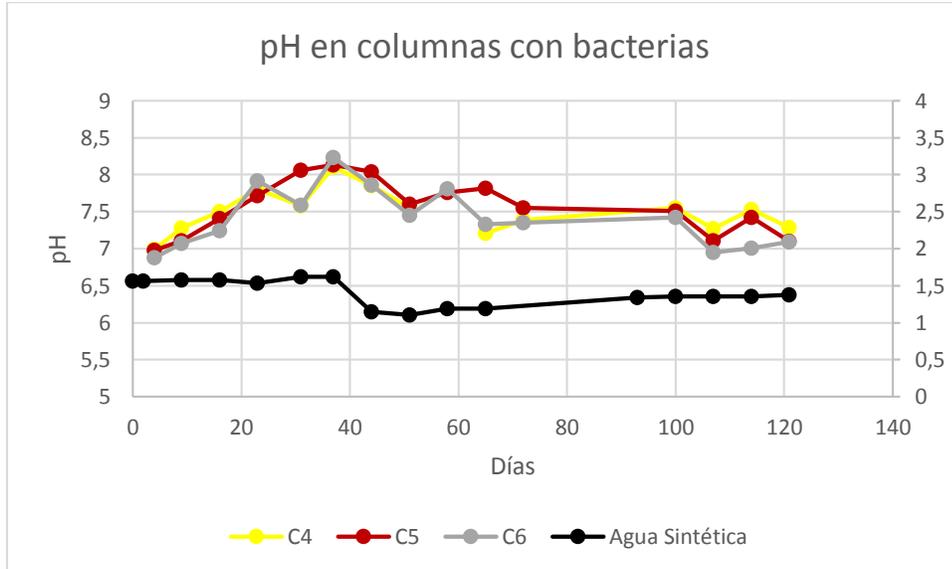
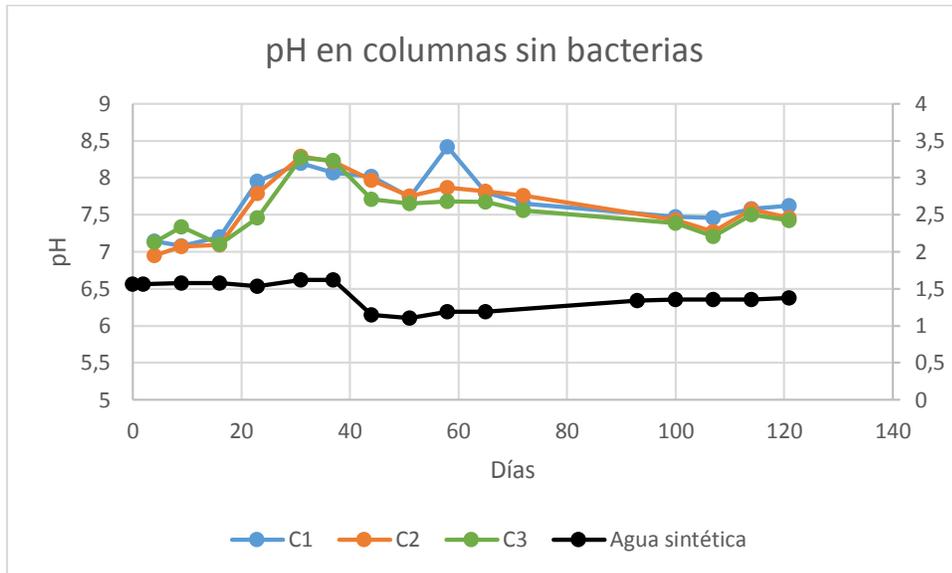
Widdel, F., Musat, F., Knitterl, K., & Galushko, A. (2007). *Anaerobic degradation of hydrocarbons with sulfate as electron acceptor*. Cambridge: Cambridge University Press.

Ye, Z., Lin, Z., Whiting, S., De Souza, M., & Terry, n. (2003). Possible use of constructed wetland to remove selenocyanate, arsenic and boron from electric utility wastewater. *Chemosphere*, 9(59), 1571-1579.

Anexos

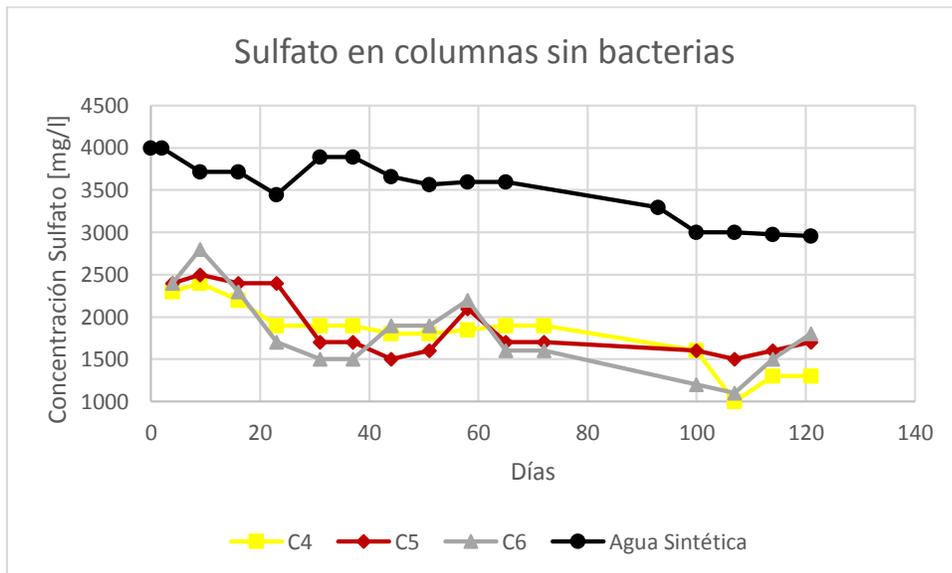
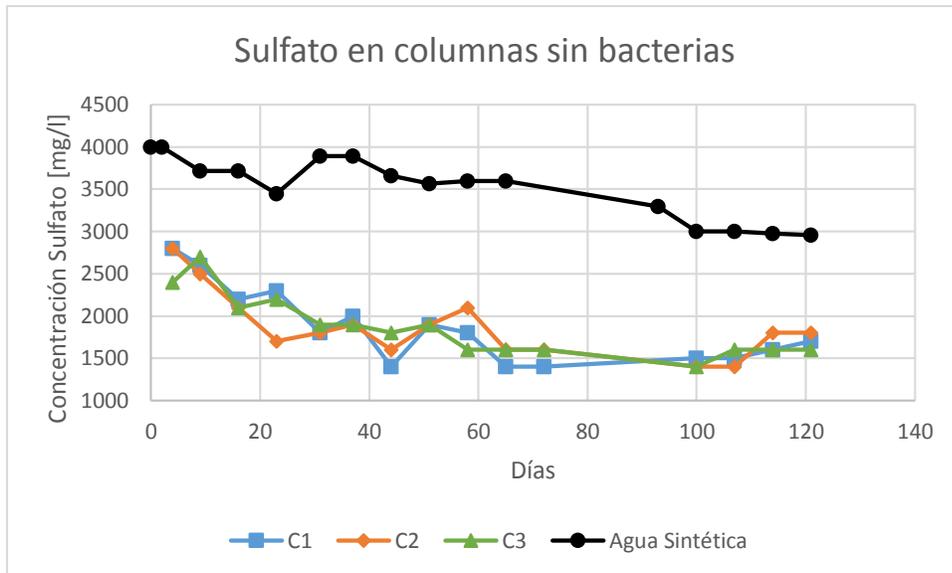
Anexo A: Registro pH en columnas

El eje de la izquierda corresponde al pH que obtuvieron las columnas C1, C2 y C3, mientras que el eje de la derecha corresponde al pH que se tuvo de agua sintética y se encuentra representado mediante la línea de color negro.



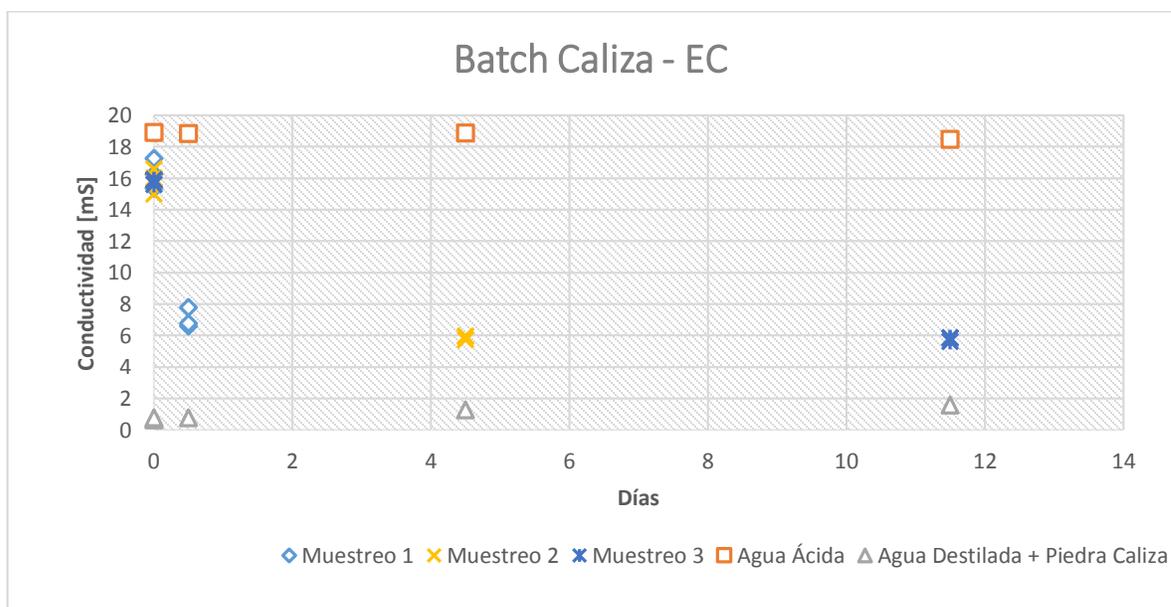
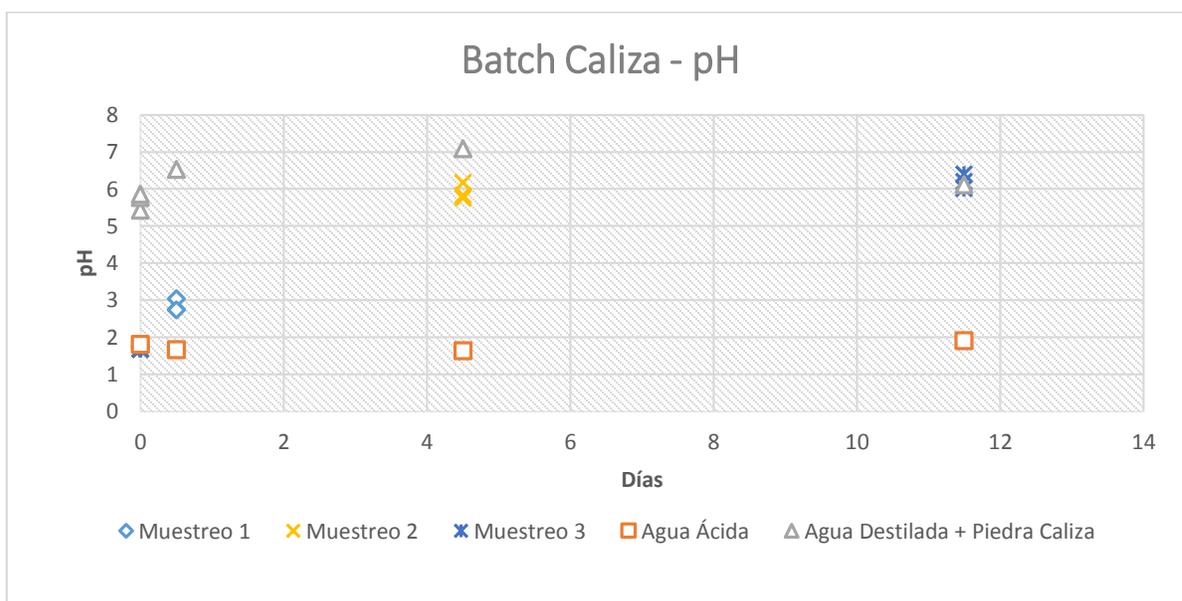
Anexo B: Registro Sulfato en columnas

Los siguientes gráficos representan la concentración de sulfato en el agua sintética (línea negra) y lo obtenido en las columnas

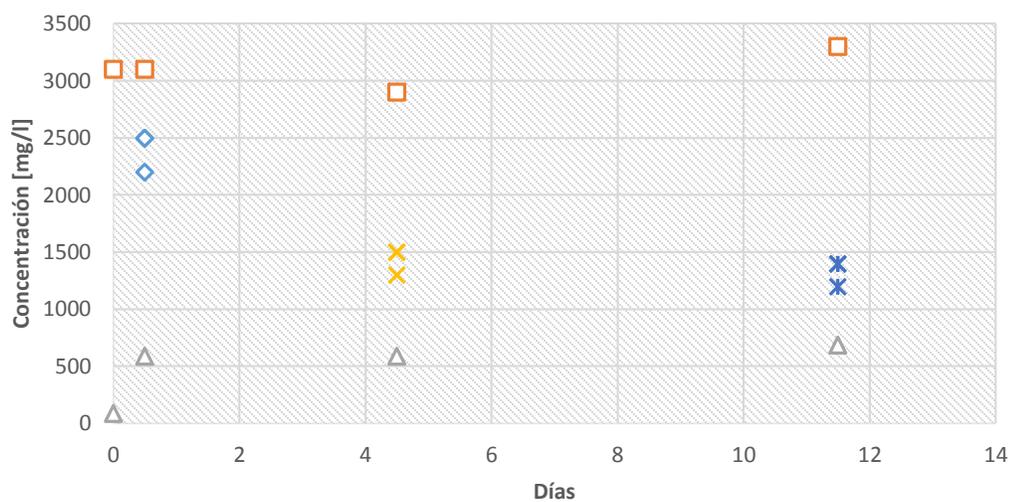


Anexo C: Registro Batch Caliza

Como los reactores son sistemas independientes, se muestran los valores obtenidos en el período antes de comenzar la experiencia y posteriormente para 12 horas, 4,5 días y 11,5 días. Las etiquetas de muestreo corresponden a los reactores de agua sintética con piedra caliza, mientras que los puntos negros corresponden al agua sintética sola y los grises al agua destilada con piedra caliza. Cabe destacar que en el tiempo cero, se grafican los 3 reactores con agua sintética, los 3 reactores con agua destilada y piedra caliza y los tres reactores de agua 9 reactores de agua sintética con piedra caliza. En el caso del sulfato no se grafica la concentración en el tiempo cero para los reactores con agua sintética y piedra caliza (muestreo 1, 2 y 3).



Batch Caliza - Sulfato



◆ Muestreo 1 × Muestreo 2 × Muestreo 3 □ Agua Ácida △ Agua Destilada + Piedra Caliza

Anexo D: Registro Batch Corteza Pino

En los batch de corteza de pino se grafican 2 muestreos con duplicados, además de un muestreo para el agua destilada con corteza de pino. En el tiempo cero, se grafican los 4 reactores, el agua tratada y el agua destilada con corteza de pino.

