



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

HUMEDALES CONSTRUIDOS DE FLUJO SUBSUPERFICIAL HORIZONTAL PARA  
REMOCIÓN DE ARSÉNICO Y HIERRO: ASOCIACIÓN Y FRACCIONAMIENTO EN  
LA FASE SÓLIDA

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
INGENIERO CIVIL

**JUAN ANTONIO MORALES CUEVAS**

PROFESORA GUÍA:  
KATHERINE LIZAMA ALLENDE

MIEMBROS DE LA COMISIÓN:  
GONZALO MONTES ATENAS  
ANA LUCÍA PRIETO SANTA

SANTIAGO DE CHILE  
2019

RESUMEN DE LA MEMORIA PARA OPTAR AL  
TÍTULO DE INGENIERO CIVIL  
POR: JUAN ANTONIO MORALES CUEVAS  
FECHA: JUNIO DE 2019  
PROF. GUÍA: KATHERINE LIZAMA ALLENDE

## **HUMEDALES CONSTRUIDOS DE FLUJO SUBSUPERFICIAL HORIZONTAL PARA REMOCIÓN DE ARSÉNICO Y HIERRO: ASOCIACIÓN Y FRACCIONAMIENTO EN LA FASE SÓLIDA**

En este trabajo se analiza la asociación y distribución del As y Fe en la fase sólida de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala de laboratorio, en cuatro ubicaciones dentro de cada uno, variando en profundidad y distancia longitudinal. Los humedales se dividen en cuatro tipos de celdas según la presencia o ausencia de *Phragmites australis*, y tipo de sustrato: piedra caliza o zeolita.

El fraccionamiento se obtuvo a través del procedimiento de extracción secuencial propuesto por Tessier (1979), consistente en cinco fases: intercambiable, carbonatos, óxidos, materia orgánica y residual, donde esta última corresponde al remanente al final de las primeras cuatro etapas. La distribución se analizó a partir de las concentraciones totales de As y Fe obtenidas con el método EPA3051A (2007).

La concentración total promedio de As fue mayor en las celdas de caliza ( $790 \pm 1063$  [ $mg\ As/kg$ ]) que en las de zeolita ( $164 \pm 173$  [ $mg\ As/kg$ ]), presentando valores mayores en las entradas que en las salidas, mientras que la del Fe fue en promedio mayor en la zeolita ( $22 \pm 3$  [ $g\ Fe/kg$ ]) que en la caliza ( $19 \pm 16$  [ $g\ Fe/kg$ ]), con valores más uniformemente distribuidos. Para ambos contaminantes, los valores fueron mayores en celdas vegetadas. El fraccionamiento de As y Fe mostraron depender principalmente del tipo de sustrato. En las celdas de caliza, las fases más abundantes son la residual ( $55 \pm 17\%$  As,  $80 \pm 12\%$  Fe, en promedio) y óxidos ( $32 \pm 23\%$  As,  $18 \pm 11\%$  Fe), mientras que en las de zeolita la tendencia se mantiene con porcentajes  $54 \pm 21\%$  As y  $89 \pm 3\%$  para la fase residual, y de  $32 \pm 20\%$  As y  $7 \pm 2\%$  Fe para la fase asociada a óxidos.

A partir de un análisis crítico se concluyó que los porcentajes asociados a la fase residual se encuentran sobreestimados debido a limitaciones del método relacionadas con los sustratos, por lo que la fase más abundante correspondería a la asociada a óxidos. Esto implica que el principal mecanismo de remoción para ambos tipos de sustrato fue la coprecipitación de As con oxihidróxidos de Fe. La vegetación mostro un comportamiento exclusor, por lo que se debe evaluar su rol como fitoestabilizadora.

*We walk the plank with our eyes wide open.*

# Agradecimientos

Quiero agradecer a mis padres, Juan Carlos y Regina, quienes, desde que tengo uso de razón, me han apoyado incondicionalmente en todas y cada una de mis decisiones. Ustedes fueron las alas que me han llevado hasta aquí, dándome las opciones que alguna vez se les fueron negadas. Aprecio infinitamente el amor y valores que me han infundido en estas casi tres décadas.

Agradezco profundamente a mi profesora guía Katherine Lizama por darme la oportunidad de trabajar bajo su tutela. Siendo desde su ayudante a memorista, siempre mostró preocupación por mi formación profesional, y fue un privilegio haberla ayudado en este innovador proyecto. También a los profesores de la comisión, Ana Lucia y Gonzalo Montes, por las correcciones y aportes a este trabajo.

Agradecer a Luz, mi compañera de vida, con quien he crecido como persona en estos últimos años. Gracias por ser mi vela y timón en este mar de decisiones y procesos, y por mostrarme una mejor versión de mí mismo.

Agradecer a todas las personas que conocí en mi largo período universitario, y que aportaron a mi crecimiento como persona y profesional. A mis profesores de hidráulica, por ser una referencia de vocación. A mis amigos de larga trayectoria por aguantarme tanto tiempo. A mis compañeros hidráulicos, personas con un futuro brillante por delante, y a quienes me enorgullece llamar colegas, por su compañía y amistad. A todas las personas, con las que compartí carretes, días (noches) de estudio, terrenos, sufrimientos y alegrías; muchas gracias.

Gracias a Vivi, por la compañía en este largo proceso, por el apoyo constante en las actividades e incondicional voluntad. También a Jaqueline, por siempre hacerse un tiempo para escuchar a los alumnos.

Agradezco al Proyecto Fondecyt 11150401 por el financiamiento para llevar a cabo los experimentos. Al Centro de Excelencia de Geotermia de los Andes (CEGA) de la Universidad de Chile por la realización de los análisis químicos, en especial a Verónica y Erika, por su buena disposición. También agradezco al laboratorio de calidad del agua del Departamento de Ingeniería Hidráulica y Ambiental (DIHA) de la Pontificia Universidad Católica de Chile por disponer de sus equipos para las digestiones.

# Tabla de Contenido

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	Contenido del informe .....	3
2	Revisión bibliográfica .....	4
2.1	Arsénico .....	4
2.1.1	Caracterización y ocurrencia .....	4
2.1.2	Especiación en sistemas acuáticos .....	5
2.2	Arsénico como contaminante .....	6
2.2.1	Vías de ingreso.....	7
2.2.2	Manifestaciones clínicas.....	7
2.2.3	Población afectada .....	8
2.2.4	Normativa y recomendaciones .....	9
2.3	Hierro .....	10
2.3.1	Caracterización y ocurrencia .....	10
2.3.2	Interacción con arsénico.....	12
2.4	Sistemas de tratamiento para arsénico .....	13
2.4.1	Coagulación-Floculación.....	13

2.4.2	Adsorción e intercambio iónico .....	14
2.4.3	Membranas.....	14
2.4.4	Humedales construidos .....	15
3	Metodología .....	19
3.1	Descripción de los humedales construidos a escala de laboratorio .....	19
3.1.1	Sustratos.....	21
3.1.2	Vegetación.....	23
3.1.3	Agua tratada .....	23
3.1.4	Remoción de contaminantes .....	24
3.2	Muestreo de sustratos .....	26
3.3	Obtención de concentraciones totales .....	28
3.4	Obtención de fraccionamiento.....	28
3.4.1	Descripción de fases.....	30
3.5	Determinación de concentraciones .....	33
4	Resultados y discusión .....	35
4.1	Acumulación de As y Fe en los medios.....	35
4.2	Fraccionamiento de As y Fe.....	38
4.2.1	Caliza.....	40
4.2.2	Zeolita.....	42
4.3	Comparación con trabajos anteriores.....	44
4.3.1	Estudio en sedimentos fluviales.....	44
4.3.2	Estudio en humedales construidos .....	46

4.4	Análisis crítico de los fraccionamientos .....	48
5	Conclusiones .....	51
6	Recomendaciones .....	52
6.1	Metodología.....	52
6.2	Implicancias para CWs.....	53
	Bibliografía .....	54
	ANEXOS .....	60
A	Detalle metodología EPA 3051A .....	61
B	Detalle metodología SEP .....	64

# Índice de Figuras

Figura 2-1. Especiación del arsenito (a) y arseniato (b) en función del pH (Jaque, 2017). .....	5
Figura 2-2. Diagrama E <sub>H</sub> -pH para especies acuosas de As en el sistema As-O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O a 25 °C y presión total de 1 <b>bar</b> (Smedley & Kinniburgh, 2002).....	6
Figura 2-3. Concentraciones de As en agua potable de Antofagasta y previa a tratamiento (Cáceres, 1999).....	9
Figura 2-4. Línea temporal: cambios de recomendaciones y normativas (US EPA, 2001; Ferreccio, 2013; Lagos, 2017).....	10
Figura 2-5. Solubilidad del Fe en función del pH y Eh a 25 °C y 1 atm. <b>CT, S = 10 – 4 M</b> , <b>CT, CO<sub>3</sub> = 10 – 4 M</b> (Snoeyink & Jenkins, 1980).....	11
Figura 2-6. Diagrama pe-pH para el sistema As-Fe-H <sub>2</sub> O a 25 °C. Líneas punteadas indican zonas de estabilidad de las especies de Fe. <b>CT, As = 4 [μM]</b> , <b>CT, Fe = 100 [μM]</b> (Bang et al., 2005). .....	13
Figura 2-7. Esquema de un CW de SF (Kadlec & Wallace, 2009). .....	16
Figura 2-8. Esquema de un CW de HSSF (Kadlec & Wallace, 2009). .....	17
Figura 2-9. Rutas de transformación del As en humedales construidos, en negrita se destacan los más importantes (Lizama et al., 2011b). .....	18
Figura 3-1. Esquema de los humedales construidos utilizados (Jaque, 2017).....	20
Figura 3-2. Montaje experimental del sistema de humedales. Foto: Ignacio Jaque. ....	20
Figura 3-3. Zonación de hidróxidos de Fe. Izquierda: 46 días de operación. Derecha: 150 días de operación. Fotos: Ignacio Jaque.....	25
Figura 3-4. Extensión de la zonación de hidróxidos de Fe en humedal de caliza. Un año y dos meses de operación. Foto: Pablo Echeverría. ....	26



Figura 3-5. Esquema de los puntos de muestreo en los HSSF CW. Ubicaciones nombradas según zona, según distancia longitudinal y profundidad. In: Entrada, Out: Salida, Up: Superficial, Down: Profunda.....	27
Figura 3-6. Proceso de muestreo de sustratos. Humedal de caliza sin vegetación. ....	27
Figura 3-7. Envases de plástico utilizados en el almacenamiento de muestras. Izquierda: muestra extraída en bruto, derecha: muestra molida y tamizada.....	28
Figura 4-1. Concentraciones totales de As en la fase sólida, expresadas en microgramos de As por kilogramo de muestra para las cuatro celdas. Barras de error correspondientes a valores máximos y mínimos. ....	35
Figura 4-2. Concentraciones totales de Fe en la fase sólida, expresadas en gramos de Fe por kilogramo de muestra para las cuatro celdas.....	36
Figura 4-3. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) para CW de caliza con vegetación. Barras de error corresponden a valores máximos y mínimos. ....	40
Figura 4-4. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) en CW de caliza sin vegetación. ....	41
Figura 4-5. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) en CW de zeolita con vegetación. ....	42
Figura 4-6. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) en CW de zeolita sin vegetación. ....	43
Figura A-1. Pesaje de muestras en balanza analítica. ....	61
Figura A-2. Recipientes sellados, junto a las soluciones ácidas utilizadas.....	62
Figura A-3. Recipientes dispuestos en su carrusel dentro del MARS. ....	62
Figura A-4. Proceso de tamizado y aforado. ....	63
Figura B-1. Filtración de fase líquida .....	66

# Índice de Tablas

Tabla 3-1. Composición química piedra caliza (Jaque, 2017).....	21
Tabla 3-2. Composición química de zeolita clinoptilolita-morderita (Jaque, 2017). .....	22
Tabla 3-3. Composición del agua sintética representativa de Río Azufre. Modificado de Echeverría (2018).....	24
Tabla 3-4. Volumen de agua tratada por cada celda en el total del periodo de operación (Echeverría, 2018).....	24
Tabla 3-5. Resumen del SEP utilizado, en base a 2 [g] de suelo seco. Modificado de Bugueño et al. (2014).....	29
Tabla 3-6. Especificaciones de instrumentos para determinación de As y Fe. Información entregada por el Laboratorio de Cromatografía, CEGA. ....	33
Tabla 4-1. Concentraciones en [ <i>mg/kg</i> ] de As y Fe en <i>Phragmites australis</i> plantadas en las celdas estudiadas y sus respectivos factores de traslocación y bioconcentración. ....	38
Tabla 4-2. Resultados de fraccionamiento obtenidos por Bugueño et al. (2014) en comparación a resultados más favorables entre las celdas estudiadas. ....	46

# Lista de abreviaciones

APR: Agua potable rural.

CW: Humedal construido. Por sus siglas en inglés: *Constructed wetland*.

DAM: Drenaje ácido minero.

DGA: Dirección General de Aguas.

DIC: Departamento de Ingeniería Civil.

Eh: Potencial redox.

HSSF: Flujo subsuperficial horizontal. Por sus siglas en inglés: *Horizontal subsurface flow*.

TRH: Tiempo retención hidráulica.

IARC: Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. Por sus siglas en inglés: *International Agency for Research on Cancer*.

LOD: Límite de detección. Por sus siglas en inglés: *Limit of Detection*

LOQ: Límite de cuantificación. Por sus siglas en inglés: *Limit of Quantification*

OMS: Organización Mundial de la Salud.

SEP: Procedimiento de extracción secuencial. Por sus siglas en inglés: *Sequential Extraction Procedure*

SF: Flujo superficial. Por sus siglas en inglés: *Surface Flow*.

SSF: Flujo subsuperficial. Por sus siglas en inglés: *Subsurface Flow*.

US EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. Por sus siglas en inglés: *United States Environmental Protection Agency*.

# 1 Introducción

## 1.1 Motivación

El arsénico (As) corresponde a un metaloide cuya presencia en aguas naturales representa un riesgo para la salud de la población que se abastece o entra en contacto con estas fuentes, dados sus efectos en la salud, que van desde dolores intestinales hasta el desarrollo de distintos tipos de cáncer (ATDSR, 2007), su movilidad en el medio acuoso y distribución en la corteza terrestre, posicionándose como un problema a nivel mundial. En el norte de Chile, una de las zonas más áridas del mundo, las cuencas de los ríos Lluta, San José y Loa son conocidas por sus altas concentraciones de As y otros contaminantes como el hierro (Fe) y boro (B). En particular, en el Río Azufre, tributario del Río Lluta, la presencia de este contaminante está asociada tanto al Volcán Tacora (DGA, 2008) como a la influencia de las actividades mineras alguna vez realizadas en la zona (Leiva et al., 2014). Desde la década de los 70's, luego del caso de intoxicación por As reportado en Antofagasta (Borgoño et al., 1977), se cuentan con plantas de tratamiento que abastecen de agua potable a las zonas de Antofagasta, Calama y Arica, entre otras ciudades, ubicadas en el norte chileno. Sin embargo, estas plantas no proveen a los sectores rurales dado su difícil acceso y lejanía con respecto a las urbes.

Una tecnología alternativa de remoción a evaluar corresponde al uso de sistemas de tratamiento no convencional o naturales, específicamente humedales construidos (CW, por sus siglas en inglés), los cuales buscan potenciar características intrínsecas observadas en humedales naturales, las que permitirían remover contaminantes tales como el As y Fe a través de variados mecanismos, influenciados por la biota presente en ellos. Este tipo de sistemas de tratamiento tiene la ventaja, con respecto a los convencionales, de precisar un mínimo uso de combustibles fósiles, mantenimiento, prescindir del uso de químicos, y una menor dificultad en términos de operación (Kadlec & Wallace, 2009).

Para evaluar el desempeño de esta alternativa, en la última década se ha investigado el efecto que tienen parámetros como el tipo de sustrato, presencia de vegetación, carga superficial y tiempo de operación (Lizama et al., 2014; Jaque, 2017; Fuentealba, 2017) en la eficiencia y capacidad de remoción de As y otros contaminantes, particularmente en CW de flujo subsuperficial horizontal (HSSF, por sus siglas en inglés), para lo cual distintas configuraciones de estos sistemas de tratamiento fueron construidos a escala

de laboratorio y operados con agua contaminada con concentraciones de contaminantes similares a los del Río Azufre (Jaque, 2017).

Mediante la construcción, operación y estudio de los HSSF CW se logró analizar la eficiencia de remoción de As y Fe, resultando en altas remociones (>97%) para todas las celdas (Echeverría, 2018). También se observó la formación de oxihidróxidos de Fe en las secciones superiores de los humedales, más en los de caliza que en los de zeolita, y una alta proliferación y extensión de las raíces de las macrófitas. También se observó una mayor influencia, en términos de remoción y cambios en parámetros de calidad de agua, por parte del tipo de sustrato por sobre la influencia de la vegetación, aunque hasta ahora no se ha profundizado en los mecanismos de remoción involucrados.

La motivación de este trabajo de título es analizar los mecanismos por los cuales el As y el Fe podrían haber sido retenidos en los HSSF CW montados por Jaque (2017) durante el tratamiento de un afluente con concentraciones de As y Fe similares a las del Río Azufre.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo General

Este trabajo tiene como objetivo el análisis de la asociación de As y Fe en la fase sólida de HSSF CW de caliza y zeolita, a partir de su fraccionamiento y distribución en muestras de dichos sustratos, obtenidas a distintas distancias longitudinales y profundidades de cada celda.

### 1.2.2 Objetivos específicos

1. Analizar la distribución de As y Fe en la fase sólida a través de la cuantificación de concentraciones totales.
2. Analizar el fraccionamiento de As y Fe en la fase sólida a través del procedimiento de extracción secuencial propuesto por Tessier (1979).
3. Identificar los mecanismos de remoción de As y Fe de acuerdo con los resultados obtenidos y su comparación con estudios similares.
4. Realizar un análisis crítico de los resultados a partir de las características del procedimiento de extracción secuencial escogido y de las muestras analizadas

## 1.3 Contenido del informe

### Capítulo 1: Introducción

En este capítulo se presentan la motivación y los objetivos del presente trabajo.

### Capítulo 2: Revisión bibliográfica

En este capítulo se introduce el As como contaminante objetivo a partir de la descripción de su naturaleza química, ocurrencia natural y antropogénica, y el cómo puede afectar a la salud del ser humano. Asimismo, se describe el Fe y su importancia en la movilización del As. Luego, se describen los sistemas de tratamiento más usados para la remoción de As y Fe, haciendo énfasis en un sistema de tratamiento natural: los humedales construidos.

### Capítulo 3: Metodología

En este capítulo se describe el sistema de humedales a estudiar y las metodologías necesarias para obtener las concentraciones totales y el fraccionamiento de As y Fe en las muestras de suelo.

### Capítulo 4: Resultados y discusión

En este capítulo se presentan y comparan concentraciones totales y fraccionamiento de As y Fe. Primeramente, se realiza un análisis general a partir de los porcentajes obtenidos, y después se detalla el comportamiento de cada celda. Además, se hace una comparación de los resultados obtenidos en dos estudios en los que se utilizó la misma metodología para el estudio del fraccionamiento del As.

### Capítulo 5: Conclusiones

En este capítulo se proponen los mecanismos predominantes para cada tipo de celda a partir de lo obtenido en los fraccionamientos, se realizan las observaciones más importantes sobre la aplicabilidad del proceso de extracción secuencial en las muestras estudiadas, y se indaga en las implicancias de los resultados en aspectos relacionados al diseño de humedales construidos para el tratamiento de aguas contaminadas con As y Fe.

### Capítulo 6: Recomendaciones

En este capítulo se realizan recomendaciones relacionadas a la metodología y a la elección de sustrato de humedales construidos en base a los resultados.

## 2 Revisión bibliográfica

### 2.1 Arsénico

#### 2.1.1 Caracterización y ocurrencia

El As es un metaloide perteneciente al grupo V de la tabla periódica, con un peso atómico de 74,9 [ $g/mol$ ], está presente en la atmósfera, suelos y rocas, aguas naturales y organismos. Este puede combinarse con especies metálicas y no metálicas para formar especies orgánicas e inorgánicas (Caussy, 2003). Sus estados de oxidación son -3, 0, +3 y +5, donde estos dos últimos son los más frecuentes (Garellick et al., 2007). Es altamente reactivo, y se puede encontrar en la naturaleza formando compuestos orgánicos, inorgánicos o como gas arsina. De estos, los compuestos inorgánicos, tales como arsenitos y arseniatos, han tenido una mayor significancia toxicológica dada la cantidad de estudios que se han enfocado en sus efectos en la salud humana (ATDSR, 2007).

Su ocurrencia en el ambiente está ligada tanto a variables hidrogeoquímicas, es decir, a su disponibilidad natural y movilidad, como a intervenciones antropogénicas, tales como la minería (Smedley & Kinniburgh, 2002). También es posible encontrar altas concentraciones de As en suelos por su uso en pesticidas, herbicidas, fertilizantes y su presencia en material particulado generado por la quema de combustibles fósiles (Mandal & Suzuki, 2002).

En la corteza terrestre, este metaloide se encuentra ampliamente distribuido de forma natural, con una abundancia que varía entre los 1,5 a 3 [ $mg/kg$ ] (Mandal & Suzuki, 2002), presentándose como elemento principal en más de 200 minerales, incluyendo arseniatos, arsenitos, arseniuros, sulfuros y óxidos, donde se destacan las dos últimas categorías por su abundancia relativa (Smedley & Kinniburgh, 2002).

Dada las similitudes en el comportamiento químico entre el As y el azufre, es común encontrar altas concentraciones de As en minerales sulfurados, siendo la pirita ( $FeS_{2(s)}$ ) el más abundante. La pirita se puede formar en ambientes reductores de baja temperatura, siendo inestable bajo condiciones oxidantes, y que al desestabilizarse puede formar óxidos de Fe, junto con la liberación de acidez, iones sulfato y constituyentes traza como el As. Los óxidos también corresponden a minerales que pueden contener altas concentraciones de As, tanto integrado estructuralmente como

sorbido (Garelick et al., 2007). Adicionalmente, el As podría ser sorbido en los bordes de arcillas y superficies de calcita (Goldberg & Glaubig, 1988).

En sistemas acuáticos el As se encuentra formando especies inorgánicas como oxianiones de As (III) y As (V), pero también puede haber especies orgánicas donde las aguas hayan sido fuertemente impactadas por contaminación industrial (Smedley & Kinniburgh, 2002). En aguas naturales, las concentraciones de As se encuentran entre 1 a 10  $[\mu\text{g}/\text{l}]$ , aumentando hasta 100 a 5.000  $[\mu\text{g}/\text{l}]$  en zonas mineralizadas o de actividad minera (Mandal & Suzuki, 2002).

### 2.1.2 Especiación en sistemas acuáticos

La especiación del As en aguas naturales se encuentra controlada principalmente por el pH y potencial redox ( $E_H$ ). En condiciones oxidantes, el sistema ácido base predominante es el del arseniato ( $\text{AsO}_4^{-3}$ ), mientras que en condiciones reductoras es el sistema arsenito ( $\text{AsO}_3^{-3}$ ), cuyas especiaciones en función del pH se muestran en la Figura 2-1. Adicionalmente, en la Figura 2-2 se muestra el diagrama de  $E_H$ -pH donde se puede observar la relación entre estos dos sistemas ácido bases y el potencial redox.

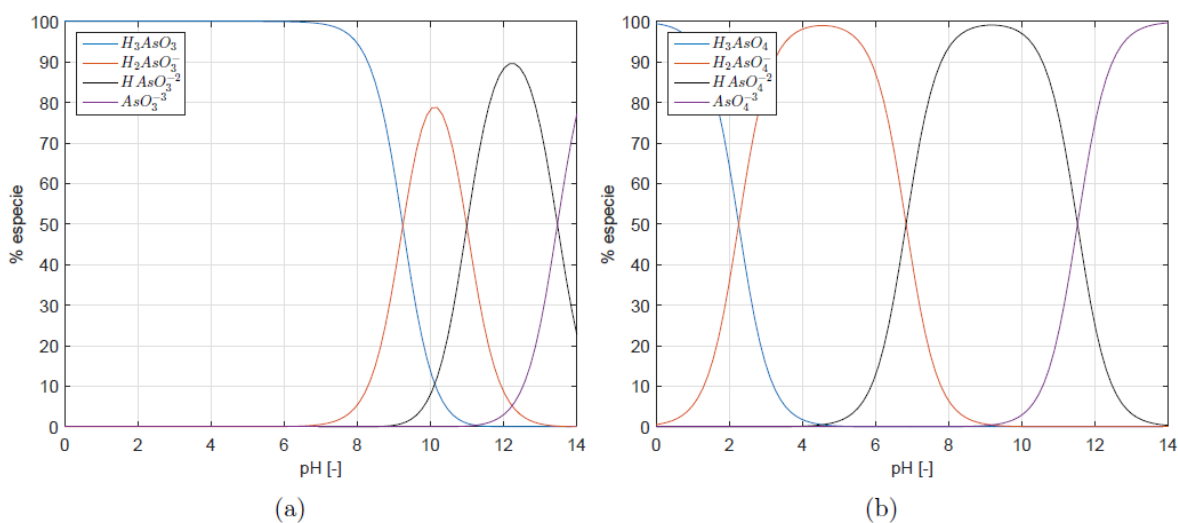


Figura 2-1. Especiación del arsenito (a) y arseniato (b) en función del pH (Jaque, 2017).



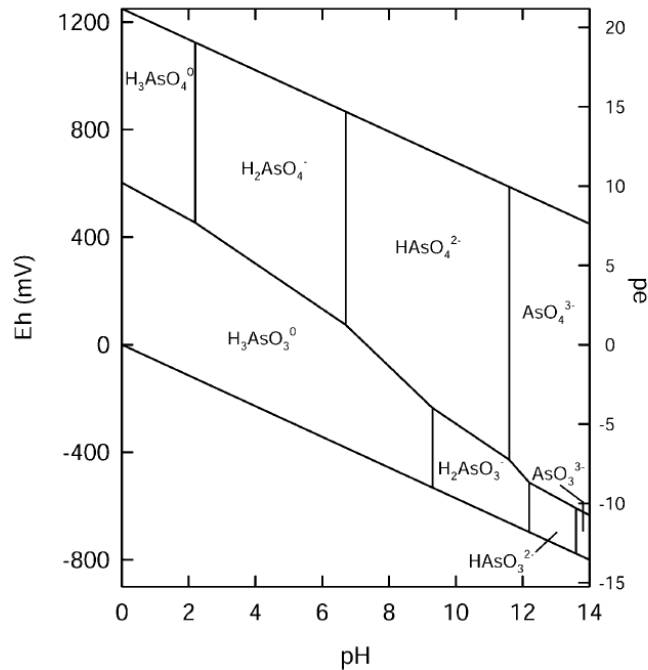


Figura 2-2. Diagrama E<sub>H</sub>-pH para especies acuosas de As en el sistema As-O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O a 25 [°C] y presión total de 1 [bar] (Smedley & Kinniburgh, 2002).

## 2.2 Arsénico como contaminante

El As ha sido conocido como tóxico para la biota desde tiempos antiguos (Hughes et al., 2011). Se sabe de su uso en pesticidas, herbicidas, venenos para rata e incluso para humanos, entre otros usos. Su efectividad y sigilo -dado que es incoloro e inodoro- le dieron la fama del “rey de los venenos”, pero su popularidad descendió una vez que se comenzaron a desarrollar técnicas cada vez más sofisticadas para su detección a principio del siglo XIX (Hughes et al., 2011).

No todas las especies de As tiene la misma toxicidad, sino que esta dependerá, principalmente, de la valencia, forma, solubilidad y concentración (ATSDR, 2007). Sin contar al gas arsina (estado oxidación -3, y el más tóxico), los compuestos de As se pueden ordenar, de mayor a menor toxicidad, como inorgánicos trivalentes, orgánicos trivalentes, inorgánicos pentavalentes, compuestos orgánicos pentavalentes y As elemental (Gorby, 1988), por lo que este trabajo se enfoca principalmente en las especies inorgánicas. Al momento de ser ingeridas, las especies solubles de As son absorbidas desde el tracto digestivo, y luego son mayormente eliminadas a través de la orina durante

los primeros días, aunque parte de la fracción inorgánica podría mantenerse en el cuerpo durante días, meses o incluso más (ATDSR, 2007).

### 2.2.1 Vías de ingreso

Dada su abundancia y movilidad en el medio ambiente, las rutas por las cuales el As puede entrar al cuerpo humano incluyen comida, agua, aire, y en el caso de niños, hasta ingesta de suelo (ATSDR, 2007).

La exposición al As por vía aérea es la menor, en términos de concentración y población afectada (Mandal & Suzuki, 2002). Las concentraciones en el aire son menores en las zonas más rurales, aumentando en zonas urbanas, y se acentúan en las vecindades de producciones industriales, tales como la extracción de cobre (OMS, 2011).

La comida y el agua corresponden a las principales rutas de entrada del As al cuerpo. En el caso de la comida, las concentraciones varían ampliamente dependiendo de la cantidad de mariscos y pescados que estén incluidos en la dieta, ya que estos pueden contener una mayor concentración total de As (ATDSR, 2007). En general, dependiendo del tipo de comida, la fracción de As inorgánico rodea el 25% del As total (OMS, 2011). Se ha estimado que un estadounidense, como promedio, ingiere entre 12 y 14 [ $\mu\text{g}$ ] al día (Yost et al., 1998), mientras que en sectores contaminados por As este valor puede llegar a alrededor de los 50 [ $\mu\text{g}$ ] al día (Ohno, 2007). Por otro lado, en el agua -lo cual incluye la ocupada para cocinar y preparar bebidas- el As se presenta principalmente en sus formas inorgánicas, por lo que con ingerir dos litros de agua al día con una concentración de 10 [ $\mu\text{g}/\text{L}$ ] o mayor la posicionaría como la principal ruta de ingreso al cuerpo (OMS, 2011).

### 2.2.2 Manifestaciones clínicas

Los síntomas o efectos en la salud del As inorgánico están ligados a la duración de exposición, dosis y tipo de As. Bajo esta perspectiva, las manifestaciones clínicas pueden ser descritas como agudas o crónicas (Gorby, 1988).

Una intoxicación aguda implica exposición a altas concentraciones de As en poco tiempo, como, por ejemplo, contacto con gas arsina, y sus síntomas comienzan a aparecer media hora después de la exposición (Gorby, 1988). Dependiendo de la dosis, los síntomas incluyen irritación pulmonar y garganta seca, en el caso que el As haya sido inhalado, o desórdenes en los aparatos gastrointestinales, sistema nervioso, fallas renales y hepáticas, si es que la vía fue por ingesta, sus síntomas más reconocibles corresponden

a vómitos, irritación estomacal e intestinal, dolor abdominal, diarrea, debilidad y dolor muscular, entre otros (ASTDR, 2007; OMS, 2011).

Una intoxicación crónica corresponde a una exposición prolongada en el tiempo de concentraciones relativamente más bajas que en el caso agudo, pero afectan a una mayor población alrededor del mundo (Mandal & Suzuki, 2002). Sus síntomas se manifiestan a largo plazo, entre los cuales se encuentran trastornos en la piel (queratosis, melanosis), cáncer de piel, hígado y pulmón, y enfermedades vasculares, entre otras patologías, donde la aparición o no de estas depende a la susceptibilidad individual (ASTDR, 2007).

### 2.2.3 Población afectada

A nivel mundial se han reportado variados casos de contaminación por ingesta crónica de As, tales como los incidentes de Región Lagunera (México, periodo de exposición entre 1963-1983), Monte Quemado (Argentina, 1955-1970), Taiwán (1961-1985), entre otros, los cuales fueron posteriormente estudiados y asociados con las patologías presentadas por la población (Mandal & Suzuki, 2002). Un caso emblemático corresponde al de Bangladesh, el cual sigue vigente, y afecta a más de 25 millones de personas por el uso de aguas subterráneas contaminadas (Carotenuto et al., 2014).

En Chile este problema se ha presentado principalmente en la zona norte, específicamente en las cuencas del Río Lluta y del Río Loa, ubicadas en las regiones XV de Arica y Parinacota, y II de Antofagasta, respectivamente. En la región de Antofagasta se tiene registro de la intoxicación crónica por As de 130 mil habitantes en la capital de la región, durante el periodo comprendido entre los años 1958 y 1970 (Borgoño et al., 1977). En la Figura 2-3 se muestra el historial de las concentraciones de As a las cuales estuvo expuesta la población entre los años 1952-1997, donde se observa el aumento de concentración que provocó la intoxicación. La raíz de este aumento fue la creciente población en la región, y, por lo tanto, la necesidad de buscar nuevas fuentes. Dado esto, el Río Toconce, tributario al Río Loa, pasa a ser una de las principales fuentes para consumo humano, con una concentración de As entre los 800-900 [ $\mu\text{g}/\text{l}$ ] (Borgono et al., 1977). También se aprecia la disminución progresiva en los niveles presentes en el agua potable, forzada en parte por el cambio de normativa nacional durante estos años (NCh409), hasta llegar a la concentración actual de 10 [ $\mu\text{g}/\text{l}$ ] en el año 2003 (Ferrecio & Sancha, 2006).

## ARSÉNICO EN AGUA POTABLE DE ANTOFAGASTA

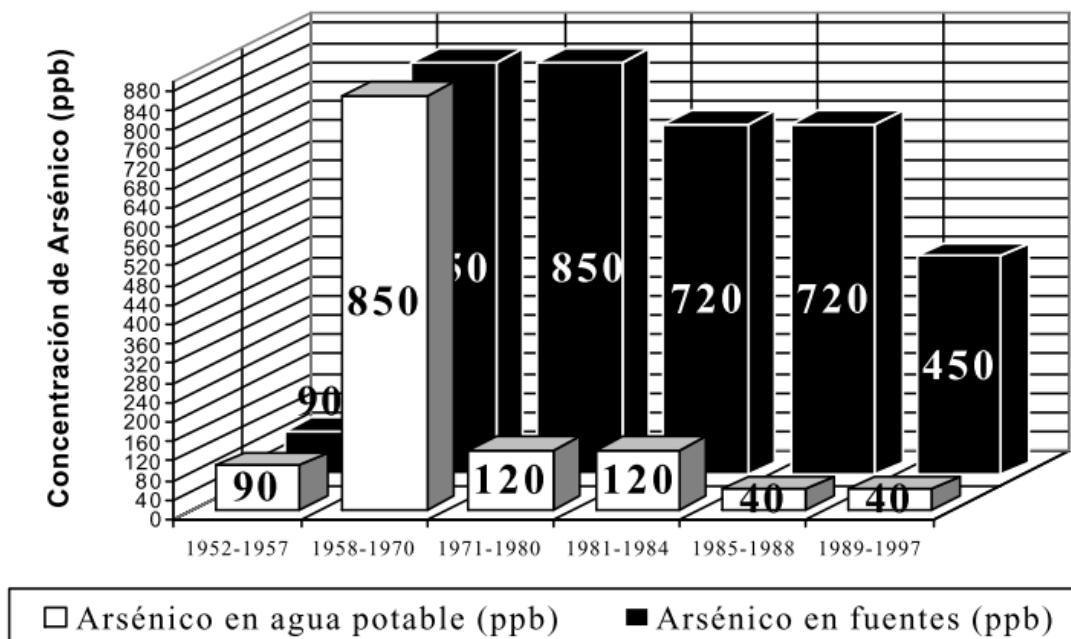


Figura 2-3. Concentraciones de As en agua potable de Antofagasta y previa a tratamiento (Cáceres, 1999).

Otro caso es el Río Azufre, ubicado en la XV región de Arica y Parinacota, y principal tributario del Río Lluta. Según estudios realizados en la zona, las concentraciones de As en el Río Azufre pueden llegar a 3,5 [mg/L] y el pH fluctúa entre 1,5 y 2 (DGA, 2008). El As presente en esta cuenca se asocia a la actividad hidrotermal del Volcán Tacora y a los vestigios de la mineras de azufre ubicadas a los pies de éste (Leiva et al., 2014).

### 2.2.4 Normativa y recomendaciones

La OMS ha recomendado desde el año 1993 una concentración máxima de As de 10 [ $\mu\text{g}/\text{l}$ ] para agua de consumo humano. Este valor es estimado a partir de la evidencia toxicológica, principalmente por su relevancia como elemento cancerígeno, clasificado actualmente en el grupo I según la IARC, y las dificultades prácticas de obtener concentraciones menores por parte de los sistemas de tratamiento convencionales (OMS, 2011).

Para el territorio nacional, las normativas de agua potable (NCh409/1, 2005) y de riego (NCh 1333, 1978) son aplicables en este contexto, ya que participan en el control de la exposición de la población al As. Estas normativas establecen un límite máximo de 10  $[\mu g/L]$  y 100  $[\mu g/L]$ , respectivamente.

En la Figura 2-4 se muestra el historial de modificaciones que ha tenido la normativa nacional de agua potable en conjunto con algunos acontecimientos históricos sobre regulación de As a nivel mundial. Aquí se puede observar un desfase de 10 a 20 años con respecto a las recomendaciones de la OMS (Ahumada, 2003).

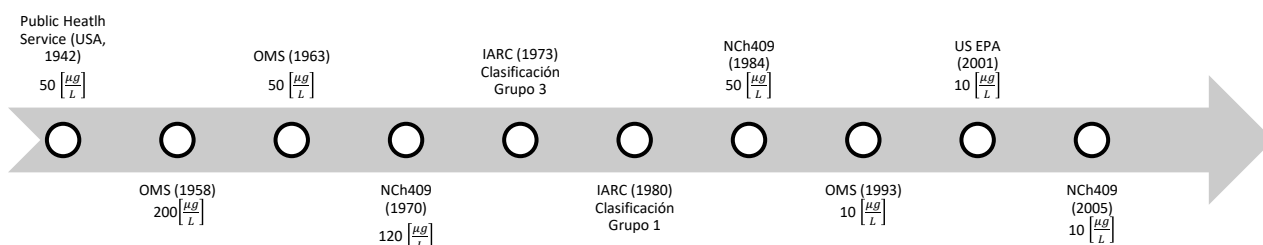


Figura 2-4. Línea temporal: cambios de recomendaciones y normativas (US EPA, 2001; Ferreccio, 2013; Lagos, 2017).

## 2.3 Hierro

El Fe es relevante en este trabajo por sus interacciones con el As y su rol en los mecanismos de remoción de éste. Sin embargo, también es importante caracterizarlo desde un punto de vista toxicológico dadas las altas concentraciones implicadas.

### 2.3.1 Caracterización y ocurrencia

El Fe corresponde al segundo elemento más abundante de la corteza terrestre. Tiene estados de oxidación 0, +2 y +3, encontrándose mayormente en los dos últimos formando óxidos, sulfuros, hidróxidos y carbonatos (OMS, 2003).

En ambientes acuáticos, el Fe forma hidróxidos de Fe acuosos y sólidos, pero en ambientes ácidos y oxidantes tiende a presentarse como ion libre (Snoeyink & Jenkins, 1980). En la Figura 2-5 se presenta el diagrama Eh-pH para el Fe en presencia de sulfuro y carbonato, donde se observa que la formación de sulfuros insolubles se da en ambientes anóxicos, mientras que el carbonato de Fe sólo se da en Eh específicos de ambientes básicos.

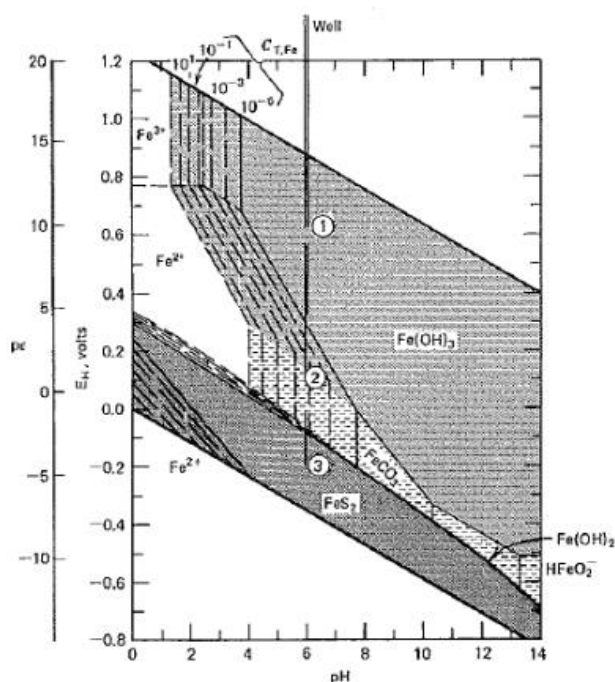


Figura 2-5. Solubilidad del Fe en función del pH y Eh a 25 [°C] y 1 atm.  $C_{T,S} = 10^{-4} [M]$ ,  $C_{T,CO_3} = 10^{-4} [M]$  (Snoeyink & Jenkins, 1980).

En ríos se han reportado concentraciones promedio de 0,7 [mg/L], mientras que en agua potable las concentraciones son normalmente menores a 0,3 [mg/L], aunque estos valores pueden aumentar por el uso de sales de Fe como coagulantes de Fe en tratamiento de aguas y cañerías de acero para la distribución de agua (OMS, 2003).

Este metal es un elemento traza esencial para los organismos vivos. En particular, en el ser humano, el Fe es necesario para la síntesis de proteínas transportadoras de oxígeno, mientras que la deficiencia de Fe deriva en enfermedades como la clorosis o “enfermedad verde” (Abbaspour et al., 2014).

En lo que a normativa respecta, la US EPA ha recomendado una concentración máxima de 300 [ $\mu\text{g}/\text{L}$ ] para consumo humano (Kadlec & Wallace, 2009), valor también adoptado por la NCh409/1 dentro de sus criterios para elementos esenciales para la salud. La OMS no plantea un valor máximo relacionado con la salud humana, pero menciona que concentraciones sobre 300 [ $\mu\text{g}/\text{L}$ ] pueden generar cambios en el sabor y color del agua. Además, recomienda una ingesta mínima de 10 a 50 [ $\text{mg}/\text{día}$ ] dependiendo de la edad y sexo (OMS, 2003). Por su parte, la NCh1333 establece un límite máximo de 5 [ $\text{mg}/\text{L}$ ] para agua de riego.

### 2.3.2 Interacción con arsénico

En la naturaleza es posible encontrar As asociado a óxidos y sulfuros de Fe, los cuales controlan la movilidad de éste (Smedley & Kinniburgh, 2002). En tecnologías convencionales para remoción de As es frecuente el uso de Fe, dado que la formación de oxihidróxidos de Fe genera la adsorción/coprecipitación de As, siendo incluso uno de los métodos más usados para el abatimiento por su efectividad y costo relativo a otras tecnologías (Zhang et al., 2004). También se ha estudiado el uso del Fe como cobertura de otros materiales adsorbentes como el carbón activado (Payne & Abdel-Fattah, 2005).

En humedales construidos se ha documentado la correlación positiva entre la remoción de Fe y As, siendo la sorción-coprecipitación de As por hidróxidos de Fe uno de los mecanismos de remoción más importantes. En la Figura 2-6 se presentan de forma superpuestas las especiaciones del As y Fe en un diagrama pe-pH, donde se puede observar que la precipitación de hidróxido de Fe, y por lo tanto, la remoción de As a través de este mecanismo, se daría en ambientes alcalinos (Lizama et al., 2011b). Adicionalmente, los sulfuros de Fe que se puedan formar también sorben As (Dixit & Hering, 2003; Lizama, 2013).

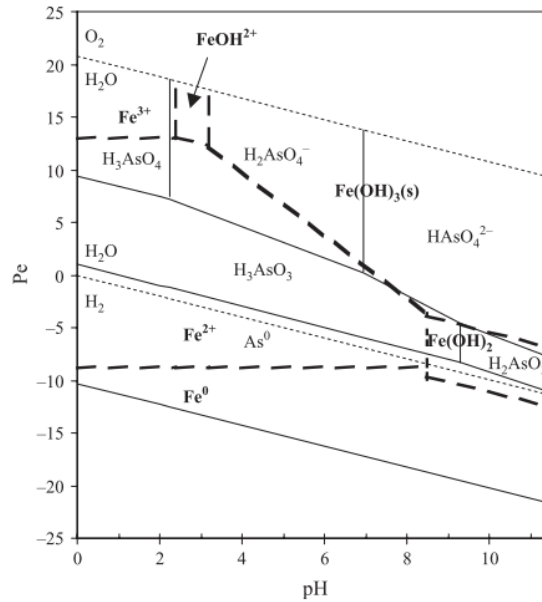


Figura 2-6. Diagrama pe-pH para el sistema As-Fe-H<sub>2</sub>O a 25 °C. Líneas punteadas indican zonas de estabilidad de las especies de Fe.  $C_{T,As} = 4 [\mu M]$ ,  $C_{T,Fe} = 100 [\mu M]$  (Bang et al., 2005).

## 2.4 Sistemas de tratamiento para arsénico

En la actualidad existen variadas tecnologías para remoción de As del agua, los que pueden ser agrupados en procesos de coagulación/floculación, adsorción e intercambio iónico, membranas, tratamientos biológicos, oxidación avanzada y humedales construidos (Carotenuto et al., 2014). La elección de la tecnología a utilizar está condicionada por la concentración y especiación de As, por lo que es frecuente la necesidad de más de una tecnología (Henke, 2009). A continuación, se explican los aspectos básicos de algunos de los métodos más usados.

### 2.4.1 Coagulación-Floculación

Entre los coagulantes más usados se encuentran los sulfatos de Fe y aluminio, y cloruro e hidróxido férrico (Ngo et al., 2002). Para que la coagulación sea efectiva, el As debe estar en su estado oxidado (pentavalente), por lo que es frecuente recurrir a un proceso de pre-oxidación (Sancha, 2006). Al final del proceso, se obtienen agregados de partículas que pueden removidos posteriormente con procesos de filtración o sedimentación (DGA, 2008).



Algunas características de esta tecnología son su dependencia del pH, donde su óptimo de funcionamiento es entre los valores 5-7, y la necesidad de otras tecnologías para completar el tratamiento (Carotenuto et al., 2014), donde su porcentaje de remoción puede llegar a valores mayores al 99% en el caso de realizarse pretratamiento con  $\text{Cl}_2$  (Ng et al., 2004).

#### 2.4.2 Adsorción e intercambio iónico

La adsorción corresponde a la remoción de iones y especies disueltas a partir de su acumulación en la superficie de un sólido. Las fuerzas de atracción entre las moléculas y el sólido (adsorbentes) pueden ser fuerzas de Van der Waals, fuerzas electrostáticas o enlaces químicos (Carotenuto et al., 2014). Entre los adsorbentes más convencionales para remoción de As se encuentran el carbón activado, oxihidróxidos de metal y resinas para intercambio iónico, aunque el uso de zeolita también se encuentra en aumento (Ng et al., 2004). El intercambio iónico es un tipo de remoción por adsorción, donde los aniones de As disueltos se intercambian con los aniones, generalmente iones de cloruro, contenidos en una resina. El cloruro es liberado a la solución, y el As ocupa el sitio disponible. Eventualmente, el cloruro de la resina se agota y ésta deja de captar otros aniones (Choong, Chuah, Robiah, Gregory Koay, & Azni, 2007).

Esta tecnología permite la remoción tanto de As (III) como As (V), aunque cada uno en un pH óptimo distinto (Ng et al., 2004). Otros aspectos para considerar corresponden al costo de los adsorbentes, su necesidad de regeneración o reemplazo, y los desechos producidos por el tratamiento (Carotenuto et al., 2014)

#### 2.4.3 Membranas

Esta tecnología consiste en el uso de presión para forzar el flujo de agua a tratar a través de una membrana, que, dependiendo de la selectividad requerida, puede ser microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración u osmosis inversa. En micro y ultrafiltración, la remoción se da por medio de filtración física, mientras que en nanofiltración y osmosis inversa el proceso es difusión (Carotenuto et al., 2014). El tratamiento por membranas puede llegar a una remoción mayor al 99%, y tal como la adsorción, no necesita que el As se encuentre como partícula, como es el caso de la coagulación/floculación (DGA, 2008).

Entre las desventajas del uso de membranas para la remoción de As se encuentra su costo, la disposición de residuos y la pérdida de agua asociada a la colmatación del sistema y disminución de flujo (Choong et al., 2007).

#### 2.4.4 Humedales construidos

Los métodos hasta ahora mencionados corresponden a tecnologías convencionales, correspondientes a procesos unitarios de plantas de tratamiento. Sin embargo, una alternativa o complemento a estas tecnologías son los sistemas de tratamiento naturales o no convencionales, los cuales, a diferencia de las plantas de tratamiento convencionales, pueden ser emplazados en sectores aislados, dado que son relativamente simples de construir, operar y mantener. En particular, los humedales construidos (CW, por sus siglas en inglés) constituyen unas de las tecnologías no convencionales menos costosas, desde el punto de vista energético y operacional. Al igual que un humedal natural, un CW es un sistema donde interactúan agua, un sustrato o medio de soporte y vegetación, pero que, a diferencia del natural, este es construido por el ser humano con un objetivo específico. (Kadlec & Wallace, 2009). El sustrato cumple la función de dar soporte a la vegetación, aunque también puede ser responsable de la remoción de contaminantes por medio de variados mecanismos (Lizama et al., 2011b), mientras que la vegetación puede remover contaminantes a través de su incorporación (proceso llamado fitoextracción) o estabilizar los contaminantes, disminuyendo su movilidad en el medio ambiente (fitoestabilización). Ambos procesos corresponden a subtipos de fitorremediación (McGrath & Zhao, 2003).

El uso de humedales construidos para el tratamiento de agua se remonta a la segunda mitad del siglo XX, donde en un inicio la mayoría tenía como objetivo el tratamiento de aguas residuales domésticas y municipales. Sin embargo, desde la década de 1980, se comenzó a usar sistemas de humedales construidos para tratar drenaje ácido minero (DAM), particularmente para aumentar su pH y disminuir las concentraciones de Fe y manganeso (Kadlec & Wallace, 2009), generando conocimiento acerca de la remoción de metales usando esta tecnología (Lizama, 2013).

Existen distintas clasificaciones para los humedales construidos. Una de ellas es según el tipo de flujo en el que basan su funcionamiento, dividiéndose en dos grandes categorías: flujo superficial (SF, por sus siglas en inglés) y subsuperficial (SSF, por sus siglas en inglés). A continuación, se entrega una breve explicación de los dos tipos más usados (Kadlec y Wallace, 2009):

1. SF: Corresponden a humedales construidos donde el agua se encuentra en contacto directo con la atmósfera (ver Figura 2-7), contando con zonas de superficie libre o con vegetación flotante/emergente.

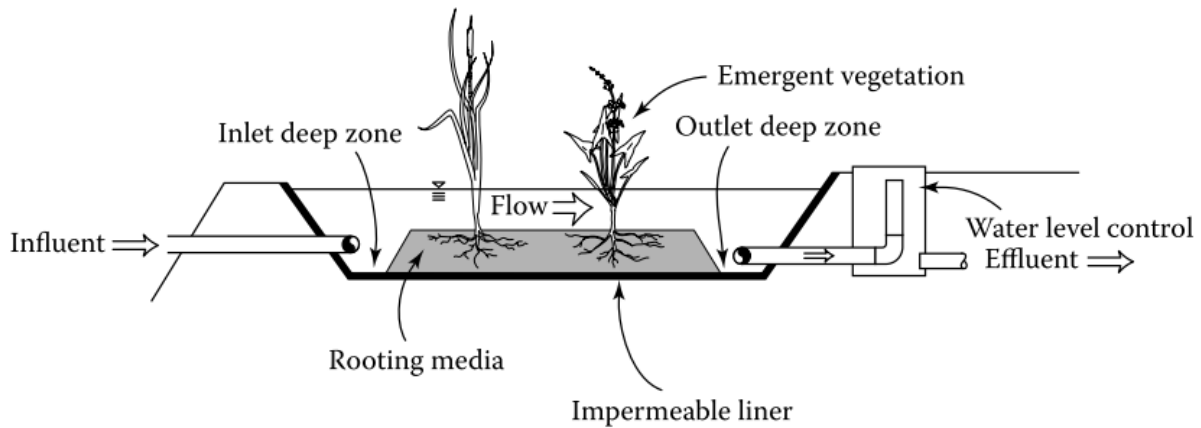


Figura 2-7. Esquema de un CW de SF (Kadlec & Wallace, 2009).

2. SSF: Tipo de CW donde el agua no tiene contacto directo con la atmósfera. El agua escurre a través del sustrato (ver Figura 2-8), el cual es típicamente una capa de grava o arena (medios permeables). Existen dos subtipos: flujo subsuperficial horizontal (HSSF, por sus siglas en inglés) y vertical (VF, por sus siglas en inglés). Con respecto a los humedales de flujo superficial, los SSF tienen una menor transferencia de oxígeno, pero se recomienda su uso en los casos en que se necesite aislar parcialmente el flujo.

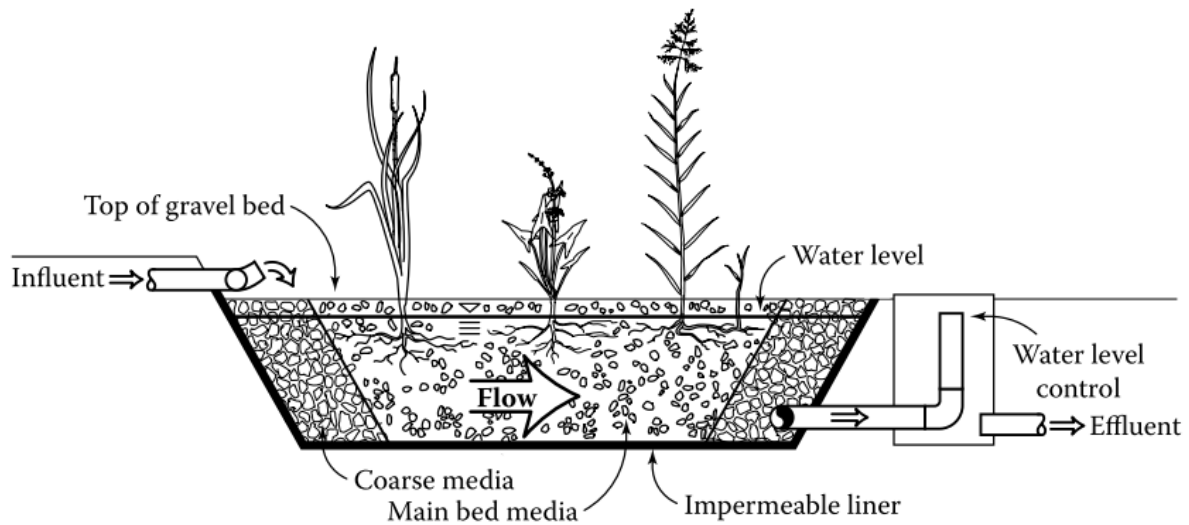


Figura 2-8. Esquema de un CW de HSSF (Kadlec & Wallace, 2009).

Además de esta clasificación, cada humedal posee un funcionamiento y mecanismos de remoción distintos dependiendo de múltiples factores, tales como el sustrato, especie de plantas y patrón de flujo (Kadlec & Wallace, 2009).

Con respecto a su uso en tratamiento de As, se han realizado variadas investigaciones para determinar el efecto de parámetros hidráulicos, tipo de sustrato, vegetación, entre otros, que permitan optimizar la remoción de este y otros contaminantes asociados. En la Figura 2-9 se presentan los procesos de remoción de As que pueden ocurrir en un CW, siendo la precipitación, coprecipitación y sorción en el medio los principales mecanismos, y donde el medio acumula la mayoría (98%) del As removido, mientras que el otro 2% lo retiene las plantas, dependiendo de la especie (Lizama et al., 2011b).

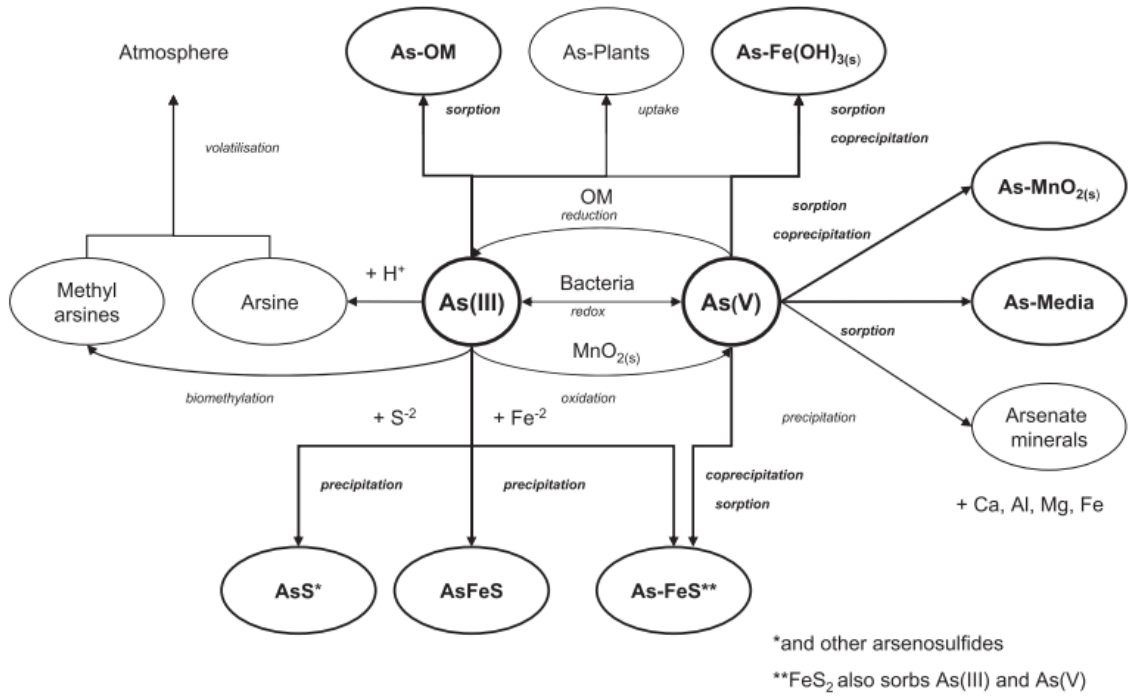


Figura 2-9. Rutas de transformación del As en humedales construidos, en negrita se destacan los más importantes (Lizama et al., 2011b).

### 3 Metodología

Con el fin de identificar los mecanismos de remoción responsables de remover As y Fe en humedales construidos, se realizaron análisis químicos en muestras de sustrato para determinar sus concentraciones totales y fraccionamiento en la fase sólida.

Para obtener las concentraciones totales se aplicó el método 3051A (US EPA, 2007), mientras que para el fraccionamiento de los dos contaminantes objetivo se siguió el procedimiento de extracción secuencial (SEP, por sus siglas en inglés) propuesto por Tessier et al. (1979) en los sustratos de los humedales construidos. Para la obtención de resultados, se realizaron las siguientes tareas:

1. Extracción de muestras de suelo de los humedales desde ubicaciones distintas, para así relacionar este parámetro con el fraccionamiento.
2. Determinación de concentraciones totales de As y Fe en las muestras extraídas a partir de digestión total, cada una con su respectivo duplicado.
3. Realizar el SEP en las muestras de suelo, con duplicados, y entregar extracciones y digestiones al Laboratorio de Cromatografía de Gas del CEGA, encargado de analizar concentraciones de As y Fe en fase acuosa.

#### 3.1 Descripción de los humedales construidos a escala de laboratorio

Los CW a estudiar corresponden a los construidos por Jaque (2017), los cuales consisten celdas de HSSF. Se contaron con cuatro ejemplares de humedales construidos para el muestreo, cada uno con una combinación distinta de sustrato (zeolita/caliza) y presencia/ausencia de vegetación.

Los medios de soporte corresponden a piedra caliza y zeolita, medios alternativos propuestos previamente por Lizama et al. (2011a) para la remoción de As y Fe. Para ambos casos se contó con humedales con presencia de vegetación (*Phragmites australis*) y sin vegetación, con el objetivo de estudiar la influencia de ésta en el funcionamiento del sistema (Jaque, 2017). Existen estudios que avalan el uso de plantas para la captación de As, ya sea por su incorporación a los tejidos o por la influencia de las raíces en la oxigenación de los sustratos como la captación de As por la formación de oxihidróxidos de Fe alrededor de estas, llamada “*iron plaque*” (Blute et al., 2004; Liu et al., 2006; Lizama et al., 2011a).

La configuración y dimensiones, común para todas las celdas, se muestra en la Figura 3-1, mientras que en la Figura 3-2 se muestra una imagen de la instalación, ubicada en dependencias del Departamento de Ingeniería Mecánica de la Universidad de Chile.

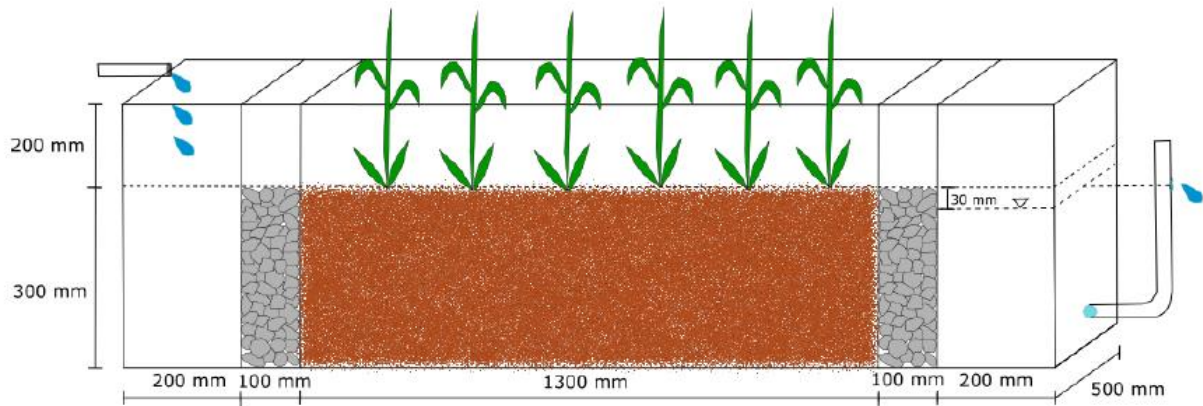


Figura 3-1. Esquema de los humedales construidos utilizados (Jaque, 2017).



Figura 3-2. Montaje experimental del sistema de humedales. Foto: Ignacio Jaque.

El sistema de humedales fue operado, por un periodo de 58 semanas en total, dividido en dos etapas. Durante este periodo, el afluente fue agua sintética representativa del Río Azufre, XV región de Arica y Parinacota, Chile. Las dos etapas se diferencian, principalmente, en un aumento en la concentración de As en el agua, el cual fue necesario debido a su alta remoción (>97%) presentada durante la primera etapa, y, la nula detección de As en el efluente (concentraciones menores a 0,036 [mg/L]) (Echeverría, 2018).

Algunas condiciones a señalar con respecto al funcionamiento de los humedales son: tiempos de retención hidráulicos (TRH), distintos según sustrato (7,5 días para sustratos de caliza y 9,5 días para los de zeolita); caudal de entrada de 19 L/día, igual para todos los humedales, correspondiente a una carga superficial de 20 mm/día (Jaque, 2017).

### 3.1.1 Sustratos

Se utilizaron dos tipos de sustratos para la confección de los humedales construidos; piedra caliza Guarello y zeolita clinoptilolita-mordenita, siendo  $\eta_{cal} = 0,43$  y  $\eta_{zeo} = 0,58$  sus porosidades, respectivamente.

- *Piedra Caliza Guarello*

La caliza corresponde a una de las rocas sedimentarias química más comunes y ampliamente distribuidas. Se encuentra formada mayormente por el mineral calcita ( $CaCO_3$ ), aunque puede contener impurezas de magnesio reemplazando al calcio en su estructura (Tarbuck & Lutgens, 2005). La caliza ocupada como uno de los sustratos fue extraída de la isla Guarello -por esto su nombre- la que se encuentra ubicada en el archipiélago Madre de Dios, en la XII región de Magallanes y Antártica Chilena. Su composición química se muestra en la Tabla 3-1.

Tabla 3-1. Composición química piedra caliza (Jaque, 2017).

Componente	Porcentaje Másico [%]
$CaCO_3$	94 - 98
$SiO_2$	0,4 - 1,0
$Fe_2O_3$	0,1 - 1,0
MgO o $MgCO_3$	0 - 0,1



El uso de caliza en humedales se ha recomendado para el ajuste de pH, como es el caso del tratamiento de drenaje ácido, provocando la precipitación de metales (Romero et al, 2004).

- *Zeolita Clinoptilolita-Mordenita*

Las zeolitas corresponden a un numeroso grupo de aluminosilicatos hidratados microporosos, del cual forman parte la clinoptilolita y mordenita. Se pueden encontrar en forma natural en ambientes hidrotermales por la alteración de rocas volcánicas, y que puede ser sintetizado (Erdem et al., 2004; Ng et al., 2004).

La estructura de las zeolitas consiste en un arreglo tridimensional de tetraedros formados por  $\text{SiO}_4^{-4}$  y  $\text{AlO}_4^{-5}$ , donde el reemplazo de  $\text{Si}^{+4}$  por  $\text{Al}^{+3}$  genera una carga negativa que es compensada por iones sodio, potasio o calcio, todos intercambiables y relativamente inocuos (Erdem et al., 2004). Por esta capacidad de intercambiador iónico, además de catalizador y tamiz, es que el uso de zeolita como material adsorbente para abatir As ha ido en aumento (Elizalde-Gonzalez et al., 2001; Choong et al., 2007), y en particular se ha corroborado su eficiencia de remoción en humedales construidos (Lizama et al., 2011c). La zeolita ocupada para la construcción de los humedales es la zeolita clinoptilolita-mordenita natural, originaria de la localidad de Quinamávida, VII región del Maule, Chile. La Tabla 3-2 muestra de su composición química.

Tabla 3-2. Composición química de zeolita clinoptilolita-morderita (Jaque, 2017).

Componente	Porcentaje Másico [%]
$\text{SiO}_2$	64,11
$\text{TiO}_2$	0,51
$\text{Al}_2\text{O}_3$	11,65
$\text{Fe}_2\text{O}_3$	2,53
MnO	0,03
MgO	0,66
CaO	3,42
$\text{Na}_2\text{O}$	0,75
$\text{K}_2\text{O}$	1,6
$\text{P}_2\text{O}_5$	0,03
PxC	14,64

### 3.1.2 Vegetación

La especie vegetal utilizada para el montaje experimental corresponde a la *Phragmites Australis*, también llamada carrizo o caña común, la cual es una planta macrófita acuática capaz de proliferar en ambientes con altas concentraciones de metales, y de incluso bioacumularlos (Bonanno & Lo Giudice, 2010).

Estas características son las que justifican su uso en distintas investigaciones sobre humedales construidos para remoción de As y otros metales/metaloideos en condiciones ácidas (Wang & Jia, 2009; Lizama et al., 2014). La bioacumulación de As en el carrizo común se concentra mayormente en las raíces, y solo una fracción menor es traslocada al tallo (Ghassemzadeh et al., 2008). Otras plantas que se han utilizado para la remoción de As son *Calamagrostis canadensis*, *Typha latifolia* y *Lemma* spp. (Kadlec & Wallace, 2009).

Las especies implantadas en estos humedales construidos pasaron por un periodo de acondicionamiento de 18 meses antes de comenzar la operación.

### 3.1.3 Agua tratada

El agua sintética que fue tratada por los humedales construidos emula la composición del Río Azufre, es decir, altas concentraciones de As y Fe, y bajo pH (Guerra et al., 2016). El primer periodo corresponde a las 26 semanas comprendidas entre el 16 de agosto 2016 y el 13 de febrero 2017, mientras que el segundo periodo a las 32 semanas entre el 4 de abril 2017 y el 9 de noviembre 2017. Las concentraciones para cada periodo se muestran en la Tabla 3-3.

Al final de la operación, se realizaron correcciones por evapotranspiración a las concentraciones obtenidas, con lo cual se pudo realizar una estimación del As y Fe retenido en cada celda.

El volumen tratado por cada celda (

Tabla 3-4) varió debido a los diferentes TRH, el cual es menor en presencia de raíces por la creación de rutas preferentes.

**Tabla 3-3. Composición del agua sintética representativa de Río Azufre. Modificado de Echeverría (2018).**

Parámetro	Unidad	Valores promedio	
		Etapas 1	Etapas 2
Mg <sup>+2</sup>	mg/L	129	-
Na <sup>+</sup>	mg/L	356	-
Ca <sup>+2</sup>	mg/L	296	-
K <sup>+</sup>	mg/L	67	-
Al total	mg/L	60	61
As total	mg/L	2,53	3,7
B total	mg/L	7	4
Fe total	mg/L	70	49
Mn total	mg/L	12	10
Pb total	mg/L	1,0	0,9
Zn total	mg/L	12	11
Cl <sup>-</sup>	mg/L	1054	-
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	mg/L	3283	-
pH	-	2	2

**Tabla 3-4. Volumen de agua tratada por cada celda en el total del periodo de operación (Echeverría, 2018).**

Celda	Volumen tratado [L]
CV	5500
CSV	5050
ZV	3950
ZSV	3300

### 3.1.4 Remoción de contaminantes

Los humedales mostraron remociones promedio de As y Fe mayores a 98% y 97%, respectivamente, los que se mantuvieron durante todo el periodo de operación (Echeverría, 2018). También se observaron cambios en los humedales, los cuales son de importancia para inferir los mecanismos de remoción. En las Figura 3-3 y Figura 3-4 se muestra el desarrollo de una zonación de oxihidróxidos de Fe en los humedales de caliza,

la cual se fue extendiendo desde la entrada hacia la salida, y a una tasa mayor en la superficie del lecho. Esta zonación también se presentó en los humedales construidos de zeolita, pero en una menor magnitud.

Otro resultado corresponde a la bioacumulación de As en los tejidos de las plantas extraídas de las celdas. Estas presentaron concentraciones mayores en las raíces, con valores promedio de 54 [*mg As/kg*] para las celdas de caliza, y 12 [*mg As/kg*] para las de zeolita.



**Figura 3-3. Zonación de hidróxidos de Fe. Izquierda: 46 días de operación. Derecha: 150 días de operación. Fotos: Ignacio Jaque.**

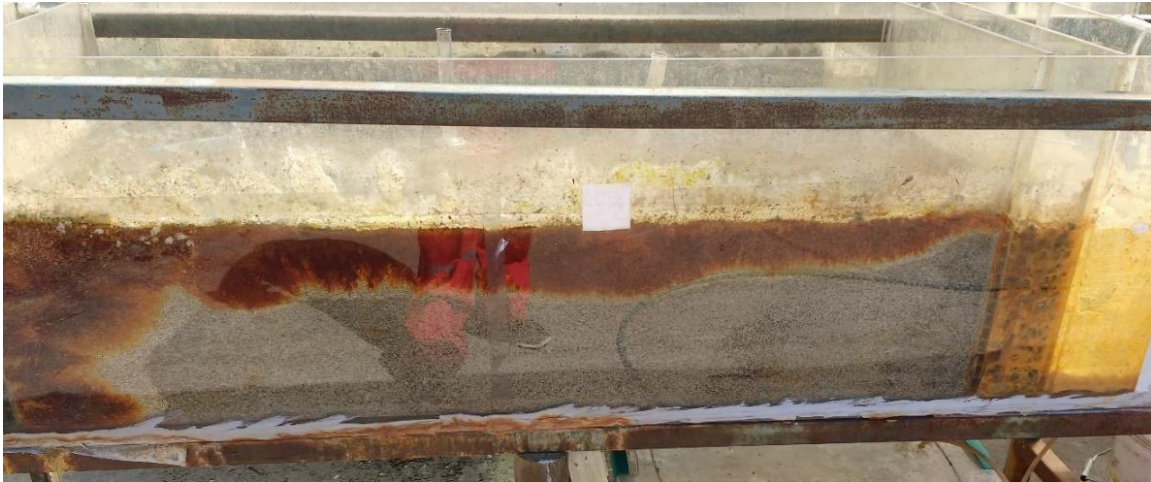


Figura 3-4. Extensión de la zonación de hidróxidos de Fe en humedal de caliza. Un año y dos meses de operación. Foto: Pablo Echeverría.

### 3.2 Muestreo de sustratos

Para cada uno de los humedales construidos se definieron ubicaciones de muestreo, buscando diferir tanto en profundidad como en lejanía desde la entrada del humedal (distancia longitudinal). Los puntos definidos corresponden, según profundidad, a zonas superficiales (*Up*), que se encuentran aproximadamente en los primeros 10 [cm] del perfil, y a zonas profundas (*Down*) a los últimos 10 [cm], mientras que, según distancia longitudinal, aproximadamente los primeros 15 [cm] corresponden a la entrada (*In*), y los últimos 15 [cm] a la salida (*Out*). De esta forma, las ubicaciones corresponden a los cuatro puntos extremos en el plano longitudinal de los humedales (Figura 3-5).

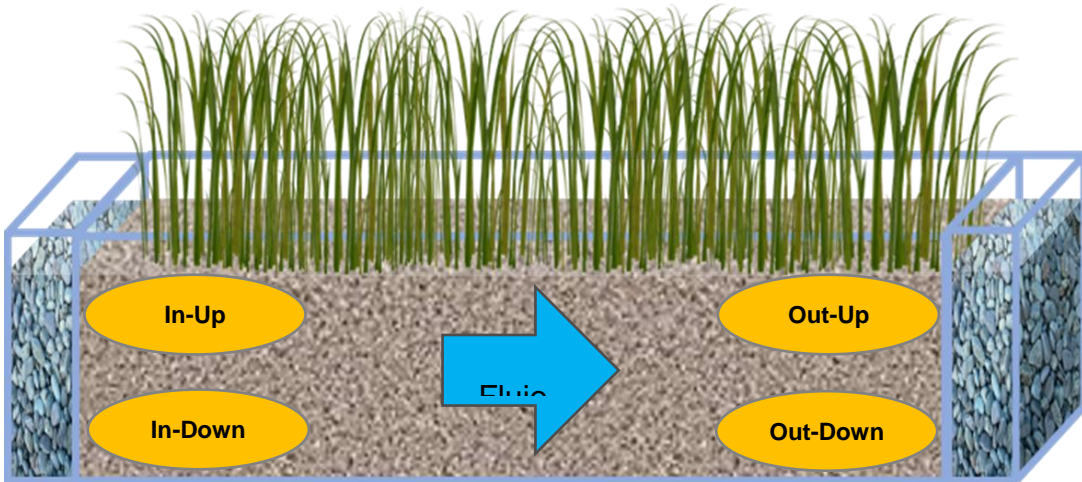


Figura 3-5. Esquema de los puntos de muestreo en los HSSF CW. Ubicaciones nombradas según zona, según distancia longitudinal y profundidad. In: Entrada, Out: Salida, Up: Superficial, Down: Profunda.

El muestreo se llevó a cabo durante abril del 2018, aproximadamente 6 meses después de que los humedales fuesen drenados. Los sustratos ya se presentaban secos, con un nivel de cohesión mucho mayor al que tenían originalmente, lo que se podría atribuir principalmente a la formación de minerales entre los clastos. Para la extracción se utilizaron herramientas de jardín domésticas de plástico, evitando cualquier contacto metálico con los sustratos dado el posible aporte de Fe u otros metales que esto podría generar (Figura 3-6). Esta medida es mencionada en la literatura en la metodología de muestreo para este SEP (Bugueño et al., 2014; Tessier et al., 1979).



Figura 3-6. Proceso de muestreo de sustratos. Humedal de caliza sin vegetación.

Luego, las muestras extraídas fueron almacenadas en envases de plástico (Figura 3-7, izquierda) y guardadas en una ubicación seca y privadas de luz solar, para así evitar la alteración del fraccionamiento de As. Para los análisis, se apartaron aproximadamente 25 [g] de cada muestra, los cuales fueron molidos en mortero y tamizado con una malla de 2 [mm] (Bugueño et al., 2014).



**Figura 3-7. Envases de plástico utilizados en el almacenamiento de muestras. Izquierda: muestra extraída en bruto, derecha: muestra molida y tamizada.**

Durante el muestreo también se realizó la recolección de las plantas en las celdas 2 y 6 (caliza y zeolita, respectivamente), recuperando en su totalidad los tallos y sus raíces respectivas. Cabe mencionar que las raíces ocupaban una gran parte del espacio disponible, formando una cama de vegetación en el fondo de los humedales construidos.

### 3.3 Obtención de concentraciones totales

Las concentraciones totales se obtuvieron a partir del método EPA 3051A de la U.S. EPA, utilizando aproximadamente 0,5 [g] de muestra seca cada digestión. El detalle de la metodología empleada se encuentra en el Anexo A del presente informe.

### 3.4 Obtención de fraccionamiento

Los procedimientos de extracción secuencial (SEP) son técnicas desarrolladas para el entendimiento de la distribución de un elemento, es decir, su fraccionamiento, en

la fase sólida. Esto se puede lograr a partir de extracciones selectivas consecutivas que buscan simular los posibles cambios medioambientales naturales o antropogénicos que pudieran generar la liberación de los contaminantes al medio (Gleyzes et al., 2002). En particular, el método de Tessier fue originalmente utilizado para estudiar el fraccionamiento de cadmio, cobalto, cobre, níquel, plomo, zinc, Fe y manganeso (Tessier et al., 1979), y su uso fue luego extendido al estudio de aniones como el As. Éste método es considerado uno de los más usados por protocolo y ha servido como base para el desarrollo de otros SEP (Keon et al., 2001; Mihaljevič et al., 2003), aunque su uso para el fraccionamiento de As ha sido objeto de observaciones relacionadas a la selectividad de sus etapas y la eficiencia de sus reactantes (Wan et al., 2017; Wang & Mulligan, 2008).

El SEP consta de cinco etapas de extracción, pero por razones de presupuesto y disponibilidad de equipos solo las primeras cuatro etapas, correspondientes a la fracción no residual, se llevaron a cabo en este trabajo. En la Tabla 3-5 se muestra un cuadro resumen de la extracción secuencial, donde se indican las etapas definidas, fases objetivo, extractantes a utilizar, tiempo de extracción y frecuencia de agitación.

Tabla 3-5. Resumen del SEP utilizado, en base a 2 [g] de suelo seco. Modificado de Bugueño et al. (2014).

Etapa	Fase	Extractante	Condición
E1	Intercambiable	16 [mL] 1 [M] MgCl <sub>2</sub> (pH 7)	1 [h], 25 [°C], agitación continua
E2	Ligado a carbonatos	16 [mL] 1 [M] NaAc (pH 5, HAc)	5 [h], 25 [°C], agitación continua
E3	Ligado a óxidos de Fe y Mn	40 [mL] 0,04 [M] NH <sub>2</sub> OH·HCl en HAc al 25% v/v (pH 2)	6 [h], 96 [°C], agitación ocasional
E4.1		6 [mL] 0,02 [M] HNO <sub>3</sub> + 10 [mL] H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 30% (pH 2)	2 [h], 85 [°C], agitación ocasional



E4.2	Ligado a M.O. <sup>1</sup>	6 [mL] H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 30% (pH 2)	3 [h], 85 [°C], agitación ocasional
E4.3		10 [mL] 3,2 [M] NH <sub>4</sub> Ac en HNO <sub>3</sub> al 20%	0,5 [h], 25 [°C], agitación continua

En una primera instancia se realizaron algunas extracciones de prueba para determinar posibles contratiempos, con lo que se pudo constatar que los volúmenes de extractantes propuestos originalmente por Tessier en las primeras dos etapas tendían a ser bajos (8 [mL]) para las mediciones realizadas por el laboratorio del CEGA. También se observaron pérdidas parciales de muestra entre cada etapa, lo cual podría haber comprometido los resultados. Para mitigar estos problemas, se utilizaron 2 [g] de suelo seco, es decir, el doble de lo originalmente propuesto por Tessier, por lo que los volúmenes de la Tabla 3-5 consideran esta modificación con el fin de mantener la proporción de suelo y extractante del método.

Entre cada extracción, las muestras fueron centrifugadas a 9000 [rpm] por media hora para separar la fase líquida, la cual fue extraída y almacenada para la entrega al CEGA, mientras que la fase sólida remanente pasa por un lavado con agua Milli-Q antes de ser nuevamente almacenada hasta la siguiente extracción. El detalle de la metodología ocupada se encuentra en el Anexo B del presente trabajo.

### 3.4.1 Descripción de fases

A continuación, se describen las fases definidas según la metodología de Tessier, indicando el rol de sus respectivos extractantes.

- *Intercambiable*

Esta fase representa la fracción de metales y metaloides débilmente sorbidos, lo que incluye a los retenidos en superficies por medio de fuerzas electrostáticas y a los que pueden entrar en solución por medio de intercambio iónico (Christine Gleyzes et al.,

---

<sup>1</sup> Materia orgánica

2002). Esta fracción es la más propensa a ser liberada, y se relaciona con su disponibilidad para ser absorbida por las plantas (Singhakant et al., 2009).

Uno de los reactantes más usados para esta extracción es el cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ) a una concentración 1 [M] a pH 7, el cual no afecta a sulfuros, silicatos ni materia orgánica, pero sí llega a disolver carbonato en un 2 a 3% (Tessier et al., 1979). El rol del cloruro de magnesio, y de otros extractantes como cloruro de calcio ( $CaCl_2$ ) o acetato de amonio ( $NH_4Ac$ ), es provocar el reemplazo iónico del magnesio (catión) con el metal o metaloide traza mientras que el cloruro (anión) genera complejos que dificultan la reabsorción del contaminante (Gleyzes et al., 2002).

- *Ligada a carbonatos*

Corresponde a la fracción que se encuentra asociada a carbonatos, y es susceptible a la disminución de pH, por lo que también recibe el nombre de fracción ácido-soluble. Los metales pueden haber sido asociados a esta fase ya sea por la coprecipitación con minerales de carbonato o por la sorción la superficie de arcillas, materia orgánica y oxihidróxidos de Fe o Mn (Gleyzes et al., 2002).

La disolución de los carbonatos y liberación de los metales se logra utilizando típicamente acetato de sodio (NaAc) a pH 5, aunque se han reportado disoluciones incompletas si el contenido de carbonato en los sedimentos es alto (>16%), lo cual sería el caso de las muestras de caliza. A consecuencia, el carbonato que no se disuelva en esta etapa, será disuelto en las etapas subsiguientes, lo que podría generar una sobreestimación de la fase ligada a óxidos de Fe (Gleyzes et al., 2002).

- *Ligada a óxidos de hierro y manganeso*

Los óxidos de hierro y los de manganeso corresponden a un importante sumidero de As, donde los principales mecanismos por los que podrían estar asociados son coprecipitación y sorción (Lizama et al., 2011b). La fuerza con que los oxihidróxidos de Fe y manganeso sorben metales traza puede darse inicialmente en forma de intercambiables, pero a medida que pasa el tiempo, estos metales llegan a ser cada vez menos móviles (Rao et al., 2008). La formación de óxidos secundarios se puede dar en forma de nódulos, rellenando espacios o cubriendo sedimentos (Tessier et al., 1979), y la extracción de los metales asociados a esta fase se puede lograr controlando el potencial redox ( $E_H$ ) y pH, específicamente, disminuyendo el pH y generando

condiciones reductoras, por lo que también se le conoce como fase reducible (Christine Gleyzes et al., 2002).

Una combinación de reactantes que se utiliza en esta fase es el par hidrocloruro de hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ) y ácido acético (HAc), donde la hidroxilamina es la encargada de generar el ambiente reductor, mientras que el ácido acético previene la readsorción de los metales (Christine Gleyzes et al., 2002; Tessier et al., 1979).

- *Ligada a materia orgánica*

Esta fase corresponde a la fracción asociada a través de procesos de complexación o bioacumulación en detritos u organismos, como también a gran parte de los metales asociados a sulfuros (Tessier et al., 1979). Metales asociados a esta fase tienden a mantenerse en los sedimentos por más tiempo que en las otras fases, aunque pueden ser movilizados por procesos de descomposición, en particular bajo condiciones oxidantes, por lo que esta fase también es conocida como fase oxidable (Christine Gleyzes et al., 2002; Rao et al., 2008).

Para esta fase, es frecuente el uso de peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) para generar condiciones oxidantes, en conjunto con  $\text{HNO}_3$  (como medio de disolución) para prevenir la captación de metales por la formación de hidróxidos de Fe a pH más altos. Adicionalmente, también se recurre a la adición de  $\text{NH}_4\text{Ac}$  en ácido nítrico para generar complexación de metales y evitar su precipitación (Gleyzes et al., 2002).

- *Residual*

Esta fracción corresponde a la restante luego de las cuatro etapas anteriores, y consiste en silicatos detríticos, sulfuros resistentes y una porción de materia orgánica refractaria (Tessier et al., 1979). Los principales metales asociados a esta fase se encuentran dentro de la red cristalina de minerales primarios y secundarios (Christine Gleyzes et al., 2002).

Originalmente, en el método de Tessier, la obtención de estos metales se realizaba a partir de una digestión con una mezcla de ácido fluorhídrico (HF) e hipoclorito ( $\text{HClO}_4$ ) (Tessier et al., 1979), aunque autores como Bugueño et al. (2014) han optado por reemplazarla por metodologías más actualizadas, que cumplen la misma función, y que no incluyen el uso de HF, el cual suele generar problemas en los equipos de medición de concentraciones por su poder corrosivo.

### 3.5 Determinación de concentraciones

Las muestras resultantes del SEP y de la digestión total fueron enviadas al Laboratorio de Cromatografía del CEGA, donde se midieron las concentraciones totales de Fe y As. Los instrumentos utilizados fueron distintos para cada elemento. Detalles sobre éstos se muestran en la Tabla 3-6, junto a los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) estimados para cada uno.

**Tabla 3-6. Especificaciones de instrumentos para determinación de As y Fe. Información entregada por el Laboratorio de Cromatografía, CEGA.**

Instrumento	Modelo	Elemento analizado	LOD	LOQ
Espectrofotómetro de absorción atómica con llama (F-AAS)	Perkin Elmer Pin AAcle 900F	Fe	0,04 [mg/L]	0,12 [mg/L]
Espectrometría de masas cuadrupolo con fuente de plasma de acoplamiento inductivo y celda de colisión (ICP-MS)	Thermo Scientific ICP-MS Q iCAP Q.	As	2 [µg/L]	6 [µg/L]

Para medir As con ICP-MS se tuvo que realizar una dilución de factor 102, dadas las altas concentraciones presentes en las muestras, y, por lo tanto, los LOQ y LOD presentados en la Tabla 3-6 se encuentran multiplicados por este factor.

Adicionalmente, se reportaron interferencias en las mediciones de As por la presencia de cloruro en las muestras, ya que este elemento, al combinarse con el argón, presenta el mismo peso molecular que el As (May & Wiedmeyer, 1998). Esto afectó las mediciones de las fases líquidas obtenidas en la primera etapa, donde se usa cloruro de magnesio, por lo que se aplicó una corrección de 156 [µg/L] a los resultados de la primera etapa, valor estimado a partir de mediciones en blancos de extractante MgCl<sub>2</sub> y en soluciones con concentraciones conocidas de As.

Los valores reportados por este laboratorio correspondieron a las concentraciones de As y Fe en las fases líquidas, por lo que el proceso para calcular la concentración

correspondiente a los suelos se aplicó la fórmula (1), obteniendo miligramos de As o Fe por cada gramo de suelo seco.

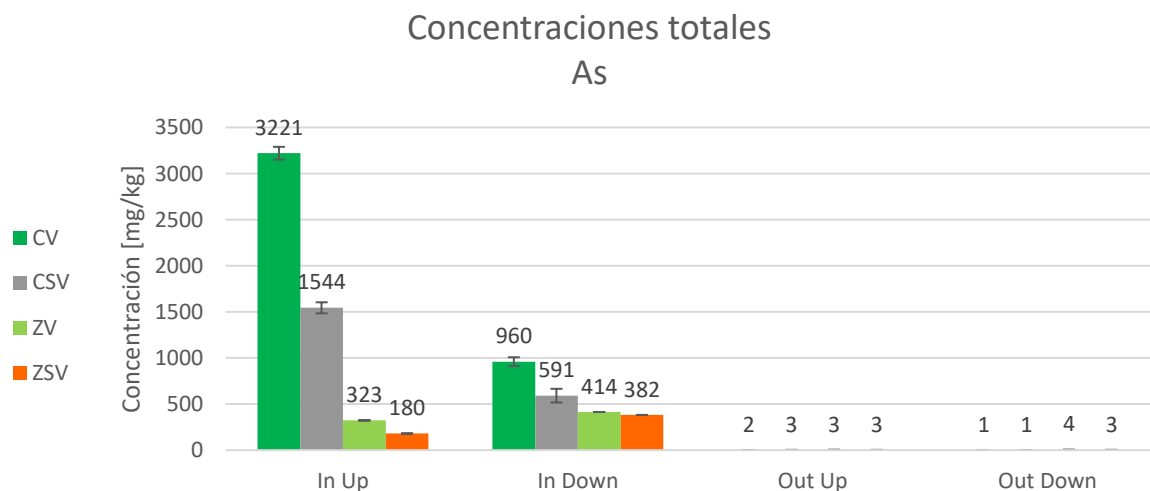
$$\text{Concentración en suelo} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{g suelo seco}} \right] = \frac{\text{Concentración fase líquida} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] \cdot \text{Volumen de extractante} [\text{mL}]}{\text{masa suelo} [\text{g}] \cdot 1000 \left[ \frac{\text{L}}{\text{mL}} \right]} \quad (1)$$

## 4 Resultados y discusión

En los gráficos contenidos en este capítulo se presentan resultados obtenidos del promedio de los duplicados. Además, en estos se utiliza una notación abreviada para cada tipo de celda, según el sustrato y su presencia o ausencia de vegetación, donde CV corresponde a caliza con vegetación, CSV a caliza sin vegetación, ZV a zeolita con vegetación, y ZSV a zeolita sin vegetación.

### 4.1 Acumulación de As y Fe en los medios

La Figura 4-1 corresponde a la comparación entre las distribuciones de As según ubicación y tipo de celda, donde se pueden observar algunos patrones. Uno es que, en las entradas, la tendencia es  $CV > CSV > ZV > ZSV$ , con un patrón menos destacado en las salidas. Adicionalmente, se observa que las concentraciones de As en la entrada son hasta tres órdenes de magnitud mayores que las presentes en las salidas, las que, en algunos casos, son cercanas al LOQ ( $0,6 [mg\ As/kg]$  para  $0,5 [g]$  de muestra). Considerando esta diferencia de magnitudes, se puede aseverar que las celdas de caliza concentran más As en sus sustratos que las de zeolita, y que las celdas con vegetación concentran más As que otras celdas con el mismo sustrato, pero sin vegetación.

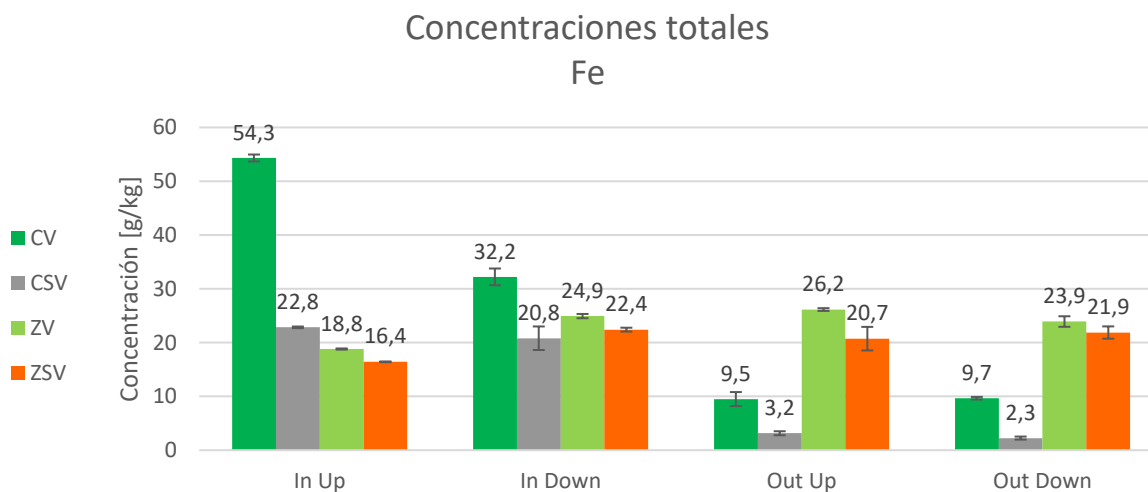


**Figura 4-1. Concentraciones totales de As en la fase sólida, expresadas en microgramos de As por kilogramo de muestra para las cuatro celdas. Barras de error correspondientes a valores máximos y mínimos.**

Otro patrón observable es que la dispersión de las concentraciones de As es distinta para cada tipo de sustrato. En el caso de la caliza, como se mencionó, existe una mayor diferencia entre las concentraciones de la entrada y la salida comparación a la diferencia observada entre las mismas ubicaciones en la zeolita, es decir, las concentraciones se distribuyen de forma más homogénea en la zeolita.

También se puede observar que, en el caso de la zeolita, las ubicaciones profundas presentaron mayores concentraciones que en las superficiales, mientras que en la caliza son las superficiales las que son mayores a las profundas.

En la Figura 4-2 se presentan las concentraciones totales de Fe para cada celda y ubicación. Las celdas de caliza muestran la misma tendencia que para el As, es decir, la celda con vegetación presenta mayores concentraciones que la sin vegetación, y estas son mayores en la entrada y superficie. En el caso de las celdas de zeolita, tanto con vegetación como sin vegetación, la distribución tiende a ser más uniforme que lo observado en la caliza, con concentraciones similares entre la celda con vegetación y sin vegetación. Además, se puede ver que las concentraciones en las salidas de las celdas de zeolita son mayores que en la caliza en las mismas ubicaciones.



**Figura 4-2. Concentraciones totales de Fe en la fase sólida, expresadas en gramos de Fe por kilogramo de muestra para las cuatro celdas.**

**Las diferencias observadas de concentraciones de As y Fe entre medios se podrían relacionar a las magnitudes de los volúmenes tratados por cada celda (**

Tabla 3-4). Considerando que los porcentajes de remoción de As y Fe fueron similares entre celdas, un mayor volumen de agua tratada implica una mayor masa de contaminante retenida en el medio, y, por lo tanto, mayores concentraciones en el sustrato. Esto coincide con la tendencia observada para el As en las entradas de los humedales, sin embargo, la distribución del Fe, especialmente en las salidas, contradice esta asociación.

Otra opción es que esta diferencia esté más ligada al comportamiento químico de cada medio. Echeverría (2018) y Jaque (2017) observaron que la caliza tiene una mayor capacidad para neutralizar agua ácida que la zeolita, siendo los pH promedios de los efluentes  $\approx 7,5$  y  $\approx 4,5$  para las celdas de caliza y zeolita, respectivamente, donde, en el caso de la caliza, este aumento de pH se explica por la captación de protones por medio de iones carbonato, liberados por la disolución del sustrato, mientras que en la zeolita los protones son adsorbidos por el sustrato, además de una posible formación de ácido silícico (Jaque, 2017). El agua tratada, con pH inicial 2, pudo haber experimentado un aumento de pH más abrupto en el caso de la caliza que en la zeolita, provocando la precipitación de oxihidróxidos de Fe y la coprecipitación/sorción de As.

Para respaldar lo anterior, se procedió a estudiar la correlación entre las concentraciones de As y Fe en la fase sólida según tipo de sustrato, indistintamente de la ubicación. Para las celdas de caliza, el coeficiente de correlación ( $p = 0,94$ ) obtenido indica una alta correlación entre ambos contaminantes, mientras que en las celdas de zeolita esta correlación no es concluyente ( $p = -0,14$ ). Esto respaldaría la tesis de que el principal mecanismo de remoción en las celdas de caliza corresponde a coprecipitación-sorción por medio de la formación de oxihidróxidos de Fe, tal como lo han sugerido Jaque (2017) y Echeverría (2018) a partir de la zonación de óxidos observable en los humedales construidos durante su operación (Figura 3-4).

La diferencia entre celdas con mismo sustrato puede estar asociado al rol de la vegetación, la que pudo haber propiciado mecanismos de fitoestabilización, es decir, la acumulación de los contaminantes en el medio poroso. De forma preliminar, se analizó el contenido de As y Fe en las plantas, estudiando los factores de traslocación (TF) y de bioconcentración (BF), obteniendo los valores de la Tabla 4-1. Estos, al ser menores a uno, indican que esta especie se comportó como exclusora, es decir, alta resistencia a metales y una baja traslocación de estos (Baker, 1981; Alkorta et al., 2010).



Tabla 4-1. Concentraciones en [mg/kg] de As y Fe en *Phragmites australis* plantadas en las celdas estudiadas y sus respectivos factores de traslocación y bioconcentración.

Celda	As					Fe				
	Hojas	Raíz	Suelo	TF <sup>2</sup>	BF <sup>3</sup>	Hojas	Raíz	Suelo	TF	BF
CV Entrada	11,3	128	2091	0,09	0,01	344	3369	43274	0,10	0,01
CV Salida	1,27	12,8	2	0,10	0,56	96	3351	9589	0,03	0,01
ZV Entrada	3,05	30,9	369	0,10	0,01	360	937	21871	0,38	0,02
ZV Salida	0,09	0,3	5	0,30	0,02	369	1089	25037	0,34	0,01

## 4.2 Fraccionamiento de As y Fe

A partir de las primeras cuatro etapas del método de Tessier se obtuvo el fraccionamiento de la fase no residual, mientras que la quinta fracción, correspondiente a la fase residual, se consideró igual a la diferencia entre la fracción no residual y la concentración total (Sección 4.1).

En promedio, ambas celdas de caliza mostraron fraccionamientos de As y Fe similares, donde la distribución de las fases se mantuvo, y sólo se observaron diferencias en las magnitudes relativas en el fraccionamiento del As. Los fraccionamientos del As y Fe en humedales de caliza mostraron altos porcentajes asociados a la fase residual (promedios de 55±31% y 80±12%, respectivamente), posicionándose como la predominante para este tipo de celdas en la mayoría de las ubicaciones. La segunda fase más abundante en las celdas de caliza corresponde a la asociada a óxidos, con porcentajes promedio de 32±23% para el As y 18±11% para el Fe, seguida por la fase asociada a M.O. con un 9±6% para el As y 2±1% para el Fe. La fase intercambiable (indicada en los gráficos como “Ex”, abreviación del inglés *exchangeable*) y la asociada a carbonatos presentaron porcentajes muy bajos (<2%) en todas las celdas, para ambos contaminantes.

Por otro lado, en los humedales de zeolita, los porcentajes de As asociados a la fase residual fueron equiparables e incluso menores a los asociados a óxidos, siendo ambas

<sup>2</sup>Factor de translocación: Razón entre la concentración de contaminante contenida en las hojas y la contenida en las raíces

<sup>3</sup>Factor de bioconcentración: Razón entre la concentración de contaminante en las hojas y la contenida en el suelo

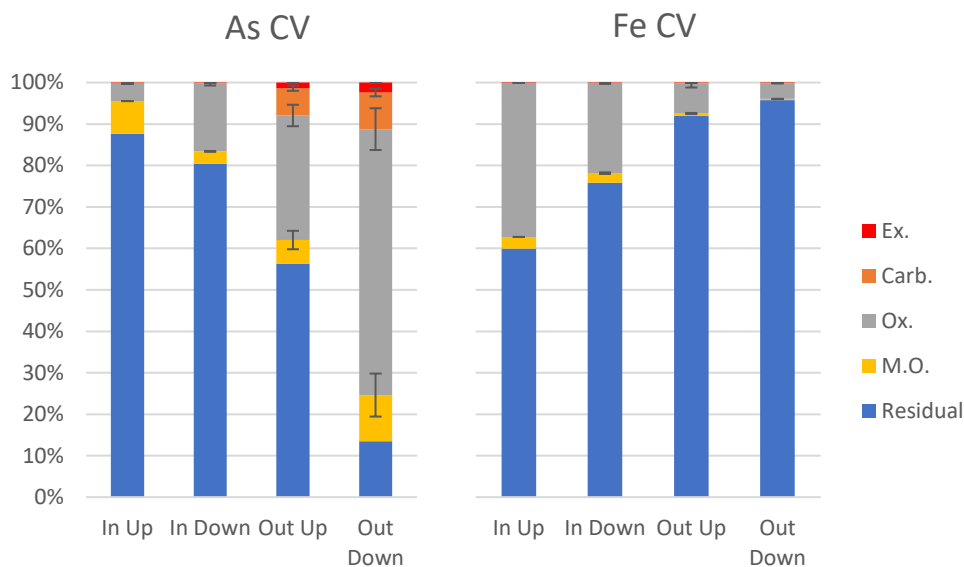
fracciones las más abundantes, mientras que el fraccionamiento del Fe en éstas repite la distribución general observada en las celdas de caliza. En promedio, los porcentajes de As y Fe, respectivamente, asociados a cada fase fueron;  $54\pm 21\%$  y  $89\pm 3\%$  para la fase residual;  $32\pm 20\%$  y  $7\pm 2\%$  para los óxidos; y valores despreciables ( $<1\%$ ) para las fases intercambiable y asociadas a carbonatos. Similar a lo observado en las concentraciones totales (Figura 4-2), la distribución de Fe en los humedales de zeolita fue más uniforme que en los de caliza.

No se observaron diferencias en los porcentajes de As o Fe asociados a M.O entre celdas con y sin vegetación. Con los resultados que se muestran en las siguientes subsecciones se puede aseverar que el efecto de la vegetación en los fraccionamientos de As y Fe es menor en comparación a las diferencias entre distintos tipos de medio.

A continuación, se analizan y presentan de forma gráfica los fraccionamientos para cada celda. Los valores asociados a cada fase se presentan como porcentajes de la concentración total, según el contaminante y ubicación correspondiente.

## 4.2.1 Caliza

### 4.2.1.1 Con vegetación



**Figura 4-3. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) para CW de caliza con vegetación. Barras de error corresponden a valores máximos y mínimos<sup>4</sup>.**

En la Figura 4-3 (izquierda) se muestra el fraccionamiento del As, donde, a excepción de la salida profunda (Out-Down), el porcentaje asociado a cada fase se puede ordenar, de mayor a menor, como Residual > Óxidos > M.O. > Carbonatos > Intercambiable. En la ubicación Out-Down, la fracción de As asociada a óxidos de Fe y Mn (óxidos) supera a la fracción residual. El mayor porcentaje asociado a carbonatos en las salidas sería un indicio de condiciones más alcalinas en esas ubicaciones, mientras que la fracción intercambiable, aunque mayor en la salida, sólo alcanza valores menores al 2,5%. La fracción residual muestra un promedio de  $59 \pm 29\%$ , situándola como la fracción predominante para la celda.

El fraccionamiento del Fe para la celda de caliza con vegetación (Figura 4-3, derecha) muestra tendencias similares a la del As, donde por orden descendente de porcentajes las fracciones se ordenan como Residual > Óxidos > M.O. > Carbonatos > Intercambiables. Sin embargo, a diferencia del fraccionamiento del As, los porcentajes

<sup>4</sup> No aplica para fase residual.

residuales del Fe son mayores en la salida que en la entrada, y los asociados a óxidos son mayores en las entradas. Esto último coincide con la distribución de las concentraciones totales de Fe (Figura 4-2), y con las zonas donde se fue observada la formación de oxihidróxidos de Fe en las celdas de caliza (Figura 3-3). Los porcentajes de Fe asociados a la fase residual alcanzan porcentajes del 96%, mientras que las asociadas a M.O., carbonatos y a la fase intercambiable son despreciables (<0,2%), aunque la fracción asociada a carbonatos, al igual que en el caso del As, presenta el porcentaje mayor a la salida de la celda.

#### 4.2.1.2 Sin vegetación

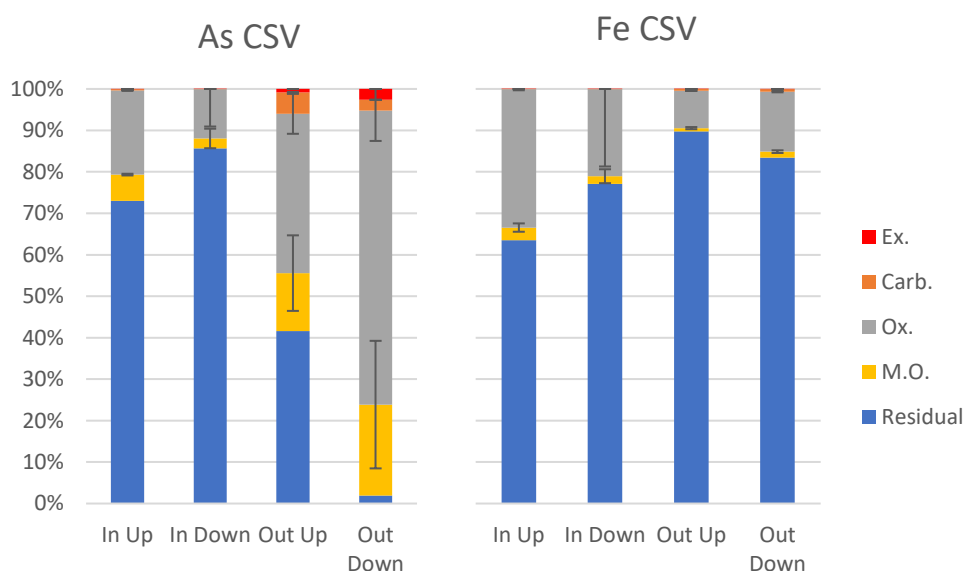


Figura 4-4. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) en CW de caliza sin vegetación.

En la Figura 4-4 (izquierda) se presenta el fraccionamiento de la celda de caliza sin vegetación. Para este elemento, el orden de las fases para la mayoría de las ubicaciones, de más a menos porcentaje asociado, es Residual > Óxidos > M.O. > Carbonatos > Intercambiable. Al igual que la celda con vegetación, ésta muestra un fraccionamiento distinto en la salida profunda, donde el orden cambia a Óxidos > M.O. > Intercambiable/Carbonatos > Residual. Esta celda presenta un porcentaje promedio asociado a la fase residual de  $51 \pm 32\%$ , relativamente menor que su celda homóloga con

vegetación, pero siguiendo el mismo patrón al tener mayores porcentajes en la entrada que en la salida. También se da una fracción asociada a carbonato, aunque relativamente menor (<t%), mayor en la salida que en la entrada. Otro aspecto importante es la relación entre la fracción asociada a materia orgánica y la presencia de vegetación. Estas son, en promedio, un  $7\pm 3\%$  para la celda con vegetación, y de un  $11\pm 7\%$  en la celda sin vegetación. Una posible explicación es que las raíces de la vegetación propiciaran condiciones oxidantes suficientes como para que el As no se asociara a materia orgánica, sino que, a fases más estables en esos ambientes, tales como óxidos.

Con respecto al fraccionamiento del Fe (Figura 4-4, derecha), en esta celda se observa, tal como en la con vegetación, que se invierte la tendencia del Fe con respecto al As de la misma celda, es decir, el porcentaje asociado a la fase residual es mayor en la salida, aunque de igual forma es la fase predominante para todas las ubicaciones. El orden de los porcentajes mostrados para el Fe corresponde a Residual > Óxidos > M.O. > Carbonatos > Intercambiable, es decir, se mantiene lo observado en fraccionamiento de Fe en la celda con vegetación (Figura 4-3, derecha), como también la distribución de estos porcentajes. Estos resultados implicarían que el efecto de la vegetación en el fraccionamiento de Fe en sustratos de caliza puede considerarse despreciable.

## 4.2.2 Zeolita

### 4.2.2.1 Con vegetación

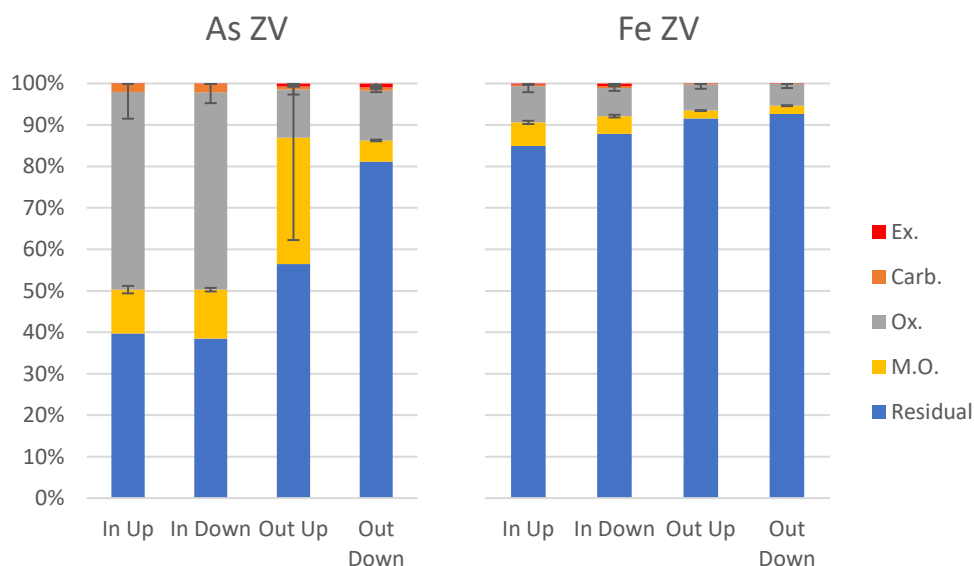


Figura 4-5. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) en CW de zeolita con vegetación.

En la Figura 4-5 (izquierda) se presenta el fraccionamiento de As para la celda de zeolita con vegetación, donde en las entradas se observa un porcentaje asociado a óxidos mayor que a la fase residual. En estas ubicaciones el orden de abundancia de fases sería Óxidos > Residual > M.O. > Carbonatos > Intercambiable, y si se consideran las magnitudes de las concentraciones totales obtenidas (Figura 4-1), este comportamiento sería representativo de la celda. Con respecto a las otras fases, los porcentajes asociados a M.O. son mayores a lo visto en las celdas de caliza, siendo en promedio  $14\pm 10\%$ , mientras que los porcentajes asociados a las dos fases menos abundantes son despreciables ( $<1\%$ ).

En el fraccionamiento de Fe para esta celda (Figura 4-5, derecha), se presenta una distribución similar a lo obtenido en las celdas de caliza, es decir, Residual > Óxidos > M.O. > Carbonatos > Intercambiable, aunque en este caso los porcentajes asociados a cada fase son similares para todas ubicaciones, y se presenta, en promedio, un mayor porcentaje asociado a la fase residual ( $89\pm 3\%$ ) que las celdas de caliza, mientras que el porcentaje promedio asociado a la segunda fase más abundante (óxidos) es de  $7\pm 1\%$ . Las dos fases menos abundantes se consideran despreciables ( $<1\%$ ).

#### 4.2.2.2 Sin vegetación

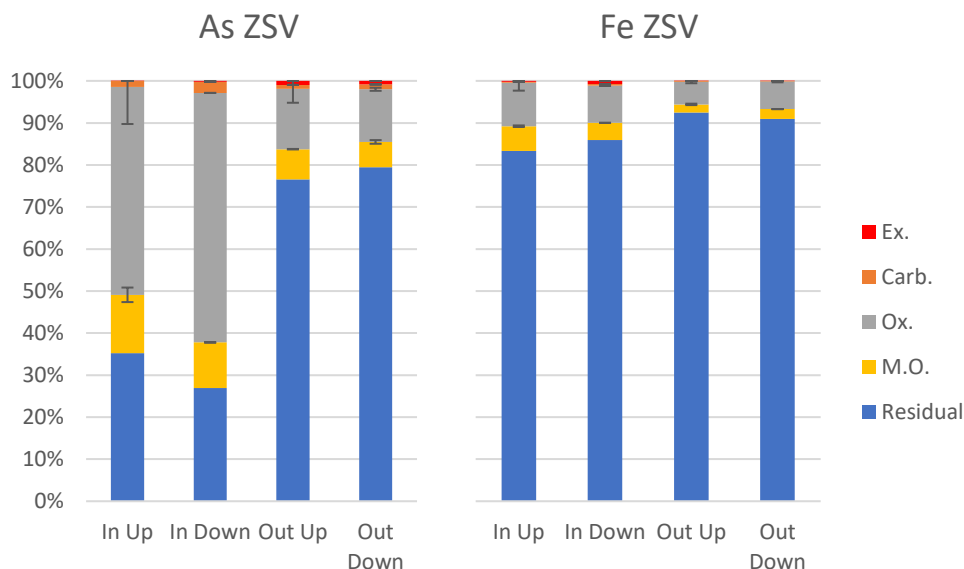


Figura 4-6. Fraccionamiento de As (izquierda) y Fe (derecha) en CW de zeolita sin vegetación.

El fraccionamiento del As en las celdas de zeolita sin vegetación (Figura 4-6, izquierda) muestra el mismo patrón que la celda de zeolita con vegetación, es decir, en la salida de la celda la mayoría se encuentra asociado a la fase residual, mientras que en la entrada se encuentra mayormente asociado a óxidos. En este caso también es aplicable lo comentado para la celda vegetada (punto 4.2.2.1); por lo que los óxidos serían el sumidero de As predominante en esta celda. Las diferencias de porcentajes entre celdas de zeolita son leves, siendo en la celda de zeolita sin vegetación mayor para la fracción asociada a óxidos y menor en la asociada a M.O.

En la Figura 4-6 (derecha) se presenta el fraccionamiento de Fe para la celda de zeolita sin vegetación, donde se observa, al igual que para el As, un comportamiento similar a lo obtenido para la celda vegetada. También hay semejanzas en la diferencia entre los porcentajes asociados a cada fase; la segunda fase más abundante tiene asociado un porcentaje promedio de  $8\pm 2\%$ , en comparación al promedio de  $88\pm 4\%$  asociado a la fase residual. Para ambos contaminantes, esta celda presentó porcentajes asociados a carbonatos y a la fase intercambiable despreciables.

### 4.3 Comparación con trabajos anteriores

Para comparar los resultados obtenidos en los humedales construidos, se consideraron dos estudios que utilizaron el mismo SEP (Tessier) para el estudio de As, dada la variabilidad existe entre los resultados entre de distintas metodologías (Wang & Mulligan, 2008).

#### 4.3.1 Estudio en sedimentos fluviales

El primero corresponde al realizado por Bugueño et al. (2014), en el cual se aborda el estudio de la concentración y distribución de As en sedimentos fluviales de dos sectores del Río Loa bajo, II Región de Antofagasta, Chile, mediante el método de Tessier, donde utilizó el método digestivo 3050B para la determinación de la fase residual (US EPA, 1996).

En comparación a lo realizado por Jaque (2017) y Echeverría (2018) en el sistema de humedales (sección 3.1.3) las concentraciones de As presentes en los sitios son similares a la concentración de entrada durante la primera etapa de operación ( $2,53 [mg/L]$ ) y menores a la de la segunda etapa ( $3,7 [mg/L]$ ), mientras que las concentraciones de Fe en los sitios son mucho menores a las utilizadas en las celdas,

siendo 70 y 49 [mg/L], para la primera y segunda etapa, respectivamente . Otro parámetro medido *in situ* fue el pH del agua en ambos sectores. Según el estudio, este se encontraba en torno a 8 en ambos, en contraste con el pH 2 en el caudal de entrada de las celdas.

Con respecto a la fase sólida, Bugueño et al. (2014) reportó concentraciones totales de As de  $747 \pm 256$  [mg/kg] para los sedimentos en Quillagua (sedimentos de un humedal natural), y  $651 \pm 350$  [mg/kg] para Sloman (sedimentos sin vegetación), obtenidos con el método 3051A. Estos valores son dos órdenes de magnitud mayores a los presentados en la celda con la concentración más alta, es decir, caliza con vegetación, 3,2 [mg/kg] en su entrada superficial. Esta diferencia se puede explicar por el caudal ( $0,43$  [m<sup>3</sup>/s]) en la zona baja del Loa, y el tiempo que los sedimentos han estado expuestos a fuentes de As.

El análisis del fraccionamiento de As de los dos sitios se realizó en perfiles del lecho fluvial, separándolos en dos profundidades distintas; de 0-6 [cm] y de 6-50 [cm]. Estas son comparables a las profundidades del muestreo realizado en los humedales construidos, donde las ubicaciones “Up” definidas en el presente trabajo corresponden a aproximadamente los primeros 10 [cm] del sustrato, mientras que “Down” a profundidades de 20-30 [cm]. Los resultados indicaron que la distribución de las fases en Sloman, por orden descendente de sus porcentajes asociados, fue preferentemente Óxidos > Residual > Carbonatos > M.O. > Intercambiables, mientras que en Quillagua fue Óxidos > Residual > M.O. > Carbonatos > Intercambiable, aunque en este último sitio se presentó un porcentaje de M.O. mayor a la fase residual en su superficie. Estos resultados indicaron que la disponibilidad ambiental de As, es decir, mayores porcentajes asociados a fases lábiles y menores a las fases más resistentes a cambios medioambientales, fue mayor en Sloman que en Quillagua, lo cual se asoció al rol de la vegetación. Sin embargo, se encontraron inconsistencias en la asociación de As y Fe, donde la extracción secuencial de Tessier mostró mayores porcentajes de asociación que los predichos por otros análisis (Clúster y de correlación<sup>5</sup>) realizadas en el mismo estudio, lo que el autor relaciona con la rápida oxidación del Fe durante la manipulación de las muestras, y por lo que recomienda mantener las condiciones anóxicas durante el proceso de extracción secuencial. En el caso del actual trabajo sobre humedales construidos, esta condición no fue necesaria ya que los sustratos ya se encontraban

---

<sup>5</sup> Ambos corresponden a análisis estadísticos



secos al momento de muestreo, por lo que, si hubo un cambio del fraccionamiento de As y Fe, debió generarse durante el drenaje de los humedales.

En la Tabla 4-2 se comparan los resultados obtenidos por Bugueño et al. con los obtenidos en el trabajo actual, en específico con los fraccionamientos de As en las dos ubicaciones que presentaron las mayores concentraciones totales. Aquí se puede observar que la disponibilidad ambiental del As es menor en los humedales construidos dado el alto porcentaje asociado a la fase residual, y que lo asociado a óxidos es mucho mayor en los sedimentos fluviales. No obstante, para esta comparación se debe tener en cuenta que las concentraciones son de distinta magnitud, y que, además, en el estudio no se hace referencia a la altura de escurrimiento de agua en cada sitio, factor que influye en las condiciones redox, y que sería relevante en sectores como Sloman, donde no había presencia de vegetación a razón de profundidad de la columna, lo que hace difícil relacionar la asociación de los fraccionamientos entre profundidades de sedimento similares.

**Tabla 4-2. Resultados de fraccionamiento obtenidos por Bugueño et al. (2014) en comparación a resultados más favorables entre las celdas estudiadas.**

Estudio	Caso	Profundidad [cm]	Porcentajes asociados					EPA3051A [g/kg]
			Ex.	Carb.	Ox.	M.O.	Res	
Bugueño et al. (2014)	Sloman	0-6	3,0±1,3	9,0±3,9	58±16	7,0±1,6	23,0±9,7	690±350
		6-50	3,0±0,6	6,0±0,6	68,0±11	6,0±0,9	18,0±8,9	622±143
	Quillagua	0-6	2,0±0,2	1,0±0,2	66,0±4	17,0±5,3	14,0±0,5	2056±358
		6-50	3,0±0,2	8,0±1,1	52,0±3	6,0±0,3	30,0±1,5	373±35
Este trabajo	In Up As CV	0-10	<0,1	0,3	4,1	7,9	87,6	3,2
	In Down As CV	20-30	<0,1	0,1	16,5	2,9	80,5	0,9

#### 4.3.2 Estudio en humedales construidos

El segundo trabajo a comparar corresponde al realizado por Singhakant et al. (2009), el cual consistió en el estudio del efecto de la proporción largo/profundidad de CW a escala de laboratorio en la remoción y fraccionamiento de As en agua residual sintética rica en As. Para esto, Singhakant et al. construyó seis unidades, divididas en dos grupos según proporción L:D (largo/profundidad, del inglés *Length:Depth*); dpCW (*deep CW*, L:D=2) y

shCW (*shallow CW*, L:D=8) y en tres TRH<sup>6</sup> distintos (6, 9 y 12 días), en comparación a las del trabajo actual, donde L:D≈4 y los TRH fueron de 7,5 y 9,5 para las celdas de caliza y zeolita, respectivamente.

En todas las unidades el medio de soporte fue el mismo, estratificados en tres capas de (desde la superficie hacia abajo) arena gruesa, grava fina y grava gruesa, y todas fueron plantadas por *Chrysopogon zizanoides* o vetiver. El sistema de CW se mantuvo en operación por 117 días, alimentado por un efluente con  $4,1 \pm 0,3$  [mg/L] de As. El porcentaje de remoción de As fue disminuyendo durante este tiempo, llegando, aproximadamente, a un 20% al final de la operación, y removiendo, en promedio, el  $46,6 \pm 8,1\%$  y  $59,1 \pm 10,1\%$  de la masa total de As entrante, en los shCW y dpCW, respectivamente, aumentando a mayor TRH.

Una vez terminada la operación, Singhakant et al. realizó análisis del fraccionamiento de As en los CW usando el método de Tessier, promediando los resultados según tipo de celda y estrato. En el caso de la arena, gran parte del As en la fase residual, con valores de  $87,8 \pm 4,9\%$  y  $61,9 \pm 0,9\%$ , seguida por la fase asociada a óxidos, con porcentajes de  $81 \pm 4,7\%$  y  $19,9 \pm 3,3\%$ , en shCW y dpCW, respectivamente. La grava, por otro lado, mostró una asociación del As preferentemente a óxidos, con porcentajes  $58,2 \pm 7,8\%$  y  $62,8 \pm 5,1\%$ , en shCW y dpCW, respectivamente. Comparando los fraccionamientos de As con el trabajo actual, la distribución en las arenas se asemeja a las celdas de caliza, dado los altos porcentajes asociados a la fracción residual, mientras que las gravas presentan un comportamiento similar a las celdas de zeolita, donde la fracción reducible es mayoritaria.

En el estudio se menciona que el As asociado a la fase residual puede corresponder al atrapamiento de este contaminante en la red cristalina de minerales en conjunto con el efecto de la formación de óxidos en los poros, haciéndolo más resistente a lixiviación, y que su porcentaje sería mayor en la arena por su mayor área superficial. Si esto se aplica a lo observado en el actual trabajo, los porcentajes asociados a la fase residual en la zeolita, dado su volumen de poros ( $0,07$  [ $cm^3/g$ ]), diámetros de poros ( $55,5$  [ $\text{Å}$ ]) y área superficial ( $49,8$  [ $m^2/g$ ]), sin embargo, en el caso de la piedra caliza, la cual tiene un área superficial menor ( $0,038$  [ $m^2/g$ ]) y que naturalmente no presenta porosidad (Henry, 2015), esta podría ser generada por su disolución. Existen autores que han observado

---

<sup>6</sup> Tiempo de retención hidráulica, por sus siglas en inglés *hydraulic retention time*, corresponde al tiempo promedio en que una partícula de fluido permanece en un volumen determinado

el aumento de porosidad y la disminución de superficie reactiva por disolución de cálcica/dolomita (e.g. Kong et al., 2014; Noiriél et al., 2004), lo cual respalda la posibilidad de que la fase residual en la piedra caliza se explique por el mismo mecanismo mencionado por Singhakant et al..

Otro aspecto que el autor analiza es la baja asociación a M.O., argumentando que el corto periodo de operación (7 meses) no fue suficiente para generar descomposición de materia orgánica (raíces). Esto también puede ser extrapolado a los CW del actual trabajo, donde las bajas concentraciones de As y Fe asociadas a M.O. y la similitud entre los fraccionamientos de los humedales con y sin vegetación, tendrían su explicación en que el tiempo de operación, algo más de 13 meses, fue muy acotado como para ver una fase oxidable mayor. Este factor abre la discusión sobre la variabilidad de los resultados en el tiempo.

#### 4.4 Análisis crítico de los fraccionamientos

En otros estudios (e.g. Tessier et al., 1979; Bugueño et al., 2014) la concentraciones totales de un contaminante se utilizan para validar el procedimiento de extracción secuencial bajo el concepto de porcentaje de recuperación, que corresponde a la fracción de la concentración total de un elemento que es recuperada a través de un SEP. De la forma en que se estimó la fase residual en este trabajo, se asumió que el porcentaje de recuperación fue cercano o igual al total, lo cual se aleja de la realidad.

Con estos antecedentes, se debe tomar en cuenta que el fraccionamiento de As y Fe obtenido no considera errores provenientes de: (1) una baja o excesiva recuperación con respecto de la concentración total; y/o la (2) sobreestimación o subestimación de fracciones, relacionado a la eficacia y selectividad de la metodología.

La primera opción fue evaluada previamente por Tessier et al. (1979) en su propuesta original, donde lo obtenido en las primeras etapas fue cercano a la concentración total obtenida a partir de una digestión con HF-HClO<sub>4</sub>, con un porcentaje de recuperación promedio de 98±3% para el Fe, pero sin incluir el As como contaminante objetivo. Más adelante, otros autores (e.g.; Mihaljevič et al., 2003; Singhakant et al., 2009; Bugueño et al., 2014; Wan et al., 2017) adaptaron este SEP para el estudio de As.

En particular, Bugueño et al. obtuvo porcentajes de recuperación para el As entre 70% y 81%, mientras que Wan et al. obtuvo porcentajes entre 80% y 123% al aplicar este SEP

en suelos altamente contaminados (hasta 5240 [mg/kg] de As) situados en las cercanías de una mina de rejalgar. Si se suponen valores de recuperación similares a los reportados por estos estudios, los porcentajes asociados a la fracción residual en este trabajo podrían variar hasta en un 30% aproximadamente en el caso más conservador.

Si esto se aplicase como una corrección en los resultados, se estaría realizando el supuesto fuerte de que la metodología es igual de aplicable en las muestras aquí analizadas, siendo que, de acuerdo con los antecedentes presentados (sección 3.4.1), los resultados son altamente dependientes del tipo de suelo y contaminante a ser analizado. También es posible que los porcentajes de recuperación sean cercanos a 100%, y que los resultados expuestos representen adecuadamente el fraccionamiento. Wan et al. (2017) reportó fracciones residuales altos (70% y 96%), seguidos por las fracciones asociadas a óxidos y materia orgánica, algo similar a lo mostrado en este trabajo.

Con respecto a la segunda opción, esto ha sido abordado por variados autores (e.g. Gleyzes et al., 2002; Mihaljevič et al., 2003) quienes han abordado la precisión del método de Tessier a partir de su comparación con otras metodologías de extracción secuencial, tales como BRC (abreviación del inglés *Community Bureau of Reference of the European Commission*) (Ure et al., 1993), Hall et al. (1996), entre otros.

Gleyzes et al. argumenta que la hidroxilamina, utilizada para la extracción de la fracción asociada a óxidos de Fe y Mn (sección 3.4.1), no es completamente efectiva como extractante, en especial en suelos con altas concentraciones de Fe (Gleyzes et al., 2001), subestimando la fracción reducible, y, por lo tanto, sobreestimando la fracción residual. Para esto, sugiere concentraciones mayores de hidroxilamina, mayor tiempo de agitación o disminución del pH. En este estudio también se menciona que la disolución de carbonatos en la segunda etapa (fracción asociada a carbonatos) resulta incompleta si las muestras tienen altos contenidos de carbonato (>16%) (Tack & Verloo, 1996), por lo que la disolución se completaría en la siguiente etapa (fase asociada a óxidos), provocando una sobreestimación de esta. La sobreestimación de la fase reductible también es mencionada por Mihaljevič et al. (2003) a partir de la comparación en paralelo con otras tres metodologías, asociándolo de igual manera a la disolución incompleta de los carbonatos.

Relacionado con la segunda opción, existe un importante factor a considerar, y que probablemente sea el responsable de los altos porcentajes asociados a la fase residual; la capacidad de las muestras de aumentar el pH de los extractante. Es altamente

probable que las extracciones fuesen inefectivas dada la dificultad de obtener o mantener condiciones ácidas, es decir, en las fases asociadas a Carbonatos, Óxidos, y M.O., donde no se habían cumplido los requisitos necesarios. Esto llevaría a una sobreestimación acumulativa de la fase residual.

Aplicando lo anterior a los resultados obtenidos en el trabajo actual, en las muestras de caliza se generarían las mayores incertidumbres dado que son suelos con altos contenidos de carbonato y también con alto contenido de Fe debido a la precipitación de oxihidróxidos. Para determinar la magnitud y su implicancia en los resultados es necesario realizar en paralelo otras metodologías, tal como lo han hecho otros autores (Mihaljevič et al., 2003; Wan et al., 2017). En el caso de las muestras de zeolita, la sobreestimación de la fase residual debería ser menor que en la muestra de caliza, pero con los datos disponibles no sería posible analizar dicha diferencia.

## 5 Conclusiones

Los resultados de las digestiones totales permitieron observar que la distribución de As y Fe es dependiente, principalmente, del tipo de sustrato, mientras que las magnitudes de las concentraciones en la fase sólida aumentan en presencia de *Phragmites australis*, y son mayores en los sustratos de piedra caliza que en los de zeolita. El As tiende a ser removido, en ambos tipos de celdas, en su primera sección (entrada). El Fe también se distribuye de esta forma en las celdas de caliza, pero tiende a distribuirse uniformemente en las celdas de zeolita.

Los fraccionamientos de As y Fe, y, por ende, los mecanismos de remoción también mostraron ser principalmente dependientes del tipo de sustrato. La vegetación, según los análisis realizados en hoja y tallos, se comporta como exclusora, con una baja influencia en el fraccionamiento. Los resultados son insuficientes para determinar su rol como fitoestabilizadora. Dadas las diferencias observadas entre las concentraciones totales de As en la salida y entrada de las celdas, el o los mecanismos de remoción de As podrían definirse por el fraccionamiento observado en las entradas. En el caso del Fe, este criterio sólo es aplicable para las celdas de caliza, ya que las de zeolita mostraron distribuciones de concentraciones totales de Fe similares entre ubicaciones.

Es altamente probable que la fase residual haya sido sobreestimada en todos los casos dada la dificultad de generar condiciones ácidas en las extracciones. Bajo este argumento, y con la información disponible, se considerará que la fase más abundante fue la asociada a óxidos de Fe y Mn, y, por lo tanto, que la coprecipitación del As con oxihidróxidos de Fe fue el principal mecanismo de remoción en todos los tipos de CW. Esto se ve respaldado por la correlación entre las concentraciones de As y Fe asociadas a la fase sólida, y por la zonación de oxihidróxidos observada en los humedales. Para evaluar la posibilidad de sobreestimación, es necesario complementar este estudio con otros SEP que puedan sortear las dificultades presentadas por suelos con capacidad de neutralizar los reactantes.

La fase asociada a materia orgánica fue la tercera más abundante, presentando porcentajes de As de hasta 11% en los humedales de caliza, y hasta de 30% en humedales de zeolita, distribuyéndose independientemente de la ubicación y de presencia de vegetación. Basándose en lo argumentado por Singhakant et al. (2009), estos bajos porcentajes asociados a M.O. podrían ser atribuidos a un tiempo de operación insuficiente como para generar una descomposición importante de materia orgánica.

## 6 Recomendaciones

### 6.1 Metodología

Desde su propuesta, el método de Tessier ha sido objeto de críticas relacionadas a la selectividad y eficacia de sus extractantes. Como se mencionó anteriormente (sección 4.4) la estimación de la fase asociada a óxidos de Fe y Mn puede llegar a ser imprecisa dependiendo del tipo de suelo analizado, mientras que la fase residual pudo haber sido sobreestimada por no lograr las condiciones necesarias durante la extracción, por lo que para mejorar la precisión (o validar) los resultados surge la necesidad de realizar otros SEP (u otra metodología que permita estudiar el fraccionamiento) de forma paralela, como también de realizar la quinta etapa del método original. Una metodología candidata corresponde a la planteada por Keon et al. (2001), un SEP propuesto específicamente para el estudio del As. Adicionalmente, para corroborar el fraccionamiento de As y Fe obtenido, y en específico, poder diferenciar los minerales o precipitados involucrados en los mecanismos de remoción, se debe evaluar la posibilidad de utilizar otras herramientas, tales como microscopía electrónica de barrido/espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (SEM/EDS, por sus siglas en inglés) o cristalografía con rayos X (XRC, por sus siglas en inglés), que permitan identificar las fases cristalinas de As y Fe.

Se recomienda evaluar el efecto de la interacción de As y Fe con los demás contaminantes presentes en el agua sintética (aluminio, plomo, zinc, sulfato, entre otros) utilizada en el sistema de CW, así como el efecto de la posible presencia de microorganismos. Este cambio de enfoque no cambiaría los resultados obtenidos, aparte de las críticas realizadas a estos a lo largo del trabajo, pero si permitiría evaluar otros mecanismos además de la sorción/coprecipitación con óxidos, tales como la precipitación de sulfuros de Fe o arsenosulfuros, volatilización de As y reacciones redox mediadas por bacterias.

En lo posible, el muestreo de los sustratos se debe realizar poco después de la detención de la operación de los humedales. Existe la posibilidad de que el fraccionamiento de As y Fe se haya visto afectado por el cambio a condiciones oxidantes durante el drenaje de las celdas, lo que para los resultados implicaría una reducción en lo asociado a M.O. y un aumento a lo asociado a óxidos.

## 6.2 Implicancias para CWs

Los resultados indicarían que el sustrato más eficiente y eficaz en la remoción de As y Fe correspondería a la piedra caliza, dado que estas celdas presentaron mayores concentraciones totales de As y Fe, habiendo tratado un mayor volumen de agua y manteniendo la eficiencia de remoción. Sin embargo, es probable que la distribución heterogénea de los precipitados de Fe pudiera generar una colmatación del medio más acelerada en la primera sección del humedal de caliza, por lo que se necesitarían mantenciones enfocadas en la entrada de los humedales. Por otro lado, en humedales de zeolitas es más probable que este mantenimiento fuese ser menos frecuente, pero se tendría que realizar en la totalidad del medio. Esto se podría analizar a través de un periodo de operación de los humedales a escala de laboratorio lo suficientemente largo para generar colmatación parcial o completa de los medios.

Si las tendencias obtenidas en este trabajo se mantuvieran a largo plazo, se podría aseverar que, si el CW se encontrara en una zona de difícil acceso, el uso de zeolita como medio de soporte sería recomendable dada la menor frecuencia de la mantención. De no ser así, el uso de piedra caliza sería el recomendado, dado que las mantenciones serían más cortas y de menor dificultad.

Se requieren estudios adicionales para determinar cómo variaría el fraccionamiento de los contaminantes en función del tiempo, lo cual se podría asociar a la vida útil de las celdas. Una forma de estudiarlo sería el análisis de sustratos de celdas con distintos tiempos de operación, manteniendo el resto de los factores como una constante, y en vista de los resultados, se precisa la presencia de vegetación.

Se pudo observar un porcentaje importante asociado a óxidos de Fe y Mn, la cual, de acuerdo con su definición, es inestable bajo condiciones reductoras. Estas condiciones son más propensas a ocurrir en HSSF que en otros tipos de CW, por lo que se recomienda evaluar la influencia del tipo de flujo en el fraccionamiento de los contaminantes, con el fin de determinar una combinación óptima.



# Bibliografía

- Abbaspour, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 19(2), 164–174.
- Ahumada Theoduloz, G. (2003). Tratamiento de agua potable en Chile: Remoción de arsénico. En *Analytica Chimica Acta* (Vol. 499, pp. 139–147).
- Alkorta, I., Becerril, J. M., & Garbisu, C. (2010). Phytostabilization of Metal Contaminated Soils. *Reviews on Environmental Health*, 25(2), 135–146.
- ATDSR. (2007). Public Health Statement Arsenic. *U.S Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1–10.
- Baker, A. J. M. (1981). Accumulators and excluders -strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1–4), 643–654.
- Bang, S., Johnson, M. D., Korfiatis, G. P., & Meng, X. (2005). Chemical reactions between arsenic and zero-valent iron in water. *Water Research*, 39(5), 763–770.
- Blute, N. K., Brabander, D. J., Hemond, H. F., Sutton, S. R., Newville, M. G., & Rivers, M. L. (2004). Arsenic Sequestration by Ferric Iron Plaque on Cattail Roots. *Environmental Science & Technology*, 38(22), 6074–6077.
- Bonanno, G., & Lo Giudice, R. (2010). Heavy metal bioaccumulation by the organs of *Phragmites australis* (common reed) and their potential use as contamination indicators. *Ecological Indicators*, 10(3), 639–645.
- Borgoño, J. M., Vicent, P., Venturino, H., & Infante, A. (1977). Arsenic in the drinking water of the city of Antofagasta: epidemiological and clinical study before and after the installation of a treatment plant. *Environmental Health Perspectives*, 19(August), 103–105.
- Bugueño, M. P. (2014). *Competencia de mecanismos bióticos y abióticos en el transporte de arsénico en el Río Loa: Efectos de macrófitas en los flujos y acumulación de arsénico*. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Bugueño, M. P., Acevedo, S. E., Bonilla, C. A., Pizarro, G. E., & Pasten, P. A. (2014). Differential arsenic binding in the sediments of two sites in Chile's lower Loa River basin. *Science of the Total Environment*, 466–467, 387–396.
- Cáceres Valencia, A. (1999). *Arsénico, normativas y efectos en la salud. XIII Congreso de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Congreso De Ingeniería Sanitaria Y Ambiental Aidis*.

- Carotenuto, M., Lofrano, G., & Sharma, S. K. (2014). Arsenic Contamination: An Overview. En S. K. Sharma (Ed.), *Heavy Metals In Water* (pp. 86–121). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Caussy, D. (2003). Case studies of the impact of understanding bioavailability: Arsenic. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56(1), 164–173.
- Choong, T. S. Y., Chuah, T. G., Robiah, Y., Gregory Koay, F. L., & Azni, I. (2007). Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: an overview. *Desalination*, 217(1–3), 139–166.
- Dirección General de Aguas. (2008). *Evaluación preliminar de alternativas de mitigación de contaminantes en el Río Lluta a partir de una caracterización de las fuentes de contaminación*. Santiago.
- Dixit, S., & Hering, J. G. (2003). Comparison of Arsenic(V) and Arsenic(III) Sorption onto Iron Oxide Minerals: Implications for Arsenic Mobility. *Environmental Science & Technology*, 37(18), 4182–4189.
- Echeverría Pardo, P. I. (2018). *Remoción de arsénico y otros contaminantes utilizando humedales construidos de flujo sub-superficial horizontal. efecto del tipo de medio de soporte y la presencia de vegetación*. Universidad de Chile.
- Elizalde-Gonzalez, M. P., Mattusch, J., Einicke, W.-D., & Wennrich, R. (2001). Sorption on natural solids for arsenic removal. *Chemical Engineering Journal*, 81, 187–195.
- Erdem, E., Karapinar, N., & Donat, R. (2004). The removal of heavy metal cations by natural zeolites. *Journal of Colloid and Interface Science*, 280(2), 309–314.
- Ferreccio, C. (2013). *Nuevas evidencias sobre los efectos crónicos de la exposición a arsénico en agua potable en Chile*. Anfogatasta.
- Ferreccio, C., & Sancha, A. M. (2006). Arsenic exposure and its impact on health in Chile. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 24(2), 164–175.
- Fuentealba, J. (2017). *Efecto de la vegetación y la carga superficial en la distribución de tiempos de retención de humedales artificiales para la remoción de arsénico*. Universidad de Chile.
- Ghassemzadeh, F., Yousefzadeh, H., & Arbab-Zavar, M. H. (2008). Arsenic phytoremediation by *Phragmites australis*: Green technology. *International Journal of Environmental Studies*, 65(4), 587–594.
- Gleyzes, C., Tellier, S., Sabrier, R., & Astruc, M. (2001). Arsenic Characterisation in Industrial Soils by Chemical Extractions. *Environmental Technology*, 22(1), 27–38.

- Gleyzes, Christine, Tellier, S., & Astruc, M. (2002). Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(6–7), 451–467.
- Goldberg, S., & Glaubig, R. A. (1988). Anion Sorption on a Calcareous, Montmorillonitic Soil—Arsenic. *Soil Science Society of America Journal*, 52(5), 1297.
- Gorby, M. S. (1988). Arsenic Poisoning. *The western journal of medicine*, 149(3), 308–315.
- Guerra, P., Gonzalez, C., Escauriaza, C., Pizarro, G., & Pasten, P. (2016). Incomplete Mixing in the Fate and Transport of Arsenic at a River Affected by Acid Drainage. *Water, Air, and Soil Pollution*, 227(3).
- Hall, G. E. M., Vaive, J. E., Beer, R., & Hoashi, M. (1996). Selective leaches revisited, with emphasis on the amorphous Fe oxyhydroxide phase extraction. *Journal of Geochemical Exploration*, 56(1), 59–78.
- Henke, K. R. (2009). *Arsenic: Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*. *Arsenic: Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*. John Wiley & Sons.
- Henry-Pinilla, 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.
- Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., & Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: A historical perspective. *Toxicological Sciences*, 123(2), 305–332.
- Instituto Nacional de Normalización. (1978). Norma Chilena Nacional NCh 1333.Of78 Requisitos de Calidad del Agua para Diferentes Usos.
- Instituto Nacional de Normalización. (2005). Norma Chilena Nacional NCh 409/1.Of2005 Agua potable -Parte 1 - Requisitos.
- Jaque, I. (2017). *Cuantificación de la capacidad de remoción de arsénico y otros contaminantes utilizando humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal*. Universidad de Chile.
- Kadlec, R., & Wallace, S. (2009). *Treatment Wetlands*. (Taylor & Francis Group, Ed.) (2nd ed.). CRC Press.
- Keon, N. E., Swartz, C. H., Brabander, D. J., Harvey, C., & Hemond, H. F. (2001). Validation of an arsenic sequential extraction method for evaluating mobility in sediments. *Environmental science & technology*, 35(13), 2778–2784.

- Kong, X.-Z., Seyfried, W. E., Garapati, N., Bagley, B. C., Saar, M. O., Luhmann, A. J., & Tutolo, B. M. (2014). Experimental dissolution of dolomite by CO<sub>2</sub>-charged brine at 100°C and 150bar: Evolution of porosity, permeability, and reactive surface area. *Chemical Geology*, 380, 145–160.
- Lagos, G. (2017). *Perspectiva para el tratamiento de concentrados complejos en Chile. Seminario internacional Desafíos y oportunidades en el tratamiento y gestión del arsénico en la industria minera chilena.*
- Leiva, E. D., Rámila, C. d. P., Vargas, I. T., Escauriaza, C. R., Bonilla, C. A., Pizarro, G. E., Regan, J. M., Pasten, P. A. (2014). Natural attenuation process via microbial oxidation of arsenic in a high Andean watershed. *Science of The Total Environment*, 466–467, 490–502.
- Liu, W. J., Zhu, Y. G., Hu, Y., Williams, P. N., Gault, A. G., Meharg, A. A., ... Smith, F. A. (2006). Arsenic Sequestration in Iron Plaque, Its Accumulation and Speciation in Mature Rice Plants ( *Oryza Sativa* L.). *Environmental Science & Technology*, 40(18), 5730–5736.
- Lizama-Allende, K. (2013). *Subsurface flow constructed wetlands for the removal of arsenic and metals from contaminated water.* Monash University.
- Lizama-Allende, K., Fletcher, T. D., & Sun, G. (2011a). Enhancing the removal of arsenic, boron and heavy metals in subsurface flow constructed wetlands using different supporting media. *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 63(11), 2612–2618.
- Lizama-Allende, K., Fletcher, T. D., & Sun, G. (2011b). Removal processes for arsenic in constructed wetlands. *Chemosphere*, 84(8), 1032–1043.
- Lizama-Allende, K., Fletcher, T. D., & Sun, G. (2011c). The effect of substrate media on the removal of arsenic, boron and iron from an acidic wastewater in planted column reactors. *Chemical Engineering Journal*, 179, 119–130.
- Lizama-Allende, K., McCarthy, D. T., & Fletcher, T. D. (2014). The influence of media type on removal of arsenic, iron and boron from acidic wastewater in horizontal flow wetland microcosms planted with *Phragmites australis*. *Chemical Engineering Journal*, 246, 217–228.
- Mandal, B. K., & Suzuki, Kazuo, T. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58(1), 201–235.
- May, T. W., & Wiedmeyer, R. H. (1998). A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. *Atomic Spectroscopy*, 19(5), 150–155.
- McGrath, S. P., & Zhao, F. J. (2003). Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(3), 277–282.

- Mihaljevič, M., Poňavič, M., Ettler, V., & Šebek, O. (2003). A comparison of sequential extraction techniques for determining arsenic fractionation in synthetic mineral mixtures. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.
- Ng, K.-S., Ujang, Z., & Le-Clech, P. (2004). Arsenic Removal Technologies for Drinking Water Treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3(1), 43–53.
- Ngo, H. H., Vigneswaran, S., Hu, J. Y., Thirunavukkarasu, O., & Viraraghavan, T. (2002). A comparison of conventional and non-conventional treatment technologies on arsenic removal from water. *Water Science and Technology: Water Supply*, 2(5–6), 119–125.
- Noiriel, C., Gouze, P., & Bernard, D. (2004). Investigation of porosity and permeability effects from microstructure changes during limestone dissolution. *Geophysical Research Letters*, 31(24), 1–4.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). *Iron in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality* (Vol. 2). [https://doi.org/http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/ph.pdf](https://doi.org/http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/ph.pdf)
- Organización Mundial de la Salud. (2011). *Arsenic in drinking water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality* (Vol. 27). <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2011.05.002>
- Payne, K. B., & Abdel-Fattah, T. M. (2005). Adsorption of arsenate and arsenite by iron-treated activated carbon and zeolites: Effects of pH, temperature, and ionic strength. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 40(4), 723–749.
- Rao, C. R. M., Sahuquillo, A., & Lopez Sanchez, J. F. (2008). A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. *Water, Air, and Soil Pollution* (Vol. 189).
- Romero, F., Armienta, M., & Carrillo-Chavez, A. (2004). Arsenic sorption by carbonate-rich Aquifer material, a control on arsenic mobility at Zimapán, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(1), 1–13.
- Sancha, A. M. (2006). Review of coagulation technology for removal of arsenic: Case of Chile. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 24(3), 267–272.
- Singhakant, C., Koottatep, T., & Satayavivad, J. (2009). Fractional analysis of arsenic in subsurface-flow constructed wetlands with different length to depth ratios. *Water Science and Technology*, 60(7), 1771–1778.

- Smedley, P. L., & Kinniburgh, D. G. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17(5), 517–568.
- Snoeyink, V. L., & Jenkins, D. (1980). *Water chemistry*. Wiley.
- Tack, F. M., & Verloo, M. G. (1996). Impact of single reagent extraction using NH<sub>4</sub>OAc-EDTA on the solid phase distribution of metals in a contaminated dredged sediment. *Science of the Total Environment*, 178(1–3), 29–36.
- Tarbuck, E. J., & Lutgens, F. K. (2005). *Ciencias de la tierra: una introducción a la Geología Física* (8va ed.). Pearson Educación.
- Tessier, A., Campbell, P. G. C., & Bisson, M. (1979). Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. *Analytical Chemistry*, 51(7), 844–851.
- Ure, A. M., Quevauviller, P., Muntau, H., & Griepink, B. (1993). Speciation of Heavy Metals in Soils and Sediments. An Account of the Improvement and Harmonization of Extraction Techniques Undertaken Under the Auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 51(1–4), 135–151.
- US EPA (1996). Method 3050B: Acid digestion of sediments, sludges, and soils.
- US EPA (2001). The arsenic rule: background and rule provisions, 1–46.
- US EPA (2007). Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils.
- Wan, X., Dong, H., Feng, L., Lin, Z., & Luo, Q. (2017). Comparison of three sequential extraction procedures for arsenic fractionation in highly polluted sites. *Chemosphere*, 178, 402–410.
- Wang, H., & Jia, Y. (2009). Bioaccumulation of heavy metals by *Phragmites australis* cultivated in synthesized substrates. *Journal of Environmental Sciences*, 21(10), 1409–1414.
- Wang, S., & Mulligan, C. N. (2008). Speciation and surface structure of inorganic arsenic in solid phases: A review. *Environment International*, 34(6), 867–879.
- Yost, L. J., Schoof, R. A., & Aucoin, R. (1998). Human and Ecological Risk Assessment : An Intake of Inorganic Arsenic in the North American Diet Intake of Inorganic Arsenic in the North American Diet, (October 2012), 37–41.
- Zhang, W., Singh, P., Paling, E., & Delides, S. (2004). Arsenic removal from contaminated water by natural iron ores. *Minerals Engineering*, 17(4), 517–524.

# **ANEXOS**

## ANEXO A: Detalle metodología EPA 3051A

La determinación las concentraciones totales se realiza por dos razones. La primera es que con estos resultados es posible identificar cómo el As y Fe se distribuyen a lo largo y profundo de los sustratos, evidenciando la existencia o no de diferencias entre los tipos de celdas. La segunda razón es porque las concentraciones totales son también referencia para evaluar los resultados obtenidos del SEP (Bugueño, 2014; Tessier et al., 1979), esto ya que la suma de todas las fracciones no debería ser mayor que la concentración total.

La metodología empleada corresponde al método 3051A de la US EPA (2007), correspondiente a una digestión de sedimentos, suelos, lodos y aceites asistida por microondas. Ésta fue realizada en el laboratorio de calidad del agua del DIHA de la Pontificia Universidad Católica de Chile. El proceso se describe a continuación:

1. Se pesaron aproximadamente 500 [ $\mu g$ ] de las muestras, previamente molidas y tamizadas, en los recipientes de digestión utilizando balanza analítica (Figura A-1).



Figura A-1. Pesaje de muestras en balanza analítica.

2. Bajo una campana de extracción, se agregaron  $9 \pm 0,1$  [ $ml$ ] de ácido nítrico ( $HNO_3$ ) al 65% y  $3 \pm 0,1$  [ $ml$ ] de ácido clorhídrico ( $HCl$ ) al 37% para análisis, respectivamente, en cada uno de los recipientes (Figura A-2).





Figura A-2. Recipientes sellados, junto a las soluciones ácidas utilizadas.

3. Luego, los recipientes fueron dispuestos en un carrusel e instalados dentro del microondas. El equipo utilizado corresponde a un sistema de reacción acelerado por microondas (MARS, por sus siglas en inglés) modelo 230/60 (Figura A-3) el cual posee la rutina del método 3051-A en su programación. Al iniciar el programa, el sistema comienza a calentarse por 5 [min] 30 [s] hasta llegar a una temperatura de 175[°C], manteniéndose por 4 [min] 30 [s] más.



Figura A-3. Recipientes dispuestos en su carrusel dentro del MARS.

- Una vez terminado el programa del MARS, se debió esperar que los recipientes se enfriaran por al menos 10 [min]. Pasado este tiempo, cada recipiente fue abierto lentamente bajo una campana extractora, de tal forma que los gases contenidos no se liberen de forma brusca. Luego, el contenido de cada recipiente fue filtrado en frascos volumétricos y aforados a 50 [mL] con agua mili-Q (Figura A-4).



Figura A-4. Proceso de tamizado y aforado.

- Finalmente, el contenido de los frascos volumétricos fue trasvasiado a tubos de centrifuga de 50 [mL], y luego refrigerados a  $<4$  [°C] hasta su entrega al CEGA.

## ANEXO B: Detalle metodología SEP

Los instrumentos utilizados en la realización del SEP, pertenecientes al Laboratorio de calidad del agua Gabriela Castillo, DIC, Universidad de Chile, son los listados a continuación:

- Filtros MCE para jeringa, 0,45 [ $\mu m$ ]
- Centrífuga Hettich modelo Universal 320
- Meter Hach HQ40d para ajuste de pH
- Placa calentadora de cerámica DLAB, modelo MS7-H550-Pro
- *Shaker* incubator Zhicheng, modelo ZHWY-200D
- Tubos de centrífuga de fondo cónico ZELLE, 50 [ $mL$ ]
- *Ultra-pure water system* Milli-Q *plus* (18,2 [ $M\Omega/cm$ ])

Por otro lado, los reactivos utilizados para la preparar los extractantes son los que siguen a continuación:

- Acetato de amonio para análisis, Merck
- Acetato de sodio trihidratado para análisis, Merck
- Ácido acético al 90%, Arquimed
- Ácido nítrico al 65% para análisis, Merck
- Agua oxigenada para análisis al 30%, Winckler
- Cloruro de magnesio hexahidratado, Merck
- Hidrocloruro de hidroxilamina, J.T. Baker

A continuación, se detalla la metodología usada para el procedimiento de extracción secuencial:

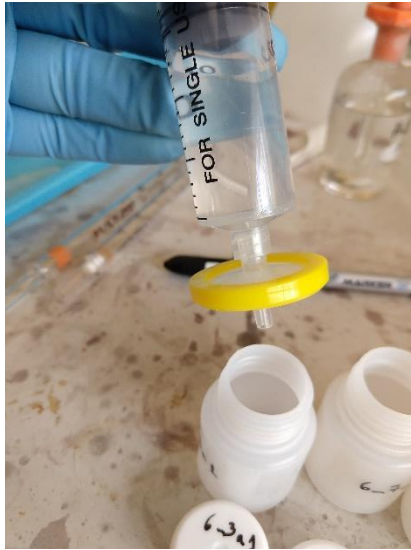
1. Se comenzó con el pesaje de 2,00 [ $g$ ] de cada muestra, previamente molidas y tamizadas, en los tubos de centrífuga utilizando balanza analítica. Esto se hizo en

lotes de seis tubos, dada la capacidad máxima de la centrífuga. Cada tubo fue rotulado con su tapa correspondiente.

2. Utilizando la micropipeta se agregó el reactante según la etapa correspondiente.
3. En el caso de ser una etapa de agitación continua y de baja temperatura (<40 [°C]), ésta se realizó en el shaker, en el cual se puede programar el tiempo, frecuencia y temperatura de la agitación, que dependerá de la etapa correspondiente según lo mostrado en la Tabla 3-5. Una vez posicionados los tubos dentro del shaker utilizando una rejilla, se debía iniciar el programa y luego esperar hasta su término. La frecuencia de agitación fue, indistintamente de la etapa, de 300 [rpm].
4. En el caso de ser una agitación ocasional y de alta temperatura, se utilizó una placa calentadora para realizar un baño maría<sup>7</sup>, todo bajo una campana de extracción. Para esto, los tubos de centrífuga fueron debidamente cerrados e inmersos en el baño maría una vez que la temperatura fuese alcanzada. La agitación fue realizada manualmente en intervalos de 30 [min], procurando resuspender el sedimento. Se optó por esta metodología para evitar trasvasijar el contenido, disminuyendo la contaminación de la muestra. La temperatura y tiempo de extracción dependieron de la etapa correspondiente.
5. Una vez realizada la extracción, ya sea utilizando el shaker (punto 3) o placa calentadora (punto 4), siguió la centrifugación de las muestras. Estas fueron realizadas a 9000 [rpm] por 30 [min], así separando la fase líquida de la sólida remanente. Luego, se extrajo de cada tubo la fase líquida usando una jeringa de 50 [ml] (distinta para cada muestra), teniendo precaución de no resuspender el sedimento, la que después es filtrada con una membrana de 0,45 [µm] (Figura B-1) y almacenada en frascos plásticos. La fase líquida es acidificada con ácido nítrico (65%) y luego refrigerada (< 4 °C) para su entrega al laboratorio para su análisis.

---

<sup>7</sup> Corresponde a calentar la muestra sumergiéndola en agua caliente



**Figura B-1. Filtración de fase líquida**

6. Las fases sólidas remanente fueron lavadas con 16 [mL] de agua desionizada Milli-Q y centrifugadas nuevamente por 30 [min], y luego la fase líquida es descartada. De esta forma, el suelo remanente estaba preparado para la siguiente extracción, y en los casos en que esta no se realizase inmediatamente, la muestra era refrigerada hasta la siguiente etapa de extracción.