

**UNIVERSIDAD NACIONAL
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DEL AMBIENTE
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**“MEJORAMIENTO DEL HUMEDAL CONSTRUIDO PARA LA RECUPERACIÓN
DE LA CALIDAD DE AGUA DEL DRENAJE ÁCIDO, MESAPATA, RECUAY,
ÁNCASH”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR:

Bach. DAVID ELIAS OSORIO TREJO

ASESOR:

Dr. EDWIN JULIO PALOMINO CADENAS

Huaraz - Áncash - Perú

Febrero, 2022



FORMATO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN, CONDUCENTES A
OPTAR TÍTULOS PROFESIONALES Y GRADOS ACADÉMICOS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

1. Datos del autor:

Apellidos y Nombres: _____

Código de alumno: _____

Teléfono: _____

E-mail: _____

D.N.I. n°: _____

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Tipo de trabajo de investigación:

Tesis

Trabajo de Suficiencia Profesional

Trabajo Académico

Trabajo de Investigación

Tesinas (presentadas antes de la publicación de la Nueva Ley Universitaria 30220 – 2014)

3. Para optar el Título Profesional de:

4. Título del trabajo de investigación:

5. Facultad de: _____

6. Escuela o Carrera: _____

7. Línea de Investigación (*): _____

8. Sub-línea de Investigación (*): _____

() Según resolución de aprobación del proyecto de tesis*

9. Asesor:

Apellidos y nombres _____ D.N.I n°: _____

E-mail: _____ ID ORCID: _____

10. Referencia bibliográfica: _____

11. Tipo de acceso al Documento:

Acceso público* al contenido completo.

Acceso restringido** al contenido completo

Si el autor eligió el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Santiago Antúnez de Mayolo una licencia no exclusiva, para que se pueda hacer arreglos de forma en la obra y difundirlo en el Repositorio Institucional, respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso de que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:



12. Originalidad del archivo digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.



Firma del autor

13. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para las investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia Creative Commons, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica.



El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12º del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI "Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Recolector Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA".

14. Para ser verificado por la Dirección del Repositorio Institucional

Seleccione la
Fecha de Acto de sustentación:

Huaraz,

Firma:



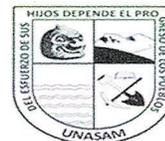
Varillas William Eduardo

Asistente en Informática y Sistemas

- UNASAM -

***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

**** Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.



“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

ACTA DE SUSTENTACIÓN Y DEFENSA DE TESIS

Los miembros del Jurado Evaluador de Tesis, en pleno que suscriben, reunidos el 26 de abril del dos mil veintidós, en la sala virtual de la Facultad de Ciencias del Ambiente (FCAM) en la plataforma de Microsoft Teams (MT) de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo (UNASAM), y en la sala virtual del Facebook Life, de conformidad a la normatividad vigente condujeron el acto académico público de sustentación y defensa virtual de la tesis **“MEJORAMIENTO DEL HUMEDAL CONSTRUIDO PARA LA RECUPERACIÓN DE LA CALIDAD DE AGUA DEL DRENAJE ÁCIDO, MESAPATA, RECUAY, ÁNCASH”** que presentó **DAVID ELIAS OSORIO TREJO** para optar el **Título Profesional de Ingeniero Ambiental**.

Después de haber atendido la sustentación y defensa oral, y haber escuchado las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

.....
APROBADO
.....

Con el calificativo de: **..... DIECISEIS (16)**

En consecuencia, **DAVID ELIAS OSORIO TREJO** queda expedito para que el Consejo de Facultad de la Facultad de Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo” apruebe el otorgamiento de su **Título Profesional de Ingeniero Ambiental** de conformidad al Art. 113 numeral 113.9 del Reglamento General de la UNASAM (Resolución de Consejo Universitario N° 399-2015-UNASAM), el Art. 48° y 4ta. disposición complementaria del Reglamento General de Grados y Títulos de la UNASAM (Resolución de Consejo Universitario - Rector N° 761-2017-UNASAM y Resolución de Consejo Universitario - Rector N° 211-2020-UNASAM que incorpora la sustentación virtual), el Art. 160° del Reglamento de Gestión de la Programación, Ejecución y Control de las Actividades Académicas (Resolución de Consejo Universitario - Rector N° 232-2017-UNASAM) y el Instructivo para sustentación virtual de tesis (Resolución de Consejo de Facultad N° 051-2020-UNASAM- FCAM del 24/octubre/2020).

Huaraz, 26 de Abril del 2022

DR. HERACLIO FERNANDO CASTILLO PICON
Presidente
Jurado de sustentación

MSc. MARIO VLADIMIR LEYVA COLLAS
Primer miembro
Jurado de sustentación

MSc. VLADIMIR ALFONSO LEON MENACHO
Segundo miembro
Jurado de sustentación

Dr. EDWIN JULIO PALOMINO CADENAS
Asesor de tesista

DEDICATORIA

A Dios.

A mis padres, Ángel Osorio Aguilar e Hilda Trejo León, quienes me han brindado todo su apoyo en mi desarrollo profesional.

A mis hermanas, Yuli Osorio Trejo, Yesenia Osorio Trejo y Emeli Osorio Trejo.

A mis familiares y amigos que apoyaron al desarrollo de la presente tesis.

David Elias Osorio Trejo

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a Dios por la bendición y la protección diaria a lo largo de mi vida personal y mi desarrollo profesional. A mis familiares, por la confianza, apoyo y comprensión brindado a lo largo de cada etapa y logro alcanzado de manera personal y global.

A la Facultad de Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, por brindarme las herramientas y conocimientos necesarios para el desarrollo de mis habilidades durante mi ejercicio profesional. A los docentes, por compartir sus experiencias y consejos obtenidos a lo largo de su trayectoria profesional dentro y fuera de las instalaciones de la institución.

Al Proyecto CASCADA de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y a FONDECYT por el financiamiento de la tesis a través del proyecto denominado “Sistema de biorremediación compacto aerobio y anaerobio (BIODAM) para el tratamiento de Drenaje Ácido de Mina del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata, Recuay, Áncash. (Código del proyecto N° 044-2021-FONDECYT)”. A los investigadores involucrados en dichos proyectos por el apoyo brindado durante el desarrollo de las actividades relacionadas al proyecto.

A mi asesor el Dr. Edwin Julio Palomino Cadenas, por la amistad brindada, por la confianza, el tiempo, la paciencia y los aportes en cada etapa de desarrollo de la tesis, haciendo posible su desarrollo.

A mis compañeros y amigos, que durante el trayecto estudiantil nos apoyamos en cada actividad para el logro de nuestros objetivos profesionales.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo mejorar el humedal construido de Mesapata para recuperar la calidad del agua del Drenaje Ácido de Mina (DAM); para ello, se realizó pruebas de los componentes del humedal en condiciones controladas de invernadero.

El desarrollo de la investigación consistió en 3 etapas, etapa de aislamiento de Bacterias Sulfato Reductoras, evaluación de los componentes del humedal (tratamiento) y la etapa de monitoreo. La etapa de aislamiento del consorcio de Bacterias Sulfato Reductoras consistió en aislar las bacterias anaeróbicas recolectadas de la estación de muestreo de Mesapata y Pastoruri, en los medios de cultivo que favorezcan su crecimiento tales como el medio de cultivo Postgate B y la columna Winogradsky, bajo condiciones controladas de invernadero. En la etapa de tratamiento se evaluó los componentes del humedal de manera independiente y sinérgica para determinar su eficiencia en la remoción de metales pesados respecto al tiempo. En la última etapa de la investigación se enfocó en el control y monitoreo de parámetros cualitativos en el crecimiento de las bacterias en los medios de cultivo y los parámetros fisicoquímicos y químicos en la etapa de evaluación de los componentes del humedal.

Las bacterias presentaron mayor velocidad de crecimiento en la columna de Winogradsky a comparación del medio de cultivo Postgate B; sin embargo, en un tiempo promedio de 2 meses estas bacterias presentaron crecimiento moderado a alto. El ennegrecimiento del medio de cultivo y la generación de gases con presencia de sulfuro (olor a huevo podrido) son las características evaluadas dentro del monitoreo de las Bacterias sulfato Reductoras.

En la evaluación de los componentes del humedal, el tratamiento que presenta mayor eficiencia de remoción de metales pesados y mejoramiento de los parámetros fisicoquímicos, son los tratamientos sinérgicos entre las Bacterias Sulfato Reductoras, el compost, la grava y las plantas fitorremediadoras debido a que presentan mayores eficiencias respecto a los tratamientos independiente de los componentes del humedal.

Finalmente, en la investigación se recomienda usar el tratamiento sinérgico de los componentes del humedal para la obtención de mejores eficiencias en la remoción de metales pesados y la recuperación de la calidad de un drenaje ácido de mina y drenaje ácido de roca.

Palabras clave: Humedales construidos, Bacterias Sulfato Reductoras, drenajes ácidos de mina, biorremediación.

ABSTRACT

The objective of this study was to improve the Mesapata constructed wetland to recover the quality of the water from the Acid Mine Drainage (AMD); For this, tests of the wetland components were carried out under controlled greenhouse conditions.

The development of the research consisted of 3 stages, stage of isolation of Sulfate Reducing Bacteria, evaluation of wetland components (treatment) and monitoring stage. The isolation stage of the Sulfate Reducing Bacteria consortium consisted of isolating the anaerobic bacteria collected from the Mesapata and Pastoruri sampling stations, in a media that favor their growth, such as the Postgate B culture medium and the Winogradsky column, under controlled greenhouse conditions. In the treatment stage, the components of the wetland were evaluated independently and synergistically to determine their efficiency in the removal of heavy metals with respect to time. In the last stage of the investigation, the focus was on the control and monitoring of qualitative parameters in the growth of bacteria in the culture media and the physicochemical and chemical parameters in the evaluation stage of the wetland components.

The bacteria showed a higher growth rate in the Winogradsky column compared to the Postgate B culture medium; however, in an average time of 2 months these bacteria showed moderate to high growth. The blackening of the culture medium and the generation of gases with the presence of sulfur (rotten egg smell) are the characteristics evaluated within the monitoring of the Reducing Sulfate Bacteria. In the evaluation of the components of the wetland, the treatment that presents the highest efficiency of removal of heavy metals and improvement of the physicochemical parameters, are the synergistic treatments between the Sulfate Reducing Bacteria, the compost, the gravel and the phytoremediation plants. This being due to the fact that they present greater efficiencies compared to treatments independent of wetland components.

Finally, in the investigation it is recommended to use the synergistic treatment of the wetland components to obtain better efficiencies in the removal of

heavy metals and the recovery of the quality of acid mine drainage and acid rock drainage.

Keywords: Constructed wetlands, Sulfate Reducing Bacteria, acid mine drainage, bioremediation.



ÍNDICE

CONTENIDO	Pág.
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE TABLAS	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	xvi

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivo general.....	3
1.1.2. Objetivos específicos.....	3
1.2. Hipótesis	3
1.3. Variables	3
1.3.1. Variable independiente	3
1.3.2. Variable dependiente.....	3

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.1.1. Biorremediación de drenajes ácidos.....	4
2.1.2. Propagación de Bacterias Sulfato Reductoras	6
2.2. Bases teóricas.....	7
2.2.1. Actividad minera en el país y la región	7
2.2.2. Contaminación ambiental por actividad minera en el Perú	9
2.2.3. Generación de Drenaje Ácido de Mina	10
2.2.4. Estrategias de remediación de Drenajes Ácidos de Mina.....	11
2.2.5. Tratamiento pasivo abiótico	13
2.2.6. Tratamientos pasivos biológicos.....	13
2.2.7. Selección adecuada para el tratamiento de drenaje ácido de mina..	17
2.2.8. Humedales construidos	18
2.2.9. Mecanismos de remoción de metales en humedales construidos....	19
2.2.10. Bacterias Sulfato Reductoras	23

2.2.11.	Aislamiento de Bacterias Sulfato Reductoras.....	25
2.2.12.	Factores inhibitorios en la actividad de las BSR.....	25
2.2.13.	Límites Máximos Permisibles	26
2.3.	Definición de términos.....	27
CAPITULO III		
MARCO METODOLÓGICO		29
3.1.	Tipo de investigación.....	29
3.2.	Diseño de investigación	29
3.3.	Descripción de las estaciones de muestreo	30
3.4.	Métodos o técnicas	32
3.5.	Población y muestra.....	43
3.6.	Instrumentos validados de recolección de datos.....	44
3.7.	Plan de procesamiento y análisis estadístico de la información.....	47
CAPITULO IV		
RESULTADOS		48
4.1.	Resultados del aislamiento de Bacterias Sulfato Reductoras	48
4.2.	Resultados del tratamiento de DAM en conos Imhoff	51
4.3.	Resultados del humedal estacionario construido	56
4.4.	Determinación del nivel de inmovilización de metales	57
CAPITULO V		
DISCUSIÓN DE RESULTADOS		60
5.1.	Aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras.....	60
5.2.	Remoción de hierro en los conos Imhoff y el humedal estacionario construido	61
CAPITULO VI		
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		63
6.1.	CONCLUSIONES.....	63
6.2.	RECOMENDACIONES	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		65
ANEXOS		

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de la actividad minera en el Perú.....	8
Tabla 2: Ventajas y desventajas de los tratamientos pasivos.....	13
Tabla 3: Procesos de acuerdo con el objetivo de la remediación.....	18
Tabla 4: Contenido del medio de cultivo Postgate.....	25
Tabla 5: Composición del medio de Postgate B.....	33
Tabla 6: Composición del medio de Postgate B Modificado.....	33
Tabla 7: Composición del medio de Postgate B Mod-O.....	35
Tabla 8: Composición de la columna Winogradsky.....	35
Tabla 9: Distribución de puntos en las estaciones de muestreo.....	36
Tabla 10: Composición de los tratamientos en conos Imhoff.....	41
Tabla 11: Características del crecimiento microbiano en los medios de cultivo. .	48
Tabla 12: Caracterización promedio del DAM Mesapata.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Perú en el ranking mundial de producción minera.....	9
Figura 2. Distribución de PAM por región.....	10
Figura 3. Estrategias biológicas y abióticas para remediar DAM.....	12
Figura 4. Drenajes anóxicos de piedra caliza.....	13
Figura 5. Humedales construidos aerobios.....	14
Figura 6. Humedales construidos anaeróbicos.....	15
Figura 7. Barreras Reactivas Permeables.....	16
Figura 8. Sistemas de producción sucesiva de alcalinidad (SAPS).....	17
Figura 9. Diagrama de flujo para seleccionar el sistema o la combinación de sistemas para el tratamiento pasivo de drenajes ácidos de mina.....	18
Figura 10. Partículas con capacidad de intercambio catiónico.....	20
Figura 11. Ciclo del sulfuro.....	24
Figura 12. Resumen del diseño de investigación.....	30
Figura 13. Ubicación de puntos de muestreo Pastoruri.....	31
Figura 14. Mapa de ubicación de puntos de muestreo Mesapata.....	32
Figura 15. Vista panorámica del bofedal de Pastoruri.....	36
Figura 16. Vista aérea de Mesapata.....	37
Figura 17. Esquema de aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR) en medio de cultivo Postgate B Modificado.....	38
Figura 18. Diseño para el repique de las bacterias sulfato reductoras.....	39
Figura 19. Esquema para el repique de las bacterias sulfato reductoras en la columna Winogradsky.....	40
Figura 20. Esquema del tratamiento de DAM en conos Imhoff.....	42
Figura 21. Esquema del humedal estacionario construido.....	43
Figura 22. Curva de crecimiento de las BSR en el medio de cultivo Postgate B Modificado.....	49
Figura 23. Curva de crecimiento de las BSR en el medio de cultivo Postgate B Mod-O.....	50
Figura 24. Curva de crecimiento de las BSR en la columna Winogradsky.....	50
Figura 25. Variación del pH en el tratamiento AB.....	52
Figura 26. Variación de la concentración de Fe en el tratamiento AB.....	52
Figura 27. Variación del pH en el tratamiento AC.....	53
Figura 28. Variación de la concentración de Fe en el tratamiento AC.....	54
Figura 29. Variación del pH en el tratamiento ABC.....	55
Figura 30. Variación de la concentración de Fe en el tratamiento ABC.....	55

Figura 31. Variación del pH en el humedal estacionario construido. 56

Figura 32. Variación de la concentración de Fe en el humedal estacionario construido..... 57



LISTA DE ACRÓNIMOS

CIC	:	Capacidad de Intercambio Catiónico
Fe	:	Hierro
DAM	:	Drenaje Ácido de Mina
BSR	:	Bacterias Sulfato Reductoras
LMP	:	Límites Máximos Permisibles
pH	:	Potencial de hidrógeno
TPD	:	Toneladas por día
PET	:	Politereftalato de etileno

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La minería es la actividad económica más importante en el Perú cuya transferencia por canon minero supera los S/ 2600 millones con estimados de inversiones mineras que bordean los 26 mil millones de dólares en Ancash, a setiembre de 2020 (Instituto de Ingenieros de Minas del Perú, 2010; MINEM, 2020). No obstante, las etapas de exploración, explotación y concentración de minerales causan daños a la salud humana y el ambiente (Loayza-Muro, 2016), debido a que sus residuos generados son almacenados en grandes depósitos, llamados Pasivos Ambientales Mineros (PAM). Los PAM contienen minerales sulfurados (pirita, galena, arsenopirita y calcopirita) que por la exposición al oxígeno y agua reaccionan generando Drenajes Ácidos de Mina (DAM) (Marchand et al., 2010; Martín-Crespo et al., 2016)

En la actualidad, se tiene registrado 8448 PAM's a nivel nacional y de estos 1479 (17%) se generan en la región Áncash. El problema se va agudizando en la provincia de Recuay que aloja 204 pasivos mineros y 8 plantas concentradoras de minerales (MINEM, 2019) sin planes de mitigación de los DAM.

Para el tratamiento de los DAM se disponen de tecnologías con tratamientos activos y pasivos de libre elección (López et al., 2002). Por ello, en Mesapata, Recuay se ha implementado un sistema biotecnológico para el tratamiento de estos drenajes, el cual cuenta con un sedimentador y un humedal construido con la finalidad de neutralizar biológicamente el pH y eliminar los metales pesados. Sin embargo, el sistema no viene registrando eficiencias óptimas de remoción de metales por la falta de mantenimiento de este.

El Perú es un país megadiverso con recursos mineros, segundo productor de Cu, Zinc y Ag a nivel mundial y su economía se sustenta principalmente en esta actividad, influyendo significativamente en las exportaciones (del orden del 61.9%), de las cuales 60.5% correspondió a los minerales metálicos (Chappuis, 2019). Áncash, es un departamento por el que discurre longitudinalmente la Cordillera de los Andes, con sus picos más altos en el territorio peruano; su actividad minera a marzo de 2020 lo sitúa como primer productor de Cu, Zn, Ag y Bi a nivel nacional (MINEM, 2020). La minería, si bien es importante para el desarrollo nacional muestra la paradoja, además de ser fuente de riqueza, también de conflictos sociales.

A diciembre de 2020, se han registrado 197 conflictos sociales, de los cuales el 65.5% fueron socioambientales; el 64.3% (83 casos) corresponde a conflictos relacionados a la actividad minera (Defensoría del Pueblo, 2020).

Al 2019 se reportaban 8448 PAM's y sólo el 24% tiene acciones de remediación y reaprovechamiento; Recuay es la provincia de Áncash con mayor acumulación de PAM's. Esta falta de atención ha generado desconfianza de la población ante nuevos proyectos de exploración, explotación y concentración, así como deficiente infraestructura y de gestión por el estado, lo que finalmente ha sido la base para la generación de conflictos sociales (Chappuis, 2019).

Por ello, se debe implementar estrategias para remediar los ecosistemas perturbados, entre ellos se tiene al tratamiento pasivo que está enfocado en el uso de humedales construidos que inmovilizan los metales pesados por diferentes procesos bioquímicos constituyéndose así, como una alternativa válida para la solución de los problemas de contaminación generados por los DAM's, siendo

mucho más barata en su implementación y mantenimiento (Sánchez y Ferreira, 2016; Sieger et al., 2015).

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Mejorar el humedal construido para recuperar la calidad del agua del Drenaje Ácido de Mina (DAM) de Mesapata, Recuay, Áncash.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar el nivel de inmovilización de metales pesados por la acción de las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR).
- Determinar el nivel de inmovilización de metales pesados por acción del compost.
- Determinar el nivel de inmovilización de metales pesados por la sinergia de las BSR y compost.
- Determinar el nivel de inmovilización de metales pesados en el humedal construido.

1.2. Hipótesis

El mejoramiento del humedal construido recuperará la calidad del agua del drenaje ácido del Pasivo Ambiental Minero (PAM) de Mesapata, que está sujeto a pruebas de remoción de metales en diferentes condiciones de los componentes y condiciones sinérgicas del humedal construido.

1.3. Variables

1.3.1. Variable independiente

La variable causa es: Humedal construido.

1.3.2. Variable dependiente

La variable efecto es: La calidad del Drenaje Ácido de Mina (DAM), Mesapata.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Biorremediación de drenajes ácidos

Según (Villanueva et al., 2005), se implementó un sistema de biorremediación en la cancha de relave de la planta concentradora de Mesapata, que consistía principalmente en tratar el Drenaje Ácido de Mina (DAM) con sistemas de humedales y posas de sedimentación (como pre-tratamiento). Además, el humedal incorporó especies vegetales de la zona con capacidad fitorremediadora como el *Juncus imbricatus* y *Cyperus niger*, considerando las condiciones iniciales del DAM, pH 2.2, sulfatos 500 ppm, Fe 25 ppm, Pb 26 ppm, Cu 7 ppm; se recuperó a pH 7.3, sulfatos 26 ppm, Fe 01 ppm, Pb 0.2 ppm y Cu 0.1 ppm. Concluyendo que la aplicación de humedales en recupera de manera sostenida los parámetros perturbados por el DAM.

En el trabajo de (Palomino et al., 2008) denominado “Biorremediación de drenajes ácidos con humedales altoandinos,

Áncash - Perú” se ha evaluado la interacción entre bacterias y especies fitorremediadoras en humedales construidos en la Quebrada de Rúrec y Quilcayhuanca, Planta concentradora de Mesapata y el Pasivo minero de Huancapetí. El cual, concluye que entre las bacterias sulfato reductoras destacan los géneros *Desulfovibrio* y *Desulfosarcina*; se han identificado 65 especies fitorremediadoras; la capacidad de remoción de metales pesados varía según el metal, entre un 23% hasta un 98%.

En el trabajo de (Quiroga, 2015), “Procesos de bioprecipitación de metales pesados y bioreducción de Hierro (III) para el tratamiento de aguas ácidas de minas a escala de laboratorio” se experimentaron en tres condiciones: 70% de recambio de volumen efectivo con 12 horas de tiempo de retención, 30% de recambio de volumen efectivo con 24 horas de tiempo de retención y un tratamiento biológico (bacterias sulfato reductoras) complementado con un pre-tratamiento químico. Concluye que la eficiencia de remoción para la segunda y tercera condición fueron similares (con excepción de Zn y sulfatos), alcanzando una remoción de sulfatos hasta un 70% (con desventaja en el segundo caso por generar más sulfato en el reactor de hierro reducción), ~60-80% para el Fe y Zn y 95-100% de Pb y Cd, a partir de una concentración inicial de 2900 mg/L y 6000 mg/L de Fe y Zn, respectivamente. Adicionalmente, se detectaron géneros sulfato reductoras con mayor predominancia como: *Desulfovibrio spp.*, *Desulfobotulus sapovorans* y *Desulfovibrio fairfieldensis*. Seguidos de: *Desulfobacter spp.*, *Desulfobulbus spp.*, *Desulfosarcina sp.*, *Desulfonema spp.*, *Desulfococcus sp.*, *Desulfobacterium spp.*, *Desulfobotulus sp.*, *Desulfostipes sp.*, *Desulfomusa sp.* y, *Desulfofrigus* y *Desulfofaba spp.*

En el trabajo de (Cadillo, 2018), “Propuesta de mejoramiento de la calidad de las aguas ácidas que drenan del pasivo ambiental de la mina Nuncia mediante el uso de bacterias sulfato reductoras Ataquero - Carhuaz - Áncash”, concluye que el uso de turba, paja y bosta de

vaca generan bacterias sulfato reductoras que incrementan el pH de 1.1 hasta 6.24 del drenaje ácido y disminuyen la concentración de cobre de 0.63 mg/L hasta 0.21 mg/L, cumpliendo la normativa peruana de los Límites Máximos Permisibles D.S 010-2010-MINAM.

Las plantas cumplen un rol en los sistemas de biorremediación. Por ello, en el estudio de (Ñáñez Alcántara, 2016) denominado “Estudio y selección de especies vegetales con potencial biorremediador en drenajes ácidos de roca y relaves minerales de la cuenca del río Santa (Áncash, Perú)”, se ha recolectado de cuatro lugares contaminados por actividades de extracción o concentración de minerales (relaves de Huancapetí, Ticapampa, Santa Rosa de Jangas y Mesapata) y de drenaje ácido de roca (Pastoruri) en época seca y húmeda. De un total de 48 plantas recolectadas se han seleccionado 20 especies tolerantes y/o hiperacumuladoras para plata, aluminio, arsénico, boro, hierro, cadmio, cromo, cobre y plomo, mediante el cálculo del factor de bioconcentración; entre ellas está la *Distichia muscoides*, *Juncus arcticus*, *J. bufonius*, *Penicetum clandestinum*, *Calamagrostis ligulata*, *C. glacialis* y *Huperzia crassa*.

2.1.2. Propagación de Bacterias Sulfato Reductoras

Se ha realizado estudios para el crecimiento y propagación de Bacterias Sulfato Reductoras (BSR) en condiciones de ambientes ácidos, entre ellos se tiene lo siguiente:

Según (Elliott et al., 1998), su investigación se basó en inocular bacterias sulfato reductoras en condiciones ácidas con un biorreactor de medio poroso ascendente. Obteniendo como resultado que a un pH de 3.25, el reactor elimina el 38.3% del sulfato de flujo y eleva el pH del medio a 5.82. A pH 3.0, la producción de sulfato está por debajo de los niveles detectables y la eliminación de sulfato desciende al 14.4%; sin embargo, las BSR se recuperan en la columna después de 21 días de funcionamiento a pH 3.0, indicando que estas bacterias son capaces de resistir a pH ácidos durante

periodos prolongados. A partir de estos resultados, concluye que un proceso con BSR sería un método viable para remediar los drenajes ácidos de mina.

En el estudio de (Gutierrez Rojas et al., 2007), "Aislamiento y cultivo de bacterias sulfato reductoras acidófilas para la Producción de Sulfuro Biogénico para la precipitación de metales pesados" se estudiaron muestras de lodo en condiciones ácidas provenientes de la región altiplánica en columnas de Winogradsky, con la finalidad de establecer consorcios de las bacterias sulfato reductoras acidófilas y aplicarse en biorreactores para la producción de sulfuro de hidrógeno en condiciones ácidas con residuos agrícolas como materia oxidable.

Adicionalmente, (Gutierrez Rojas et al., 2009) en su estudio "Cultivo a escala de laboratorio de bacterias sulfato reductoras acidófilas y su aplicación en procesos de biorremediación utilizadas para la precipitación de metales pesados", utiliza como fuente de carbono el papel en desuso y ácidos grasos volátiles (AGV). Concluyendo que el mejor soporte para el estudio fue el papel, obteniendo una producción de sulfuro de hidrógeno alrededor de 7 nM, en mezcla 1:1 de medio Postgate C modificado y el efluente a tratado.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Actividad minera en el país y la región

La minería en el Perú ha tenido un papel importante en el desarrollo económico y social del país; debido a su dominio metalúrgico del oro y la plata para sus diversos usos, principalmente religiosos, desde la cultura preincaica y cultura incaica. Además, a inicio de la república se ha realizado la extracción de minerales con fines de exportación, siendo el oro y plata la fuente principal. Y a inicios del siglo XX se realizó la extracción de cobre, plomo, zinc, hierro, cadmio, otros metales y minerales no metálicos (Zuñiga, 1991).

La minería continúa siendo la actividad económica más importante en el Perú debido a su contribución al crecimiento y desarrollo económico a nivel nacional mediante su aporte del 10% al Producto Bruto Interno (PBI) en la última década, a la generación de empleo, divisas y contribución a la recaudación fiscal; a pesar de la crisis económica mundial producto de la pandemia por Covid-19 en el presente año. Según el Boletín Estadístico Minero Edición N°05-2021 del Ministerio de Energía y Minas (MINEM), la actividad minera ha reportado una transferencia superior a los S/ 1781 millones, a los gobiernos regionales y locales por concepto de canon minero, regalías mineras, entre otros (MINEM, 2021a, 2021b). Siendo Áncash, Arequipa, Tacna, Ica y Cuzco las regiones con mayor transferencia de estos.

De acuerdo con el Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería (OSINERGMIN), la minería en el Perú se clasifica en gran minería (capacidad de producción y/o beneficio mayor a 5000 TMD), mediana minería (capacidad de producción menor a 5000 TMD), pequeña minería (2000 hectáreas en extensión de tierras y producción no mayor a 350 TMD) y artesanal (extensión de tierras hasta 1000 hectáreas y capacidad productiva no mayor a 25 TMD).

Tabla 1. Clasificación de la actividad minera en el Perú.

ESTRATO	EXTENSIÓN	CAPACIDAD PRODUCTIVA
Gran minería	No aplica	Más de 5000 TMD
Mediana minería	No aplica	Hasta 5000 TMD
Pequeña minería	Hasta 2000 ha	Hasta 350 TMD
Minería artesanal	Hasta 1000 ha	Hasta 25 TMD

Fuente: OSINERGMIN, 2017.

Considerando las condiciones geográficas y potencial geológico del Perú, según el MINEM en el 2020 se ubicó en el segundo lugar en la producción mundial de cobre y plata; tercero en zinc y cuarto en plomo, estaño y molibdeno. Mientras que, a nivel Latinoamérica

ocupó el primer lugar en la producción de oro, zinc, plomo y estaño; segundo de cobre, plata y molibdeno.

PRODUCTO	LATINOAMÉRICA	MUNDO
Oro	1	8
Cobre	2	2
Plata	2	2
Zinc	1	3
Plomo	1	4
Estaño	1	4
Molibdeno	2	4
Cadmio	2	8
Roca Fosfórica	2	10
Diatomita	1	5
Indio	1	6
Andalucita y minerales relacionados	1	4
Selenio	1	10

Figura 1. Perú en el ranking mundial de producción minera. Fuente: MINEM, 2020.

Considerando la producción minera en el ámbito nacional, la región Áncash en el 2020 es la principal productora de cobre, zinc y plata debido principalmente a la Compañía Minera Antamina S.A (MINEM, 2020).

2.2.2. Contaminación ambiental por actividad minera en el Perú

La minería es la actividad extractiva con mayor relevancia e importante contribución al PBI de la economía nacional. Sin embargo, esta actividad ha generado problemas socioambientales a lo largo de su trayectoria, acumulando volúmenes considerables de residuos generados en cada una de sus etapas, siendo abandonadas por los propietarios u operadores mineros (Doroni et al., 2020) sin la rehabilitación inmediata y adecuada, propiciando la aparición de Pasivos Ambientales Mineros (PAM's) incrementando riesgos a la salud humana y el ambiente (Chappuis, 2019).

Según la última actualización (R.M. N° 238-2020-MINEM/DM 27/08/2020) del inventario de Pasivos Ambientales, se ha registrado un total de 7956 PAM distribuidos alrededor del territorio nacional, siendo la región Áncash con mayor influencia de estos con un total de

1235 PAM, de los cuales 23 presentan características con riesgo muy alto y 67 de riesgo alto; seguido por las regiones de Cajamarca (1156 PAM), Puno (921 PAM) y Huancavelica (854 PAM), como se observa en la siguiente figura.

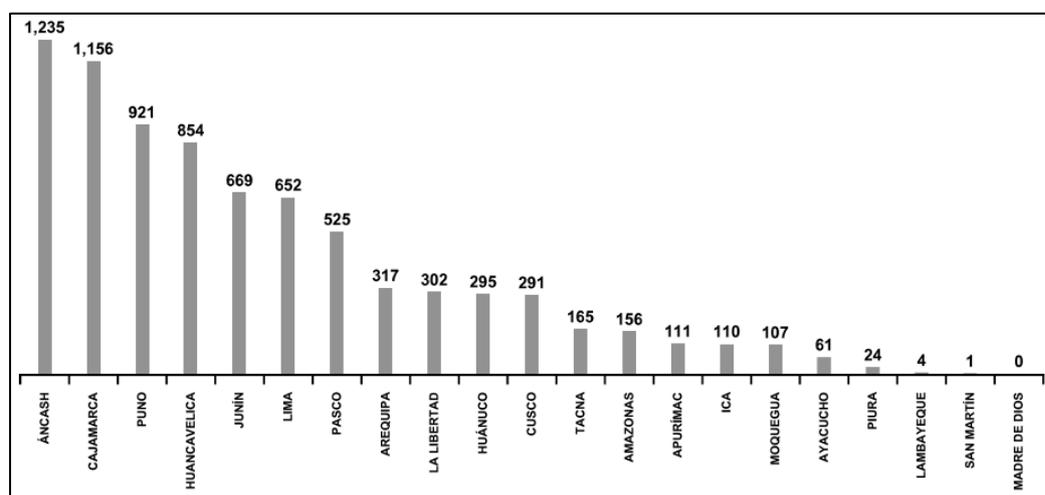


Figura 2. Distribución de PAM por región. Fuente: R.M. N° 238-2020-MINEM/DM 27/08/2020).

Los impactos más frecuentes generados por infraestructuras y desechos de la actividad minera abandonada son: la contaminación de aguas superficiales y subterráneas, degradación de la calidad de los suelos, contaminación del aire (Chávez Quijada, 2015), pérdida de vegetación y alteración física de los paisajes (Aramburu & Olaya, 2012).

2.2.3. Generación de Drenaje Ácido de Mina

La generación de los Drenajes Ácidos de Mina (DAM) se da principalmente por procesos de oxidación química y biológica de minerales sulfurados; se caracteriza por ser una sustancia líquida de color rojizo, de concentraciones elevadas de iones H⁺ (pH ácidos) y de sulfatos y metales pesados (Fe, Al, Mn, Zn, Cu, Pb, Hg, Cd, Ni) (Aduvire, 1991; Núñez, 2020; Sgier et al., 2015).

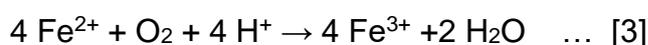
La formación de los DAM están determinadas por cuatro reacciones químicas de la piritita (Ford, 2003), siendo las siguientes:



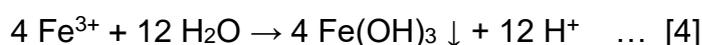
En la primera reacción la pirita se oxida por presencia del oxígeno, a su vez el azufre se oxida a sulfato liberando hierro ferroso.



En la segunda reacción el hierro ferroso pasa a hierro férrico, la velocidad de reacción depende del pH ácido (2-3 óptimo) en presencia de bacterias aumentando la tasa de oxidación (Neculita et al., 2007) del hierro ferroso a férrico.



La siguiente reacción esta dado por la hidrólisis del hierro, se formarán precipitados de hidróxido férrico dependiendo del rango de pH (por encima de 3.5); además el aluminio, manganeso, arsénico, cobre, cadmio, plomo y zinc, precipitarán con el hierro en bajas concentraciones.



La cuarta reacción esta dado por la oxidación de la pirita u otros metales por el hierro férrico producido en las reacciones 1 y 2, generando un ciclo a partir de la reacción general hasta agotar el hierro férrico o la pirita (y otros metales).



La liberación de los metales en altas concentraciones son nocivos para la actividad biológica, en su trayecto contaminan cuerpos de aguas causando daños a estructuras construidas (López Pamo et al., 2002).

2.2.4. Estrategias de remediación de Drenajes Ácidos de Mina

Las estrategias de remediación de los Drenajes Ácidos de Mina (DAM) algunas dependen de actividades biológicas y otras no (Johnson & Hallberg, 2005), llamadas tratamientos activos y pasivos, como se muestra en la siguiente figura:

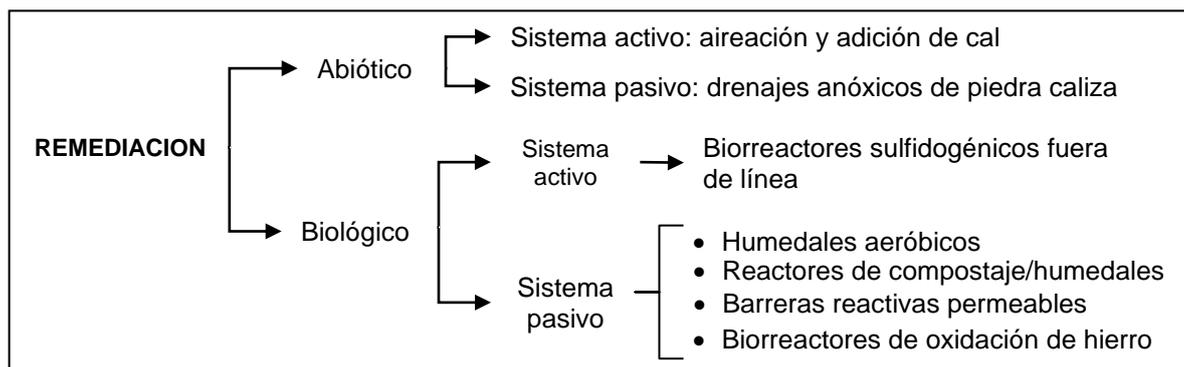


Figura 3. Estrategias biológicas y abióticas para remediar DAM. Fuente: (Johnson & Hallberg, 2005).

a. Sistema de tratamientos activos

Son tratamientos del tipo convencional debido a que requiere suministro constante de productos químicos, mano de obra y energía artificial (Sgier et al., 2015; Taylor et al., 2005), este tipo de tratamientos son costosos respecto al tiempo. La neutralización, forma parte de este tipo de tratamientos el cual consiste en la adición de productos químicos alcalinos, el cual aumenta el pH acelerando la oxidación química del hierro ferroso y provocando la precipitación de metales en forma de hidróxidos y carbonatos, el precipitado generado (lodo) es rico en hierro que también puede contener otros metales, producto de una coprecipitación; todo ello, depende de la caracterización química del drenaje ácido en tratamiento (Johnson & Hallberg, 2005; Olds et al., 2013).

b. Sistema de tratamientos pasivos

Los tratamientos pasivos están enfocados principalmente en la mejora de la calidad del agua mediante procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren en los humedales naturales, neutralizando el pH y eliminando metales (Watzlaf, 1997; Zipper & Skousen, 2014) presentes en drenajes ácidos. Además, estos sistemas brindan soluciones de remediación a bajo costo operacional y mantenimiento, respecto a los tratamientos químicos tradicionales que presentan elevados costos en la remoción del lodo formado (Johnson & Hallberg, 2005); sin embargo, requieren

de mayor tiempo para alcanzar su eficiencia de remoción (Iakovleva et al., 2015).

En la tabla se puede apreciar las ventajas y desventajas de los tratamientos pasivos.

Tabla 2: Ventajas y desventajas de los tratamientos pasivos.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> ▪ No requieren energía eléctrica. ▪ No requieren equipos mecánicos o productos químicos peligrosos. ▪ No requieren operación de mantenimiento diario. ▪ Son sistemas naturales y pueden albergar plantas. ▪ No son muy costosos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No requieren energía eléctrica. ▪ Puede presentar fallas debido a un deficiente diseño. ▪ Son tecnologías en investigación por lo que el rango de error incrementa si esta no cumple un diseño adecuado

Fuente: (Ford, 2003).

2.2.5. Tratamiento pasivo abiótico

a. Drenajes anóxicos de piedra caliza (ALD)

Se caracterizan por ser pozos de 1 a 2 m de profundidad, compuestas por piedras caliza u otro material calcáreo, cubierta con tierra arcillosa y geomembrana para evitar el contacto del DAM con el oxígeno, garantizando condiciones anóxicas, la presencia de oxígeno o aluminio obstruirá el sistema provocando fallas. La finalidad de este sistema se enfoca en convertir el agua ácida en aguas con exceso de alcalinidad (Ford, 2003; Taylor et al., 2005; Zipper & Skousen, 2014).

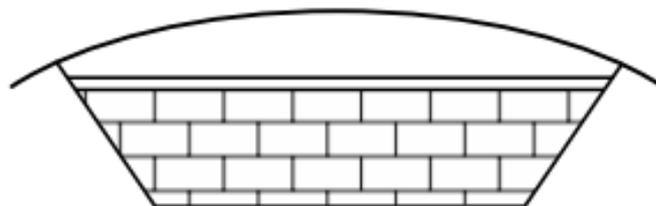


Figura 4. Drenajes anóxicos de piedra caliza. Fuente: (Ford, 2003).

2.2.6. Tratamientos pasivos biológicos

Este tipo de tratamientos se enfocan en la biorremediación mediante el uso de microorganismos capaces de generar alcalinidad e inmovilización de metales. Los sistemas más conocidos y usados a gran escala son los humedales construidos y biorreactores de compost (Johnson & Hallberg, 2005).

b. Humedales aerobios

Son sistemas para tratar aguas ligeramente ácidas y alcalinas que contienen elevadas concentraciones de hierro. Estas se caracterizan principalmente por ser sistemas de poca profundidad con la finalidad de reducir los sólidos disueltos; y tener plantas macrófitas que cumplen la función de aireación al flujo de agua mediante sus raíces, permitiendo la oxidación del hierro ferroso (Fe disuelto) a hierro férrico. El precipitado formado son retenidos en las superficies de las plantas o en la parte inferior del humedal construido (Ford, 2003; Johnson & Hallberg, 2005; Taylor et al., 2005; Zipper & Skousen, 2014). Las reacciones que ocurren en este tratamiento esta detallado en la ecuación [3] y [4].

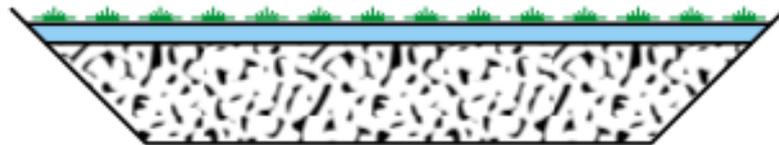


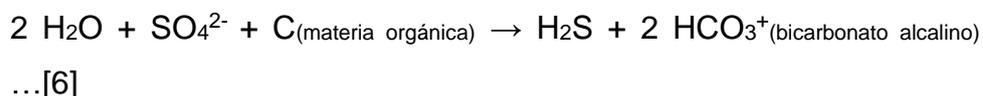
Figura 5. Humedales construidos aerobios. Fuente: (Ford, 2003).

Complementariamente a este tratamiento se diseña un sistema de sedimentación previo, con la finalidad de retener la mayor parte de sólidos suspendidos e incrementar el tiempo de vida útil del humedal aerobio por acumulación de partículas (Zipper & Skousen, 2014).

c. Humedales anaeróbicos

Los humedales anaeróbicos son estanques de retención de agua, compuesta por materia orgánica (compost) y piedra caliza, que neutralizan la acidez y reducen los metales en forma de sulfuro (Ford, 2003). Estos procesos se desarrollan por presencia de

actividad microbiana generada por las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR), influyendo en el incremento de la alcalinidad como bicarbonato (HCO_3^-) y la reducción de sulfatos (SO_4^{2-}) (Zipper & Skousen, 2014); como se muestra en la siguiente ecuación:



Las BSR utilizan la materia orgánica como fuente de carbono y el sulfato como aceptor de electrones garantizando su crecimiento (Taylor et al., 2005).

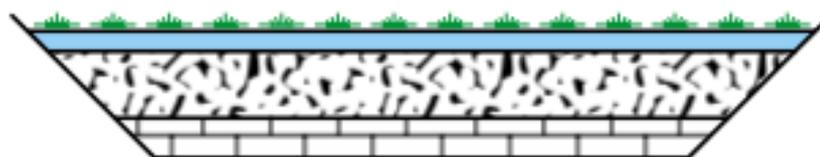
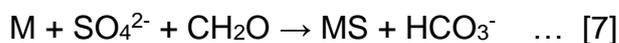
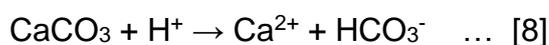


Figura 6. Humedales construidos anaeróbicos. Fuente: (Ford, 2003).

El proceso de reducción biológica del sulfato que ocurre en el tratamiento anaeróbico a condiciones anóxicas (Bajas concentraciones de O_2) (Obreque-Contreras et al., 2015), similar a los humedales naturales, el mecanismo para determinar dicho proceso es la presencia de burbujas con gases de sulfuro (H_2S), olor característico a “huevo podrido”. La reducción de sulfato provoca la formación de sulfuros metálicos que son depositados en el sustrato (Zipper & Skousen, 2014), dicho mecanismo esta detallado en la siguiente reacción:



La alcalinidad también es generada por la disolución de la piedra caliza dentro del sustrato, generándose la siguiente reacción:



La generación de bicarbonato (HCO_3^-) es una fuente de alcalinidad que neutraliza los iones de H^+ , elevando el pH y mejorando las condiciones para la precipitación de metales solubles presentes en el DAM, esta reacción se detalla en la siguiente ecuación:



d. Barreras reactivas permeables

El uso de este sistema se enfoca en el tratamiento de aguas subterráneas contaminadas; su diseño se enfoca en la excavación de una zanja o pozo en el flujo del agua subterránea, compuesta por capas de materia orgánica y piedra caliza, para la remediación de DAM que se encuentran en columnas de agua. Los procesos que ocurren dentro del sistema generan alcalinidad (mejorando las condiciones para la precipitación de metales) y eliminación de metales como sulfuros, hidróxidos y carbonatos (Johnson & Hallberg, 2005; Taylor et al., 2005).

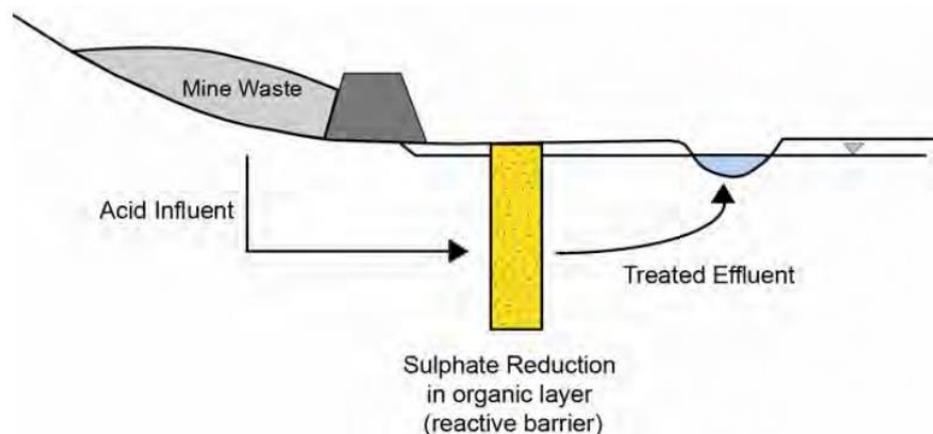


Figura 7. Barreras Reactivas Permeables. Fuente: (Taylor et al., 2005).

e. Biorreactores de oxidación de hierro

El tratamiento se enfoca en la oxidación de hierro ferroso a hierro férrico mediante actividad microbiana, presentes a condiciones ácidas de DAM, entre ellas se tiene a las bacterias *Acidithiobacillus ferrooxidans*. La aplicación de estas bacterias en

una columna de lecho compacto ayuda a la reducción del hierro como sucede en los humedales construidos anaeróbicos (Zipper & Skousen, 2014).

f. Sistemas de producción sucesiva de alcalinidad (SAPS)

Este sistema es un humedal construido de flujo vertical es la integración del mecanismo de tratamiento del humedal anaeróbico y el ALD con la finalidad de compensar las limitaciones de ambos tratamientos (Kepler & McCleary, 1994). Se compone de compuestos orgánicos y alcalinos a una profundidad de 1 a 3 m, el substrato inferior es piedra caliza y sirve para neutralizar el pH; mientras que la capa superior es materia orgánica donde se reduce el sulfato y el Fe^{3+} se transforma en Fe^{2+} (Skousen et al., 1998).

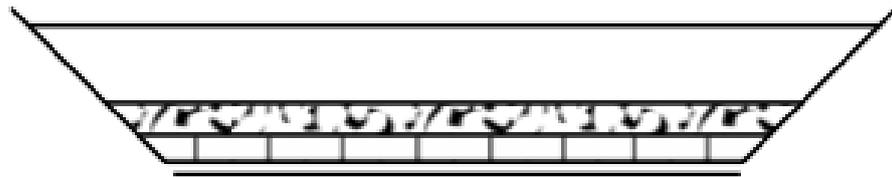


Figura 8. Sistemas de producción sucesiva de alcalinidad (SAPS). Fuente: (Taylor et al., 2005).

2.2.7. Selección adecuada para el tratamiento de drenaje ácido de mina

De acuerdo con las estrategias mencionadas anteriormente se debe tener en cuenta que cada una cumple un mecanismo de remediación diferente; por ello, con la finalidad de obtener eficiencias adecuadas en la neutralización de pH, remoción de metales y sulfatos, se debe considerar la caracterización química del DAM a tratar.

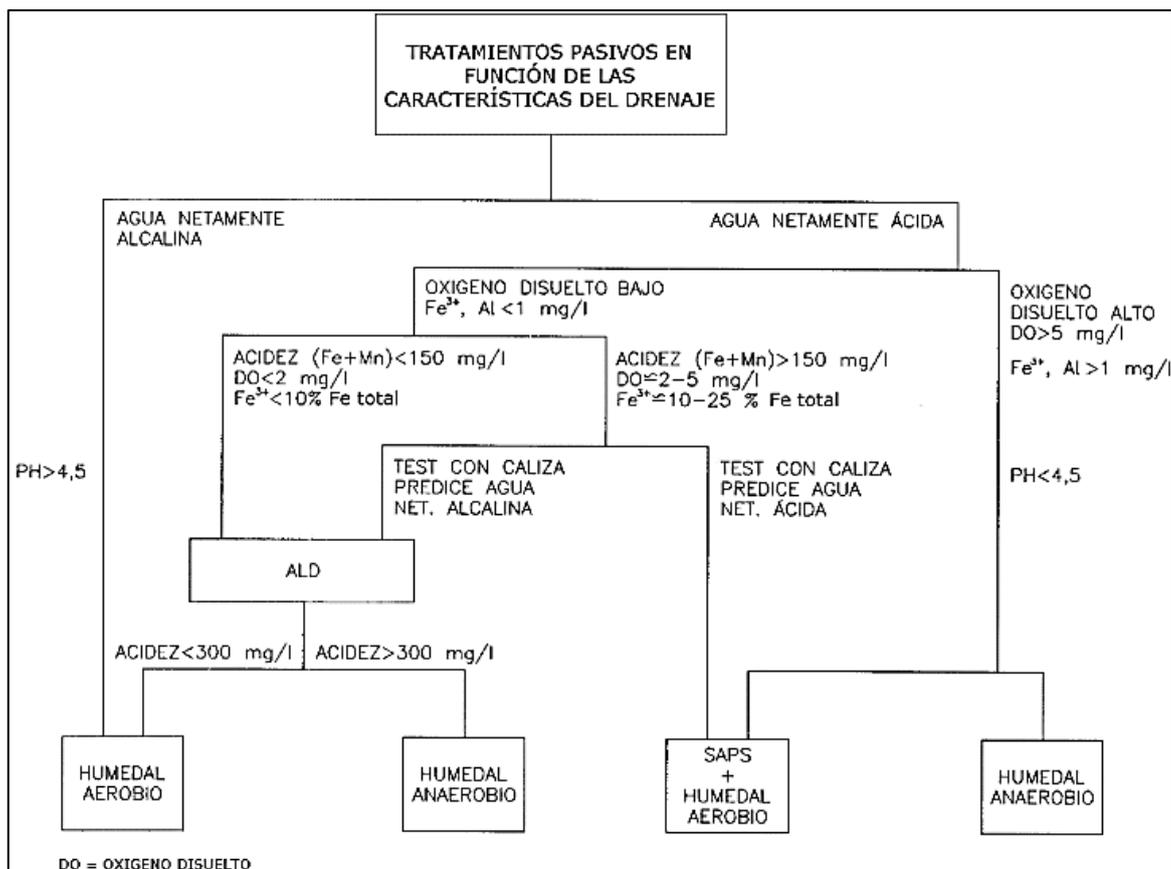


Figura 9. Diagrama de flujo para seleccionar el sistema o la combinación de sistemas para el tratamiento pasivo de drenajes ácidos de mina. Fuente: (López Pamo et al., 2002).

2.2.8. Humedales construidos

Los humedales construidos o también llamados humedales artificiales son tratamientos no convencionales de bajo costo de operación y mantenimiento, que simulan los procesos que ocurren en los humedales naturales (Hernández & Sulbarán, 2017; Kivaisi, 2001; Kleinmann, 1998) como la sedimentación, degradación microbiana, acción de las plantas, absorción, reacciones químicas y volatilización (Badillo et al., 2016). Estos humedales construidos se clasifican en humedales de flujos subsuperficiales y superficiales y se subdividen de acuerdo a la dirección de flujo en verticales y horizontales (Hernández & Sulbarán, 2017).

La mejora de la calidad del agua de una fuente de DAM depende del objetivo de diseño del sistema; entre ellos se tiene lo siguiente:

Tabla 3: Procesos de acuerdo con el objetivo de la remediación.

Objetivo	Procesos
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Remoción de metales. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Oxidación e hidrólisis abiótica y biótica. ▪ Reducción de metales (formación de sulfuros metálicos). ▪ Precipitación. ▪ Filtración. ▪ Sedimentación. ▪ Adsorción. ▪ Absorción de las plantas.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Remoción de sulfatos. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bacterias sulfato reductoras.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Neutralización de acidez 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Disolución de caliza ▪ Precipitación reductora de hierro y azufre.

Fuente: (Langergraber et al., 2020).

2.2.9. Mecanismos de remoción de metales en humedales construidos

Los mecanismos de remoción de metales esta explícito a la interacción de los diversos procesos que ocurren en los humedales construidos, las concentraciones del efluente a tratar, la carga másica y el tiempo de retención hidráulica (Ong et al., 2008).

a. Precipitación

Es el mecanismo principal de remoción de metales en los humedales, en forma de sulfuros, carbonatos e hidróxidos. La solubilidad de estos dependerá del pH del agua, del potencial redox, y el estado de oxidación; mientras que, la velocidad de precipitación e hidrólisis dependerá principalmente del pH (Neculita et al., 2007).

La precipitación de sulfuros es el mecanismo de eliminación de contaminantes debido a que los sulfuros metálicos son altamente insolubles y menos biodisponibles en comparación con los otros metales; sin embargo, todo esto dependerá de las condiciones de reducción de sulfatos, establecidas correctamente (Neculita et al., 2007; Núñez, 2020).

b. Intercambio iónico

El intercambio de iones implica la unión física de iones, generalmente cationes, a la superficie de las partículas de arcilla y materia orgánica del suelo. Los metales pesados poseen una alta

afinidad a los ácidos húmicos, las organoarcillas y los óxidos recubiertos con materia orgánica; debido a que, presentan grupos funcionales fenólicos (C_6H_4OH), carboxilos ($-COOH$) e hidroxilos ($-OH$) (Fu & Wang, 2011; Ong et al., 2008), generando una alta capacidad de adsorción de cationes (Porta Casanellas et al., 2003).

La retención de metales en los humedales depende significativamente del tipo de sustrato y el número de sitios sobre las cuales los metales pueden ser intercambiados, siendo el pH el parámetro determinante en la capacidad de intercambio iónico (Ong et al., 2008).

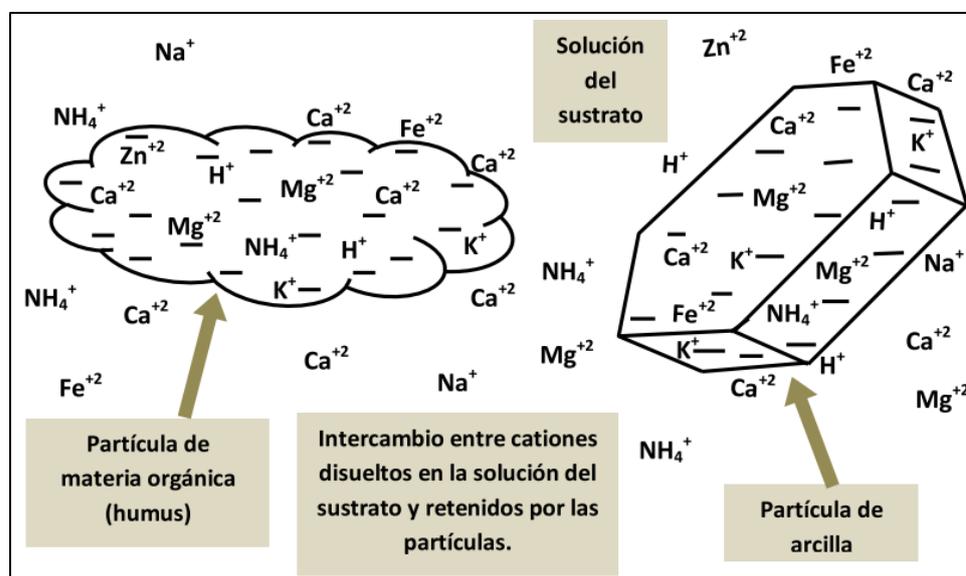


Figura 10. Partículas con capacidad de intercambio catiónico. Fuente: (Guevara, 2012).

La retención de metales mediante el intercambio catiónico en los humedales anaeróbicos varía a lo largo de la vida del sistema. A principios del funcionamiento del sistema de humedal la captación de metales disueltos sobre sitios orgánicos (materiales del sustrato) será un proceso importante; sin embargo, con el paso del tiempo y en medida que el pH del humedal disminuya por la interacción con el DAM, los sitios de intercambio llegarán a estar saturados (Neculita et al., 2007; Ong et al., 2008).

Además de los intercambiadores catiónicos mencionados, los oxihidroxilos de hierro y aluminio pueden llegar a actuar como intercambiadores aniónicos, a diferencia de las partículas de humus y arcilla, no tienen carga residual negativa, sino positiva, generando la posibilidad de retener sulfatos y otros aniones (Neculita et al., 2007).

c. Adsorción

La adsorción es un proceso de superficie que se refiere a la unión química de iones a las partículas del suelo, este tipo de unión es más fuerte y permanente respecto a la unión generada en el intercambio iónico. Por ello, varios metales y compuestos orgánicos, como el fosfato, pueden inmovilizarse en el suelo mediante la quimisorción con arcillas y materia orgánica, así como con óxidos de hierro y aluminio (Ong et al., 2008).

d. Complejación

Es la reacción generada entre un ligando (compuesto orgánico capaz de enlazarse a un centro metálico) con un catión metálico (ion con carga eléctrica positiva) para formar un complejo metálico (Guevara, 2012; Maine et al., 2016). El ligando se encuentra principalmente en las sustancias húmicas de los suelos (García et al., 2002), los ácidos fúlvicos forman complejos metálicos más solubles, biodisponibles y móviles debido a su menor tamaño molecular y gran contenido de grupos funcionales ácidos; mientras que, los ácidos húmicos inmovilizan y acumulan el metal en la fase sólida del suelo (Stevenson, 1995).

e. Microorganismos

Según García et al., 2002; Ong et al., 2008, los microorganismos presentes en los humedales eliminan la materia orgánica soluble, coagulan el material coloidal, estabilizan la materia orgánica y convierten la materia orgánica soluble y coloidal. Estos microorganismos requieren tolerancia de oxígeno disuelto,

temperatura, pH y nutrientes para transformar el nitrógeno, manganeso, azufre y carbono según el potencial redox y el pH del entorno local.

En los sistemas de humedales, las bacterias se encuentran generalmente en superficies sólidas de plantas, materia orgánica en descomposición y el entorno de los sedimentos. La mayoría de las bacterias son heterótrofas (obtienen alimento y energía a partir de compuestos orgánicos) y algunas son autótrofas (sintetizan moléculas orgánicas a partir de carbono inorgánico CO₂).

Los hongos son organismos heterótrofos y cumplen un rol importante en los humedales porque intervienen en proporción significativa al reciclaje de carbono y otros nutrientes. La inhibición de estos hongos por metales tóxicos u otras sustancias químicas, se reducirá el ciclo de los nutrientes limitando la productividad primaria de las algas y las plantas superiores presentes en el humedal (Ong et al., 2008).

f. Plantas macrófitas

En la mayoría de los humedales las plantas macrófitas son el componente estructural vegetativo dominante por que contribuyen a la capacidad de tratamiento, mediante la eliminación o acumulación de metales pesados. Este tipo de plantas se clasifican en emergentes, flotantes o sumergidas de acuerdo con el tipo de crecimiento en estos sistemas (García Serrano & Corzo Hernández, 2008; Ong et al., 2008).

Las plantas emergentes se caracterizan por tener la parte aérea emergiendo por encima de la línea de flotación y el aire, y una estructura extensa de sus raíces y rizomas, enraizadas en el suelo. Mientras que, las plantas sumergidas o flotantes, por lo general no tienen sus raíces en el suelo, normalmente cuelgan en la columna de agua debajo de la superficie, y sus hojas y tallos son flotantes cubriendo la superficie (Ong et al., 2008).

La presencia de este tipo de plantas en los humedales proporciona área de adhesión y crecimiento microbiano en la columna de agua y la rizosfera, y contribuye en los procesos de precipitación, adsorción, intercambio iónico y otros procesos bioquímicos inducidos por la rizosfera. Además, la selección de las plantas deberá basarse principalmente en la tolerancia de los metales y el área superficial en la rizosfera que en la fitoacumulación de metales (Karathanasis & Johnson, 2003; Ong et al., 2008).

2.2.10. Bacterias Sulfato Reductoras

Las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR) son microorganismos procarióticos (ausencia de membrana nuclear) con capacidad de realizar una reducción disimilatoria (presencia de oxígeno nula) de sulfato a sulfuro como parte de su proceso bioenergético. Estas bacterias habitan en ambientes anóxicos (sedimentos, acuíferos, aguas subterráneas, rizosferas de plantas, tracto gastrointestinal de animales, emisiones hidrotermales, etc.), donde desarrollan una biomineralización anaeróbica (Lopez & Fuentes, 2015; Muyzer & Stams, 2008).

Estas bacterias tienen un papel muy importante en el ambiente debido a su contribución al ciclo biogeoquímico del azufre y el carbono (Odom & Singleton, 1993). La mayoría de estas bacterias pertenecen a uno de los cuatro linajes: (i) las proteobacterias con los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfobacterium*, *Desulfobacter* y *Desulfobulbus*; (ii) las bacterias Gram-negativas termófilas del género *Thermodesulfovibrio*; (iii) las bacterias Gram-positivo con el género *Desulfotomaculum*; y (iv) las *Euryarchaeota* con el género *Archaeoglobus* (Thauer et al., 2007). La aplicación de estas bacterias presentan aspectos positivos y negativos; entre los aspectos positivos son: la participación en el ciclo biogeoquímico del azufre y carbono, la remoción de metales pesados de aguas y sedimentos, la remoción de sulfatos y la remoción de azufre del petróleo y carbón; entre aspectos

negativos se tiene: la corrosión de metales en estructuras enterradas y sumergidas, el ennegrecimiento y decoloración de productos, la biodeterioración de concreto y materiales de construcción, la producción de malos olores y la devaluación del petróleo y la gasolina (Lopez & Fuentes, 2015).

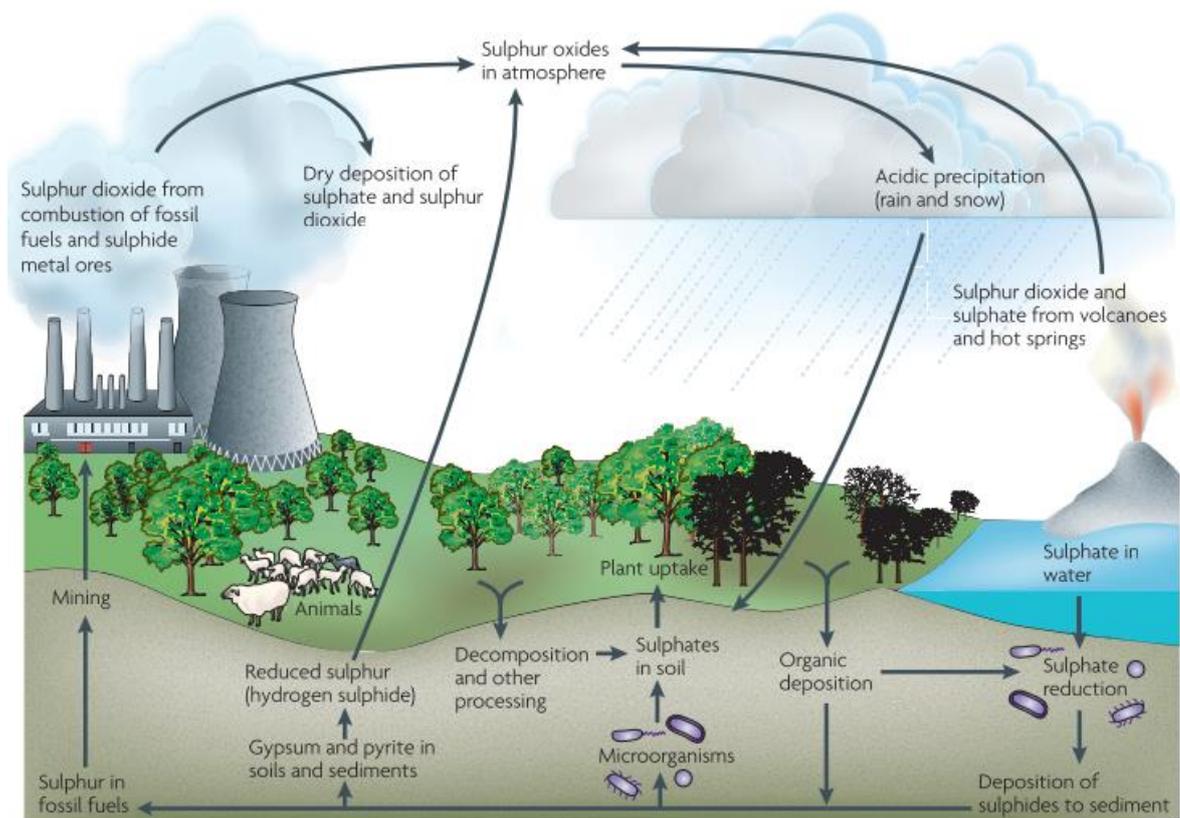
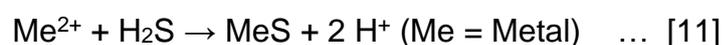


Figura 11. Ciclo del sulfuro. Fuente: (Muyzer & Stams, 2008).

La remoción de metales pesados en aguas contaminadas por acción de las BSR está determinada por un proceso de dos etapas: (i) oxidación de compuestos orgánicos (lactato, acetato, propionato) usando el sulfato como aceptor de electrones y generando sulfuro de hidrógeno y el ion bicarbonato (ecuación 10); (ii) reacción del H₂S con los metales pesados (Cu, Zn, Ni, etc.) disueltos para formar sulfuros metálicos insolubles (ecuación 11) (Lopez & Fuentes, 2015; Thauer et al., 1977).



2.2.11. Aislamiento de Bacterias Sulfato Reductoras

El aislamiento de las bacterias permite obtener la caracterización fenotípica de una determinada especie respecto al resto de microorganismos presentes en el ambiente (Lee et al., 2009). Para el cultivo de las BSR existen medios específicos que se han modificado a lo largo del tiempo (Gutierrez Rojas et al., 2007), entre ellos se tiene los siguientes medios de cultivo:

Tabla 4: Contenido del medio de cultivo Postgate.

Reactivos (g/L)	Postgate A	Postgate B	Postgate C
KH ₂ PO ₄	0.5	0.5	0.5
CaSO ₄	1.0		
Na ₂ SO ₄		4.5	1.0
NH ₄ Cl	1.0	1.0	1.0
MgSO ₄ *7H ₂ O	2.0	0.06	2.0
CaCl ₂ *6H ₂ O		0.06	1.0
Lactato de sodio	3.5	6.0	3.5
Citrato Trisódico		0.3	
Extracto de levadura	1.0	1.0	1.0
FeSO ₄ *7H ₂ O	0.5	0.004	0.5
Ascorbato	0.1		0.1
Tioglicolato	0.1		0.1
Agar purificado			15.0
Agua común	1000 mL		1000 mL
Agua destilada		1000 mL	
pH	7.0 – 7.5	7.5	7.6
Notas	Contiene precipitado	Medio limpio	
Uso	Enriquecimiento y crecimiento de cultivos puros	Lote de cultivo de mayor capacidad	Enumeración

Fuente: (Gutierrez Rojas et al., 2007).

2.2.12. Factores inhibitorios en la actividad de las BSR

La velocidad de la actividad microbiana de las BSR en los humedales depende de características del ambiente en las que se encuentre, Neculita et al., (2007) menciona lo siguiente:

- Las bacterias necesitan un medio anaeróbico y un microambiente anóxico, reducido con un potencial redox (Eh) inferior a 2100 mV.
- La temperatura de funcionamiento afecta el crecimiento bacteriano, la cinética de la descomposición del sustrato orgánico y la solubilidad del sulfuro de hidrógeno. Toleran temperaturas por debajo de 25 a 75°C.
- Las temperaturas bajas afectan la capacidad de las bacterias para aclimatarse, pero una vez aclimatadas a temperaturas más altas, las BSR no se ven afectados por las bajas temperaturas.
- Requieren soporte sólido (arena y/o grava), sobre el cual pueden establecer microambientes para su supervivencia a condiciones bajas extremas de pH o elevadas concentraciones de oxígeno.
- La presencia de superficies porosas incrementa la tasa de reducción de sulfato; por lo que, el área de superficie y el tamaño de los poros debe equilibrarse.
- El uso de compost en el sustrato mejora la eficiencia del sistema por tener una conductividad hidráulica aproximada de $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Deben tener un espesor mínimo de 0.60 m en el sistema, pero menor a 0.90 m para evitar la compactación y la reducción de la permeabilidad.
- La precipitación de sulfuros metálicos ocurre por lo general dentro de 3 a 5 días; por ello, un Tiempo de Retención Hidráulica (TRH) muy corto evitaría la neutralización de la acidez y la precipitación de metales o la eliminación de la biomasa; mientras que, un TRH más prolongada puede implicar el agotamiento de materia orgánica disponible.

2.2.13. Límites Máximos Permisibles

La normativa peruana define a Los Límites Máximos Permisibles (LMP), como la medida de la concentración o grado de elementos,

sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente (MINAM, 2010).

2.3. Definición de términos

2.3.1. Bacterias Sulfato Reductoras

Son bacterias quimiolitótrofas que disponen de sulfato como aceptor final de electrones en la degradación de materia orgánica, realizan el proceso de sulfato reducción, produciendo H₂S (sulfuro) (Odom & Singleton, 1993).

2.3.2. Anaerobiosis

Capacidad que poseen algunos organismos, como hongos, bacterias, parásitos, etc., para vivir o desarrollarse en un ambiente sin oxígeno molecular libre (Ivanovic & Vlaski-Lafarge, 2016).

2.3.3. Pasivo Ambiental

Son aquellas instalaciones o depósitos producidos por la actividad minera durante y después de su extracción, poniendo en riesgo la salud, calidad de vida y el ambiente, que tienen la necesidad de ser restauradas, mitigadas o compensadas por el impacto ambiental o impacto no gestionado (Aramburo & Olaya, 2012; Congreso de la Republica & MINAM, 2004).

2.3.4. Biorremediación

Es un método de remediación ambiental basada en el uso de microorganismos con la capacidad de degradar contaminantes, convirtiéndolos más simples y menos tóxicos, y/o contribuir a la mitigación de la contaminación (Willis Poratti, 2016).

2.3.5. Humedales

Son zonas de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres cuyos suelos se encuentran permanentemente o

periódicamente inundados o saturados, con presencia de plantas hidrófitas (Alejandro et al., 2010).

2.3.6. Materia orgánica

Es producto o materia elaborada de compuestos orgánicos enriquecidas en carbohidratos, ligninas y proteínas, que contribuyen al crecimiento de las plantas a través de sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Bonel et al., 2005).

2.3.7. Sulfurogénesis

Es la degradación de sulfato, aceptor de electrones, a sulfuro de hidrógeno en condiciones anaeróbicas por presencia de la actividad microbiana (Odom & Singleton, 1993).

2.3.8. Metales pesados

Uno de los varios elementos metálicos con masas atómicas elevadas como por ejemplo el mercurio, el cromo, el cadmio, el arsénico o el plomo (US EPA, 2021).

2.3.9. Fitoacumulación

Consiste en la absorción de metales contaminantes mediante las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas (Delgadillo-López et al., 2011).

2.3.10. Sinergia

Acción de dos o más causas, para realizar una función, cuyo efecto es superior a la suma de los efectos individuales (Real Academia Española, 2021).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

La investigación se desarrolla en un enfoque cuantitativo de tipo experimental. Según Hernández Sampieri et al., (2014), se utiliza la recolección y análisis de datos para comprobar la hipótesis a partir de una medición numérica.

3.2. Diseño de investigación

Se utilizó un diseño del tipo experimental. Debido a que se manipula la variable independiente, se mide la variable dependiente y existe un control para la validez de la experimentación (Hernández Sampieri et al., 2014). Por qué, el enfoque de esta investigación se desarrolla en la instalación de grupos experimentales para determinar el nivel de inmovilización de metales en diferentes condiciones sinérgicas.

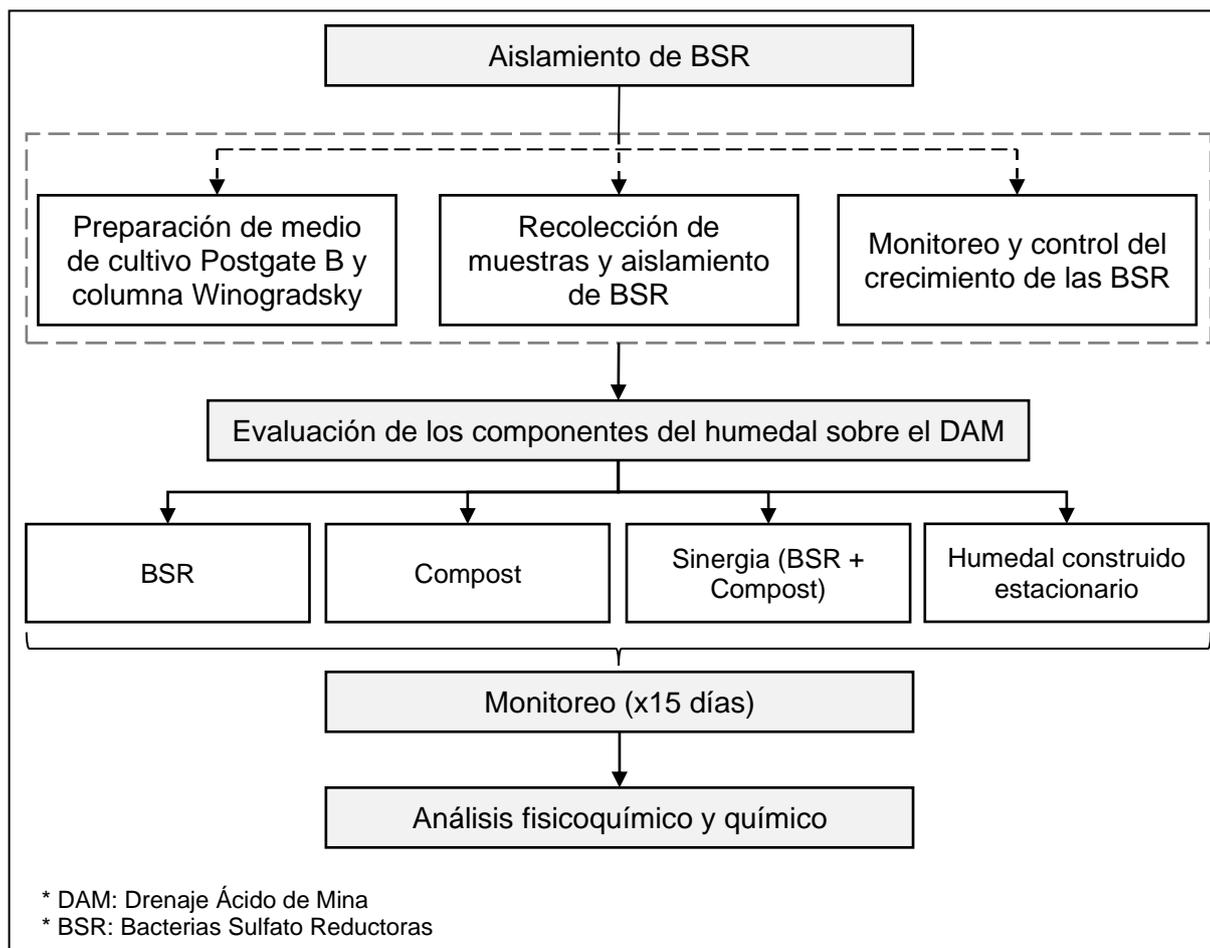


Figura 12. Resumen del diseño de investigación.

3.3. Descripción de las estaciones de muestreo

3.3.1. Estación de muestreo Pastoruri

La estación de muestreo Pastoruri es un bofedal con presencia de plantas macrófitas, se encuentra ubicada al margen derecho de la salida del circuito de la ruta del Cambio Climático aproximadamente a 500 metros de la zona de parqueo. Pastoruri, presenta un clima Frío de Montaña Tropical y el clima Frío Templado de Montaña Tropical de acuerdo con la clasificación climática de Köppen. La geomorfología corresponde a la Formación Chicama, caracterizado por lutitas gris oscuras a negras (Durand et al., 2009).

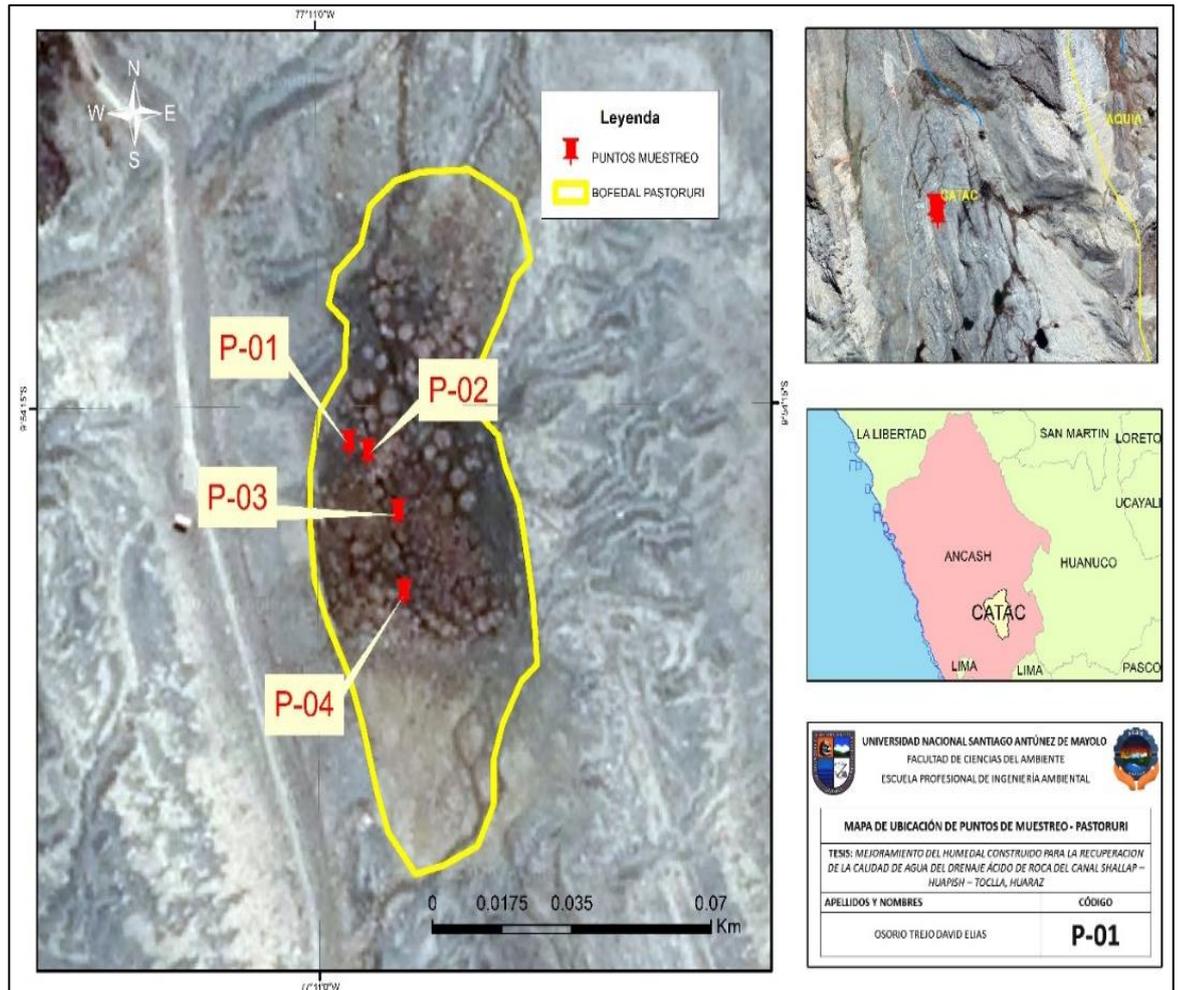


Figura 13. Ubicación de puntos de muestreo Pastoruri. Fuente: Google Earth.

3.3.2. Estación de muestreo Mesapata

La estación de muestreo de Mesapata se encuentra ubicada en el Pasivo Ambiental Minero (PAM) de Mesapata, a 300 m aproximadamente de la Planta Concentradora de Minerales Mesapata, del Centro Poblado de San Miguel en el distrito de Cátaac, provincia de Recuay, departamento de Áncash a una altitud entre los 3520 - 3600 msnm aproximadamente, al Sureste de la ciudad de Huaraz a 36,5 Km., en el trayecto Cátaac – Chavín y al margen izquierdo del río Yanayacu.

El PAM de Mesapata es la acumulación o depósito de residuos, producto del procesamiento de minerales sulfurados de plomo, plata, zinc y cobre, generadas en su etapa de funcionamiento de la planta

concentradora de minerales “Mesapata”. Esta planta concentradora es administrada por la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo a partir del año 1993; en su etapa de funcionamiento la planta concentradora contaba con una capacidad nominal de 200 TPD.

Además, este PAM se encuentra dentro del bofedal el cual cuenta con sistema de biorremediación que recolecta los DAM generados, el sistema está compuesto por un pretratamiento (zanjas de decantación) y canales de tratamiento (humedales construidos de flujo superficial) compuestas por humus, arena y planta fitorremediadoras.

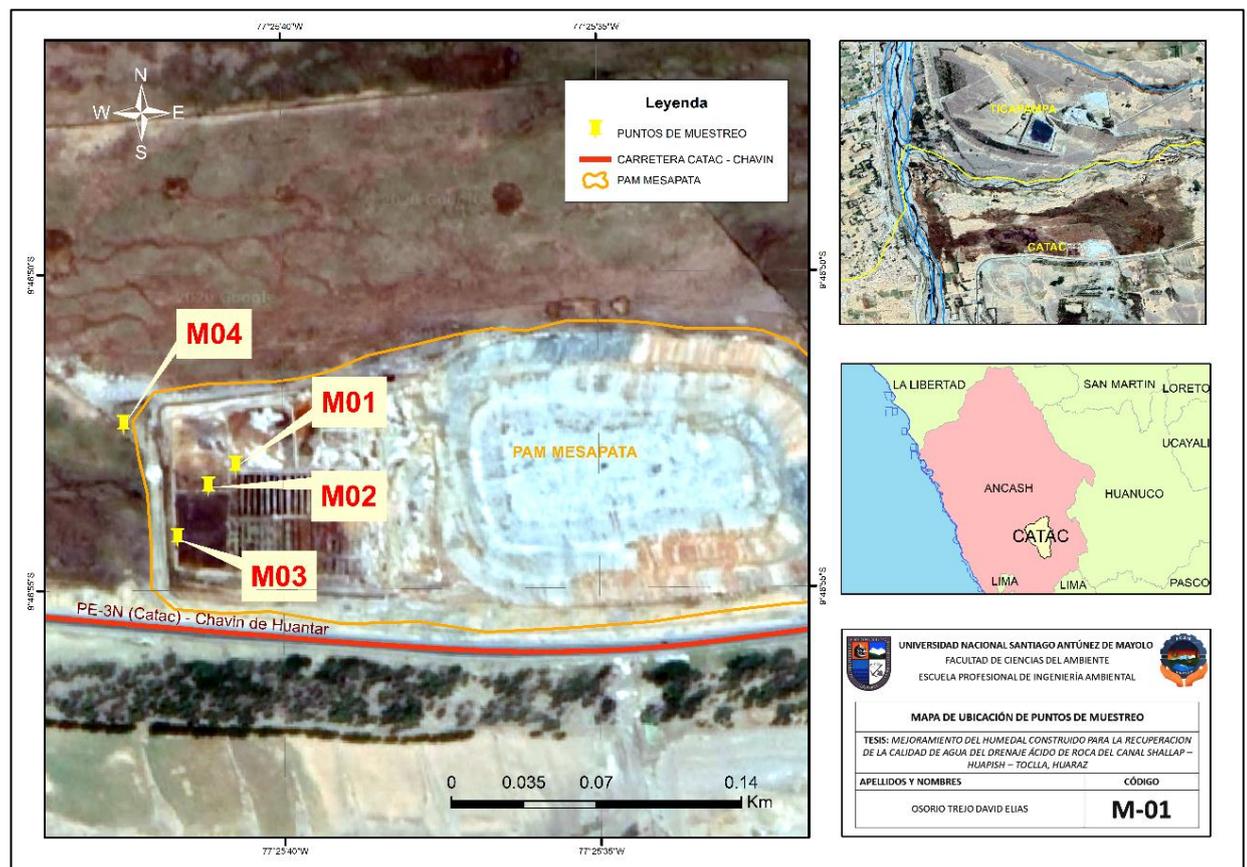


Figura 14. Mapa de ubicación de puntos de muestreo Mesapata. Fuente: Google Earth.

3.4. Métodos o técnicas

En este apartado se identifica los métodos y técnicas correspondientes a cada una de las etapas planteadas en la presente investigación, el cual está dado por lo siguiente:

3.4.1. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de Bacterias Sulfato Reductoras

El aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras se ha desarrollado en dos medios de cultivo diferentes; entre ellos, el medio de cultivo Postgate B y la columna Winogradsky.

a. Preparación de medios de cultivo Postgate B

De acuerdo con Barton y Tomei (1995), el medio de cultivo se compone por lo siguiente para una solución de 1L:

Tabla 5: Composición del medio de Postgate B.

MEDIO POSTGATE B, ref. Según Barton y Tomei, 1995	
COMPOSICIÓN	CANTIDAD
KH ₂ PO ₄	0.5 g
NH ₄ CL	1 g
CaSO ₄	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	2 g
Lactato de sodio	3.5 g (5mL al 50%)
Extracto de levadura	1 g
FeSO ₄	0.5 g
Ácido ascórbico	0.1 g
Ácido thioglicólico	0.1 g
Agua destilada	1 L

Sin embargo, se ha reemplazado y añadido algunos reactivos a la composición del medio de cultivo, presentando la siguiente composición para 1 L de solución.

Tabla 6: Composición del medio de Postgate B Modificado
(Adaptado de Barton y Tomei, 1995)

SOLUCIÓN	COMPOSICIÓN	CANTIDAD
SOLUCIÓN A	KH ₂ PO ₄	0.5 g
	NH ₄ CL	1 g
	CaSO ₄	1 g
	MgSO ₄ .7H ₂ O	2 g
	Yogurt	5 mL

	Extracto de levadura	1 g
	FeSO ₄	0.5 g
	Ácido ascórbico	0.1 g
	Ácido thioglicólico	0.1 g
	Agua destilada	800 mL
SOLUCIÓN B	Agar-agar	5 g
	Agua destilada	200 mL

Teniendo en cuenta la composición se prosiguió con la preparación del medio de cultivo, de la siguiente manera:

- Solución A: Se pesó los insumos de la solución A, teniendo en cuenta las cantidades detalladas en la tabla 7. Los componentes debidamente pesados se disolvieron en una solución de 800 mL de agua destilada. Luego de la remoción y obtención de una solución homogénea se prosiguió con la esterilización a una presión de 15 libras por un periodo de 15 minutos.
- Solución B: Se pesó y disolvió el agar en una solución de 200 mL de agua destilada; luego se esterilizó a una presión de 15 libras por un periodo de 15 minutos.

Las soluciones A y B obtenidas luego del periodo de esterilización, fueron mezcladas a una temperatura no menor a 70 °C y fueron distribuidas en botellas PET esterilizadas.

Con la finalidad de obtener mayor propagación de bacterias se realizó el repique de las muestras de las bacterias sulfato reductoras con las siguientes características del medio de cultivo, denominado Postgate B Mod-O.

Tabla 7: Composición del medio de Postgate B Mod-O.

SOLUCIÓN	COMPOSICIÓN	CANTIDAD
SOLUCIÓN A	KH ₂ PO ₄	0.1 g
	NH ₄ Cl (úrea + hipoclorito)	4 mL
	CaSO ₄	1 g
	MgSO ₄ .7H ₂ O	2 g
	Ácido acético al 5% (comercial)	5 mL
	Extracto de levadura	1 g
	FeSO ₄	0.5 g
	Ácido ascórbico	0.5 g
	Ácido thioglicólico	0.5 g
	Agua destilada	800 mL
SOLUCIÓN B	Agar-agar	5 g
	Agua destilada	200 mL

El mecanismo de preparación se desarrolló de manera similar a la preparación al medio de cultivo Postgate B Modificado.

b. Preparación de la columna de Winogradsky

La columna de Winogradsky tiene la siguiente composición:

Tabla 8: Composición de la columna Winogradsky (adaptado de Velásquez 2017)

INSUMOS	CANTIDAD
Aserrín	200 mL
Compost	200 mL
Yeso (CaSO ₄ 2·H ₂ O)	5 mL
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	5 mL
Papel toalla licuado	340 mL
Lodo	80 mL
Relave de Mesapata	1.5 L

Se realizó la medición de la cantidad indicada en la tabla 8 de cada insumo con ayuda de una jarra de plástico de 500 mL de capacidad máxima. Para uniformizar la mezcla de los insumos se utilizó un balde de 4 L de capacidad.

3.4.2. Recolección de muestras y aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras

a. Muestreo de Bacterias Sulfato Reductoras

La recolección de las muestras se realizó en frascos de plásticos pequeños (80 mL) con tapa, estas fueron llenadas completamente para reducir la presencia de oxígeno. Los puntos de muestreo están determinados por las siguientes coordenadas:

Tabla 9: Distribución de puntos en las estaciones de muestreo.

Estación	Código	Fecha	Coordenadas UTM	
			X	Y
Pastoruri	P-01	06/12/20	260608.8	8904390.2
	P-02	06/12/20	260613.5	8904388.3
	P-03	06/12/20	260621.1	8904376
	P-04	06/12/20	260622.6	8904359.5
Mesapata	M-01	06/12/20	233607.0	8917817.0
	M-02	06/12/20	233633.0	8917762.0
	M-03	06/12/20	233648.0	8917787.0
	M-04	06/12/20	233661.0	8917797.0

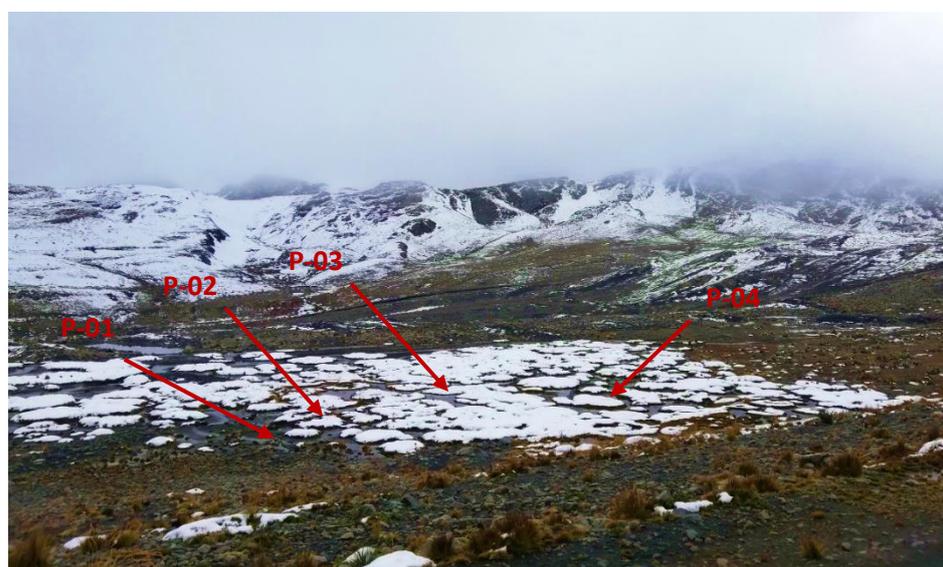


Figura 15. Vista panorámica del bofedal de Pastoruri.

- P-01: Se encuentra ubicado al borde del bofedal con presencia de agua superficial con un flujo lento y rodeado de cojines de *Plántago rígida*.

- P-02: Se encuentra rodeado de cojines de *Plántago rígida* y con flujo de agua lento en la parte interna del bofedal.
- P-03: Se encuentra rodeado de cojines de *Plántago rígida* y con baja presencia de agua en la superficie y con presencia de sedimento superficial de coloración anaranjada.
- P-04: Se encuentra rodeado de cojines de *Plántago rígida* con *Calamagrostis* en su superficie, con flujo de agua estancada y con coloración anaranjada en la superficie.



Figura 16. Vista aérea de Mesapata.

- M-01: Salida del sedimentador del sistema de biorremediación del depósito de relave.
- M-02: Ingreso al humedal construido rodeado de plantas fitorremediadoras (*Calamagrostis*).
- M-03: Salida del humedal construido rodeado de plantas fitorremediadoras (*Calamagrostis*).
- M-04: El punto se encuentra ubicado en el bofedal y en la salida del sistema de biorremediación.

b. Aislamiento de BSR en medio cultivo Postgate B

Las muestras recolectadas de cada estación de muestreo fueron mezcladas (80 mL/punto/estación) de cada punto que

corresponda a la misma estación de muestreo en un recipiente; de esta mezcla se tomó 50 mL para su incorporación a la botella que contiene 2.25 L de medio de cultivo Postgate B Modificado, previamente preparado en botellas PET de 2.5 L de capacidad, evitando burbujeo en la mezcla; luego se realizó la rotulación. Esta rotulación se desarrolló por duplicado para cada estación de muestreo.



Figura 17. Esquema de aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR) en medio de cultivo Postgate B Modificado.

En total se sembraron en 4 botellas (2 por cada estación de muestreo) y fueron incubadas en condiciones controladas de invernadero por un tiempo de 54 días desde su inoculación. A continuación, se muestra el esquema explicativo.

c. Repique de BSR en medio de cultivo Postgate B Mod-O

En el repique del consorcio de las bacterias por origen de aislamiento, se ha utilizado las bacterias cultivadas en el medio Postgate B modificado y de diferente origen:

- Origen 1: Humedal construido estacionario.
- Origen 2: Cultivo de BSR en medio de cultivo Postgate B Modificado,
- Origen 3: Columna de Winogradsky.
- Origen 4: Desagüe domestico de agua gris.

A partir de las fuentes de las Bacterias Sulfato Reductoras se tomó 2 muestras de 20 mL de cada origen; sin embargo, para las muestras de Origen 2 se tomó muestras de los cultivos con mejor evidencia de crecimiento de las bacterias. Cada una de estas muestras fueron sembradas en 2 L del medio de cultivo Postgate B Mod-O contenidas en botellas PET de 2.5 L de capacidad.

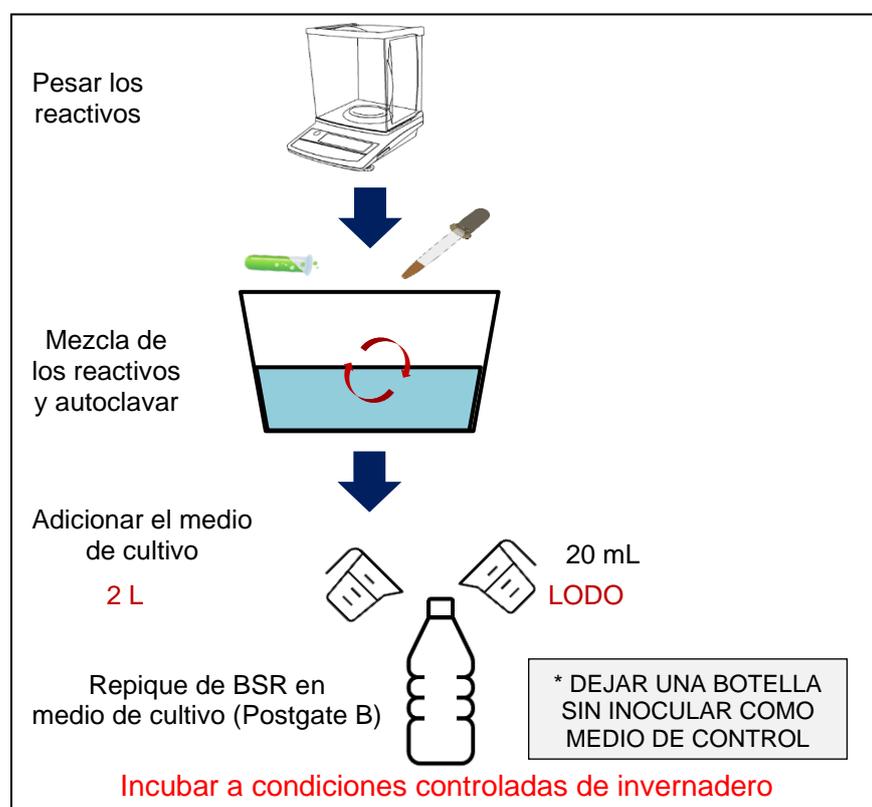


Figura 18. Diseño para el repique de las bacterias sulfato reductoras.

Se sembraron en total 8 muestras de BSR y se dejó una botella sin inocular como medio de control. Luego las botellas fueron incubadas en condiciones controladas de invernadero por un tiempo de 3 meses.

d. Aislamiento de BSR en la columna de Winogradsky

El aislamiento de las BSR en la columna de Winogradsky se realizó con muestras de lodo del mismo origen usado en el medio de cultivo Postgate B Mod-O, el tiempo de incubación es de 2 meses.

Para el aislamiento en las columnas de Winogradsky se utilizó 20 mL de cada origen en botellas PET de 2.5 L de capacidad teniendo en cuenta la composición de la Tabla 8 y la estructura del siguiente esquema:

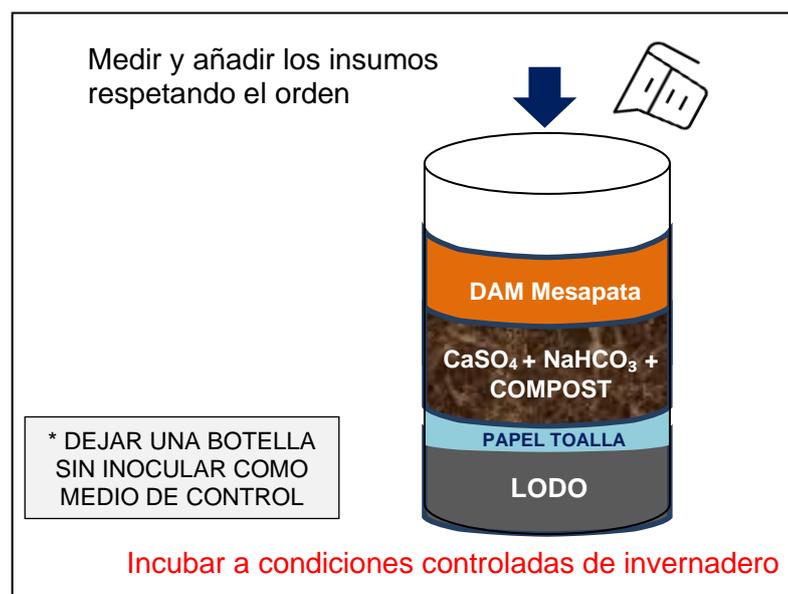


Figura 19. Esquema para el repique de las bacterias sulfato reductoras en la columna Winogradsky.

Para determinar las influencias de cada uno de los componentes del humedal (BSR, compost y la sinergia de BSR más compost) se hizo en condiciones controladas a nivel de invernadero para evitar interferencia de resultados por factores intervinientes. A continuación, se detallan los procedimientos para cada caso.

3.4.3. Instalación de Conos Imhoff para el tratamiento de DAM

Los tratamientos con los conos Imhoff consiste en la instalación de 3 tratamientos con características diferentes para la determinación de remoción de metales del Drenaje Ácido de Mina, principalmente la remoción de hierro totales. Adicionalmente se instaló 2 controles (con arena y sin arena). Cada uno de estos tratamientos se especifican en la tabla 11.

Las Bacterias Sulfato Reductoras utilizadas en el tratamiento fue la combinación de las bacterias cultivadas en el repique en el medio Postgate B Mod-O y la columna Winogradsky, con presencia de las BSR al final de la incubación.

Tabla 10: Composición de los tratamientos en conos Imhoff.

TRATAMIENTO	INSUMOS	CANTIDAD
ABC	Arena	80 mL
	BSR	70 mL
	Compost	250 mL
	DAM Mesapata	1 L
AB	Arena	80 mL
	BSR	70 mL
	DAM Mesapata	1 L
AC	Arena	80 mL
	Compost	250 mL
	DAM Mesapata	1 L
CONTROL (CTRL)	Arena	70 mL
	DAM Mesapata	1 L

El sustrato utilizado para los tratamientos esta dado por arena y compost. La arena que se utilizó para cada tratamiento fue lavada y ozonizada, y tiene una granulometría de 2.38 mm (Malla #08). El compost utilizado es de origen doméstico tamizado a una granulometría de 2.38 mm (Malla #08).

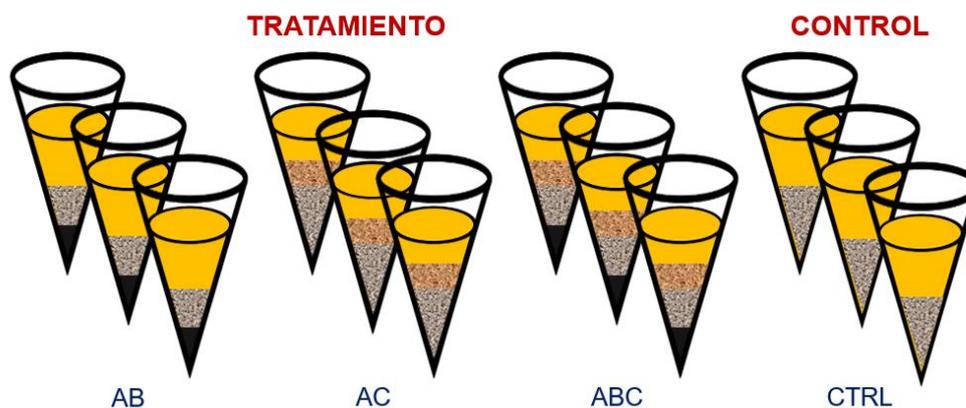


Figura 20. Esquema del tratamiento de DAM en conos Imhoff.

El Drenaje Ácido de Mina utilizado en todos los tratamientos fue recolectado del drenaje del lateral norte del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata.

El tratamiento duró 15 días, en el cual el monitoreo de los parámetros fisicoquímicos y hierro disuelto se realizó de manera diaria.

3.4.4. Instalación del humedal estacionario construido

La grava utilizada fue lavada previamente para eliminar las impurezas y restos de limo y arcilla, la granulometría de la grava fue de \varnothing 2.38 mm (parte inferior) y \varnothing 1.19 mm (parte superior); mientras que, el compost fue tamizado por la malla #08 (\varnothing 2.38 mm) para garantizar la uniformidad del tamaño de las partículas.

El lodo utilizado para el humedal estacionario construido fueron las Bacterias Sulfato Reductoras cultivadas en el medio Postgate B y la columna Winogradsky.

Las plantas utilizadas en el humedal estacionario construido fueron plantas de características fitorremediadoras recolectadas del humedal construido de Mesapata.

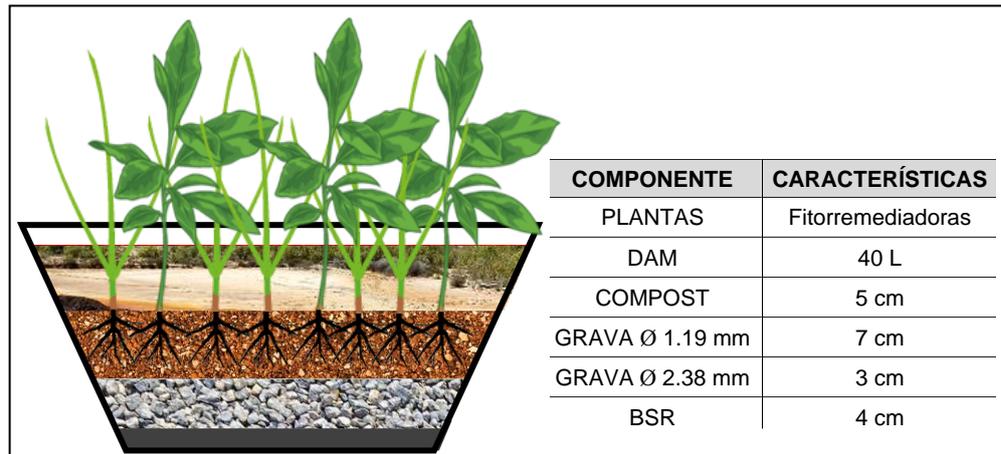


Figura 21. Esquema del humedal estacionario construido.

3.4.5. Monitoreo y análisis químico

El monitoreo de las pruebas en los conos Imhoff y el humedal estacionario construido se realizó por un periodo de 15 días, con la medición de parámetros fisicoquímicos (pH, TDS y conductividad), Fe disuelto.

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

a. Población biológica

- Bacterias Sulfato Reductoras

La población de las bacterias está centrada en los ambientes anaeróbicos con características de presencia de metales y el desprendimiento típico de olor a sulfuro. Entre estos, se ha delimitado a dos estaciones de muestreo ubicados en el humedal construido de Mesapata, distrito de Cátac, provincia de Recuay; y, el bofedal de Pastoruri, distrito de Aquia, provincia de Bolognesi, ambos en el departamento de Áncash.

- Compost

La delimitación poblacional esta dado por los residuos orgánicos generados dentro del Condominio El Bosque del

distrito de Independencia, provincia de Huaraz, departamento de Áncash, ubicada a una altitud aproximada de 3311 msnm.

- Humedal construido

La población está centrada en los humedales construidos distribuidos en la región Áncash.

- b. Población DAM

La población en la presente investigación está enfocado al tratamiento del drenaje ácido generado en el Pasivo Ambiental Minero de Mesapata, ubicado a 3552 msnm. en el distrito de Cátac, provincia de Recuay, departamento de Áncash.

3.5.2. Muestra

- a. Muestra biológica

- Bacterias Sulfato Reductoras

Son muestras anaeróbicas de lodo recolectadas en las estaciones de muestreo de Pastoruri y Mesapata.

- Compost

Muestras de compost producidos a partir de restos orgánicos de la cocina y con segregación en la fuente.

- Humedal construido

La investigación se centra en la aplicación de un humedal construido estacionario.

- b. Muestra DAM

En la presente investigación se trabajará con muestras de Drenaje Ácido de Mina, del lado norte del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata, distrito de Cátac, provincia de Recuay, departamento de Áncash, cuyas características son de pH de 2.54, [Fe] 800 mg/L, TDS 1738 mg/L y 3464 μ S/cm de conductividad.

3.6. Instrumentos validados de recolección de datos

Las técnicas que se utilizaron para el procesamiento y análisis, en la presente investigación, son las siguientes:

- Revisión de información de fuentes primarias y secundarias para la comprensión del ámbito de investigación.
- Guías de laboratorio microbiológico para el manejo de muestras biológicas.
- Medio de cultivo Postgate B modificado y la columna Winogradsky para el aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras.
- Test de Hierro (MColortest™) con tarjeta colorimétrica, para la medición de la concentración de Fe.

3.6.1. Materiales

- 8 táper de plástico pequeño (80 mL) con tapa, para la recolección de lodo.
- Cooler de 5 L, para el almacenamiento y transporte de las muestras recolectadas.
- Frascos pequeños de 20 mL, para almacenamiento de las muestras de BSR.
- Paleta de plástico, para la remoción de reactivos del medio de cultivo.
- 2 jarras de plástico de 250 mL, para las mediciones de volumen.
- Pala pequeña de jardinería, instrumento de ayuda para recolectar las muestras de lodo y plantas.
- Maceteros de 4 L, para recolectar y transportar las plantas fitorremediadoras.
- Cinta masking tape $\frac{3}{4}$ ", para rotular los recipientes de recolección de muestras.
- Cuaderno de campo, para apuntar especificaciones de los puntos de muestreo.
- Conos Imhoff, para la instalación de cada tratamiento.

- Probeta de 100 mL, para medición de cantidad de los insumos.
- Frascos pequeños de 20 mL para sacar muestras de lodo y bacterias sulfato reductoras.
- Balde de plástico de 4 L, para combinar el lodo recolectado.
- Malla Ø1.5 mm para la arena.
- Malla Ø2.36 mm para el compost.
- Malla #08 para tamizar la grava.
- Tiras de pH (rango 0-6 Merck).
- 1 pipeteador p100 (10 – 100 µL), para la manipulación de las muestras a medir en el Test de Hierro.
- Lapicero, para tomar notas de los puntos de referencia y realizar el rotulado.
- Papel higiénico.
- Embudo pequeño.
- Una tina de plástico (64 cm de largo, 32 de profundidad y 45 de ancho).
- Grava (Piedras de 2 cm. de diámetro aprox).
- Compost tamizado (malla Ø2.36 mm).
- Yute de 45 x 64 cm.
- Plantas fitorremediadoras (*Juncus articus*, *Distichia muscoides* y *Schoenoplectus californicus*).

3.6.2. Equipos

- GPS, para almacenar las coordenadas de los puntos de muestreo.
- Cámara fotográfica SAMSUNG WB150F, para registrar las evidencias de la salida de campo.
- Kit de Fe soluble (MColortest-Iron Test de 0.2-2.5 mg/L)

3.7. Plan de procesamiento y análisis estadístico de la información

Con el objetivo de la sistematización y comprobación de los resultados y la hipótesis planteada, se considera el uso del siguiente procesamiento y análisis estadístico:

- Diagramas de dispersión de medias.
- Gráficos estadísticos de la etapa de monitoreo y evaluación de los tratamientos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Resultados del aislamiento de Bacterias Sulfato Reductoras

Se aisló en total 12 y 08 muestras de Bacterias Sulfato Reductoras en el medio Postgate B y la columna Winogradsky, respectivamente, de las cuales 09 tuvieron crecimiento de las bacterias en el medio Postgate B y 08 en la columna Winogradsky.

En la Tabla 11 se muestra las características y el valor cualitativo designado para el control del crecimiento microbiano en los medios de cultivo de las bacterias.

Tabla 11: Características del crecimiento microbiano en los medios de cultivo.

CARACTERÍSTICAS	VALORIZACIÓN
Completo	+4
Abundante	+3
Moderado	+2
Escaso	+1
Nulo	0

4.1.1. Aislamiento de las BSR en el medio Postgate B Modificado

En la Figura 22 se representa el desarrollo del crecimiento de 4 muestras de Bacterias Sulfato Reductoras (2 muestras de cada estación de muestreo, Mesapata y Pastoruri) en el medio de cultivo Postgate B Modificado, teniendo en consideración parámetros cualitativos, como olor y ennegrecimiento del medio de cultivo. Las muestras de la estación Pastoruri crecieron en el medio de cultivo; mientras que, para la estación de monitoreo Mesapata se descartó 1 frasco luego de 3 semanas de incubación debido a la presencia de hongos en el medio de cultivo.

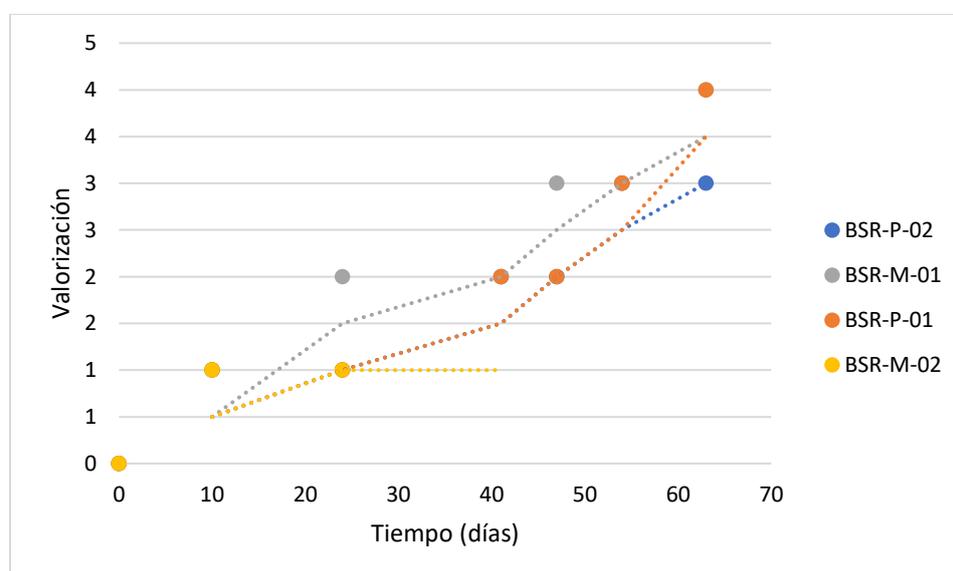


Figura 22. Curva de crecimiento de las BSR en el medio de cultivo Postgate B Modificado.

4.1.2. Repique de las BSR en el medio de cultivo Postgate B Mod-O

Para incrementar el cultivo de las Bacterias Sulfato Reductoras se realizó el repique de las 3 muestra aisladas y se añadió muestras de lodo de otras fuentes de estas bacterias. En la Figura 23 se representa el crecimiento de 8 muestras de Bacterias Sulfato Reductoras en el medio de cultivo Postgate B Mod-O, el crecimiento de las bacterias incrementa a partir de la semana 5 de incubación, mediante el ennegrecimiento desde el fondo del medio de cultivo; mientras que, para las muestras rotuladas como BSR-Humedal

artificial 01 y BSR-MC-Mesapata 01, el crecimiento de las bacterias es notorio a partir de la tercera semana de incubación.

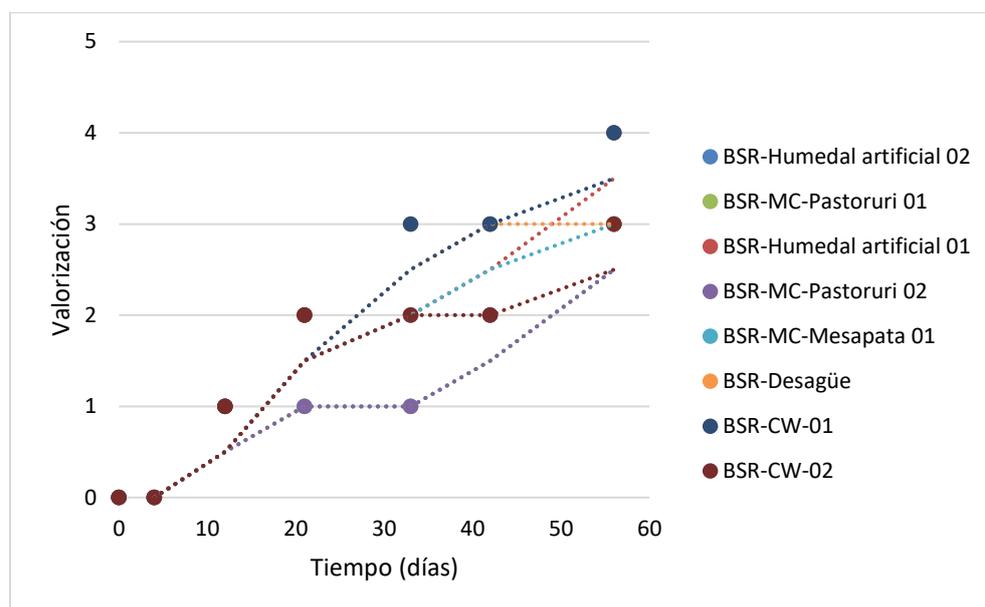


Figura 23. Curva de crecimiento de las BSR en el medio de cultivo Postgate B Mod-O.

4.1.3. Aislamiento de las BSR en la columna Winogradsky

En la figura 24 se representa la curva de crecimiento de las Bacterias Sulfato Reductoras en la columna Winogradsky, donde se observa el incremento de las bacterias a partir de la semana 6 de su incubación, mediante el ennegrecimiento y aparición de diversidad microbiana desde la superficie de la columna.

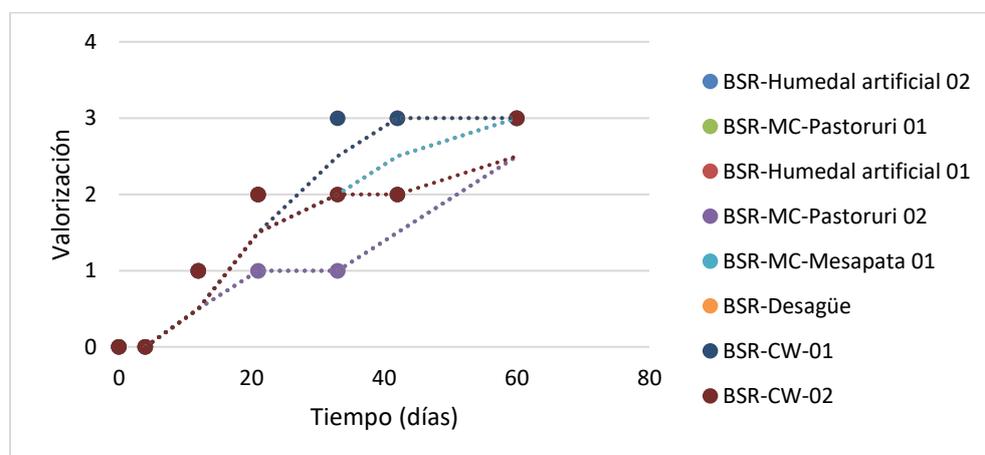


Figura 24. Curva de crecimiento de las BSR en la columna Winogradsky.

4.2. Resultados del tratamiento de DAM en conos Imhoff

En la tabla 12 se muestra las condiciones iniciales del Drenaje Ácido de Mina de Mesapata que fueron determinadas por la media de 3 muestras similares, obtenidas de la cara norte del depósito de relave de Mesapata.

Tabla 12: Caracterización promedio del DAM Mesapata.

Parámetro	Unidad	Promedio
pH		2.54
Temperatura	°C	21.37
TDS	mg/L	1738
Conductividad	μS/cm	3464
[Fe]	mg/L	800

4.2.1. Resultados del tratamiento AB

En la figura 25 se observa la variación del pH en las 3 repeticiones del tratamiento AB en 15 días de evaluación. El pH inicial para todas las repeticiones son las mismas; sin embargo, se observa un ligero incremento de 0.20 ± 0.06 del pH luego de las 2 horas de instalación del tratamiento. Dentro de los días de evaluación se observa un incremento progresivo de pH con ligeras caídas en los días 4 y 10 para el tratamiento AB-T1 y AB-T3. Considerando el Límite Máximo Permisible para la descarga de efluentes mineros, los tratamientos evaluados se encuentran 0.54 ± 0.36 por debajo del límite mínimo.

En la figura 26 se observa la variación diaria de la concentración de hierro para el tratamiento AB. La concentración del hierro no varía después de las 2 horas de instalación de los tratamientos AB-T1 y AB-T3; sin embargo, para el tratamiento AB-T2 la concentración de hierro baja a 700 mg/L aproximadamente. A partir del quinto día la concentración de hierro empieza a fluctuar en un rango aproximado entre 300 a 500 mg/L; sin embargo, la concentración de hierro sigue siendo elevada de acuerdo con los Límites Máximos Permisibles correspondientes para la descarga de efluentes mineros.

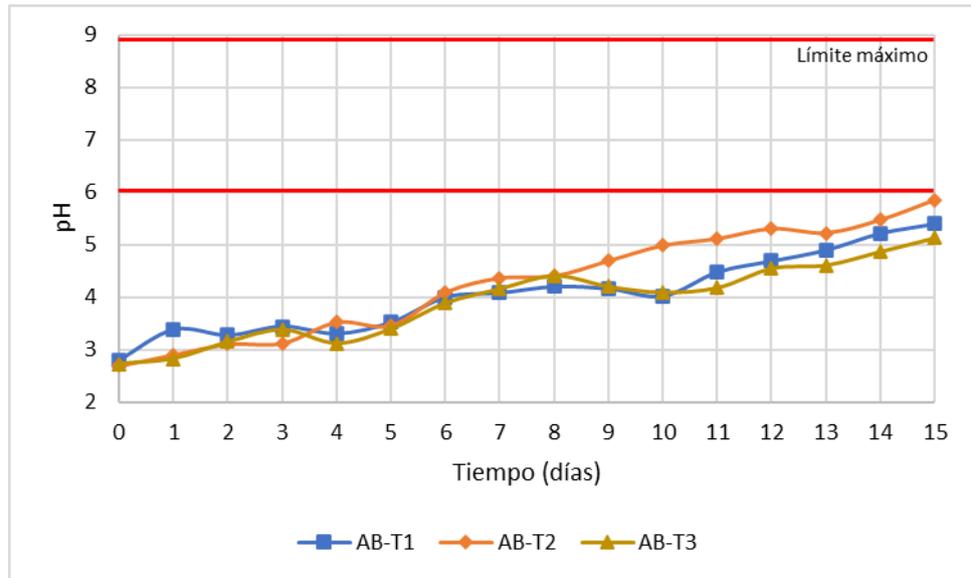


Figura 25. Variación del pH en el tratamiento AB.

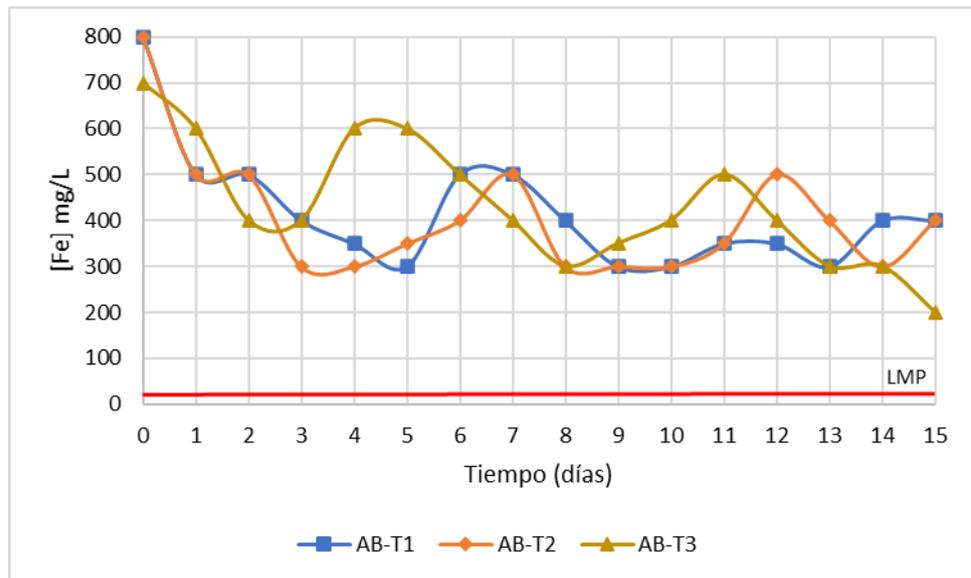


Figura 26. Variación de la concentración de Fe en el tratamiento AB.

4.2.2. Resultados del tratamiento AC

Según la figura 27, se observa la ligera variación del pH en las 3 repeticiones del tratamiento AC en 15 días de evaluación. Las condiciones iniciales de pH son las mismas para todas las repeticiones; sin embargo, se observa un incremento después de las 2 horas de instalación del tratamiento con una variación de 0.59 ± 0.12 de pH. El incremento del pH varía de manera progresiva dentro

de los días de evaluación, logrando que en el día 15 se encuentra dentro del rango de 4 a 5 para los 3 tratamientos instalados. Considerando el rango de pH para los Límites Máximos Permisibles para la descarga de efluentes mineros, los tratamientos se encuentran 1.32 ± 0.18 unidades por debajo del límite mínimo y 4.32 ± 0.18 del límite máximo.

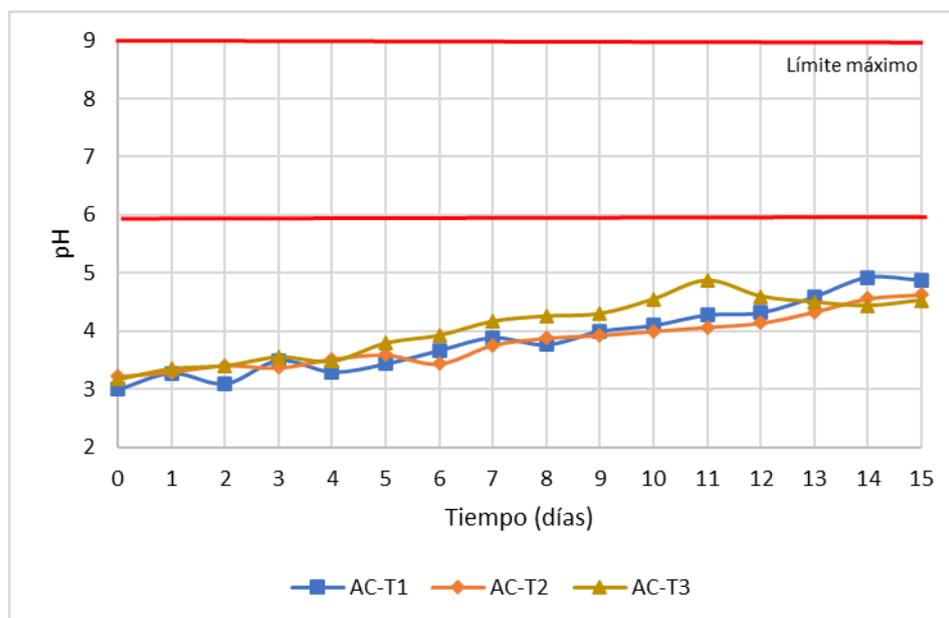


Figura 27. Variación del pH en el tratamiento AC.

En la figura 28 se observa la variación diaria de la concentración de hierro para el tratamiento AC. La concentración del hierro inicial baja a 600 mg/L para las repeticiones AC-T1 y AC-T3 después de las 2 horas de instalación y para el tratamiento AC-T2 baja a 700 mg/L, luego la concentración de hierro disminuye de manera progresiva hasta el día 06 de evaluación, alcanzando un promedio de 736 ± 60.66 mg/L de remoción de hierro en las 3 repeticiones. A partir del sexto día se observa una estabilización del tratamiento por la presencia de fluctuaciones homogéneas hasta el último día de las evaluaciones. Además, se observa que la remoción más alta de hierro es un promedio de 772.66 ± 28.34 mg/L y se encuentra por encima de los Límites Máximos Permisibles correspondientes para la descarga de efluentes mineros.

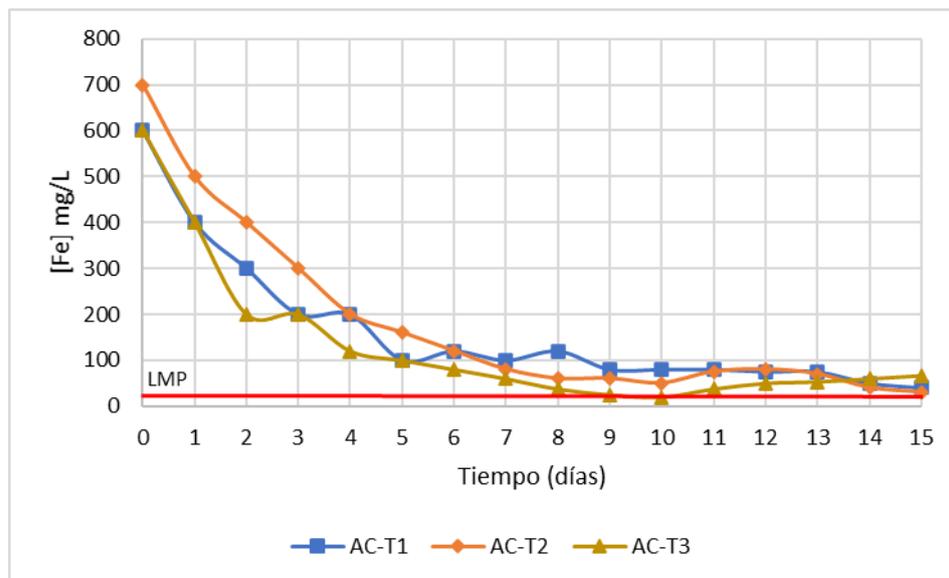


Figura 28. Variación de la concentración de Fe en el tratamiento AC.

4.2.3. Resultados del tratamiento ABC

En la figura 29 se observa la variación del pH en las 3 repeticiones del tratamiento ABC en 15 días de evaluación. Las condiciones iniciales de pH son las mismas para todas las repeticiones; sin embargo, se observa un incremento de 0.78 ± 0.08 de pH después de las 2 horas de instalación del tratamiento. El incremento del pH varía de manera progresiva dentro de los primeros 8 días de evaluación, logrando estabilizarse en rango promedio a partir del día 9 hasta el último día de su instalación de los tratamientos; además teniendo en cuenta los Límites Máximos Permisibles correspondientes para la descarga de efluentes mineros, los tratamientos se encuentran por debajo del límite por 1.18 ± 0.19 unidades respecto al límite mínimo de pH.

En la figura 30 se observa la variación diaria de la concentración de hierro para el tratamiento ABC. La concentración del hierro inicial baja a 600 mg/L para el tratamiento ABC-T1, mientras que para los tratamientos ABC-T2 y ABC-T3, la concentración de hierro disminuye a 700 mg/L después de las 2 horas de instalación de los tratamientos respecto a la medición inicial. A partir del segundo día la concentración de hierro disminuye

progresivamente hasta estabilizarse en el octavo día hasta el último día de evaluación. La remoción promedio más alta registrada es en el día 14 con 784.80 ± 16.59 mg/L de reducción de la concentración de hierro, esta a su vez se encuentra superior al límite respecto a los Límites Máximos Permisibles correspondientes para la descarga de efluentes mineros.

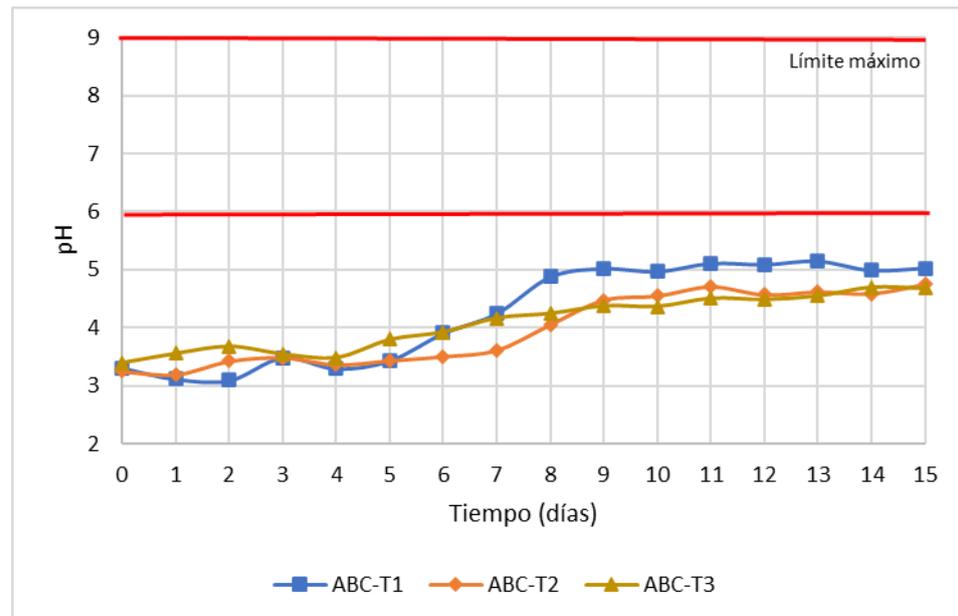


Figura 29. Variación del pH en el tratamiento ABC.

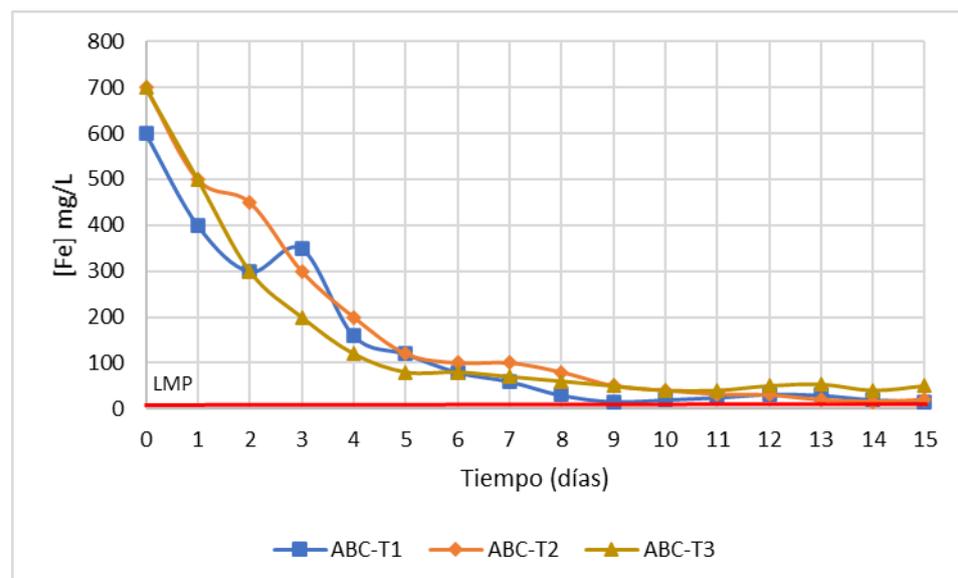


Figura 30. Variación de la concentración de Fe en el tratamiento ABC.

4.3. Resultados del humedal estacionario construido

En la figura 31 se observa la variación diaria del pH de 3 repeticiones realizadas al humedal estacionario construido. El pH se incrementa un promedio de 0.80 ± 0.13 en cada repetición realizada al humedal después de 2 horas de su renovación del DAM. El incremento del pH es significativo dentro de los tres primeros días de monitoreo para cada repetición realizada, luego se estabiliza dentro del rango de 6 a 8 aproximadamente en los días posteriores. Cabe resaltar que en todas las repeticiones el pH se incrementa y estabiliza, logrando valores dentro de los Límites Máximos Permisibles correspondientes para la descarga de efluentes mineros.

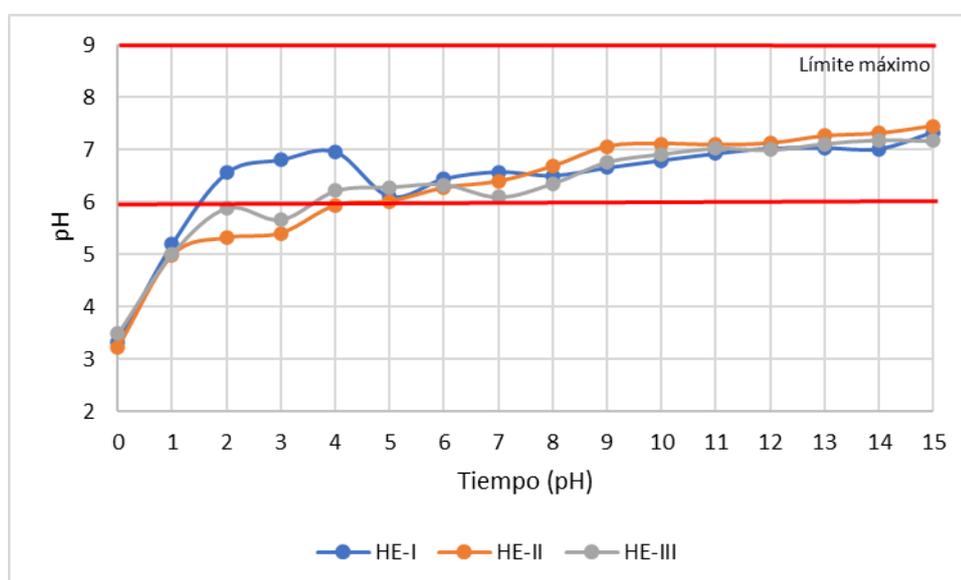


Figura 31. Variación del pH en el humedal estacionario construido.

En la figura 32 se observa la variación diaria de la concentración de hierro para el humedal estacionario construido. La concentración del hierro inicial baja un promedio de 450.00 ± 50.00 mg/L en las 3 repeticiones realizadas, después de las 2 horas de cada renovación del DAM. La concentración del hierro diariamente disminuye hasta estabilizarse a partir del décimo día; además, se logra obtener concentraciones de hierro disuelto inferiores a los Límites Máximos Permisibles correspondientes para la descarga de efluentes mineros en 2 de las renovaciones y en los últimos días de evaluación.

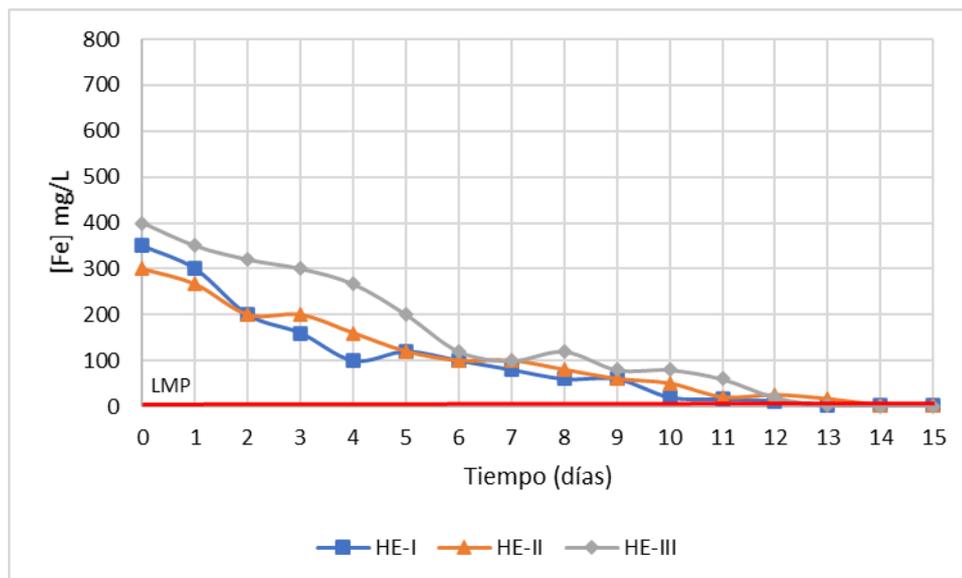


Figura 32. Variación de la concentración de Fe en el humedal estacionario construido.

4.4. Determinación del nivel de inmovilización de metales

La determinación del nivel de inmovilización de metales pesados en los componentes del humedal consistió en el cálculo del porcentaje de remoción de hierro disuelto respecto al inicio y al final de la instalación de los tratamientos, como se muestra a continuación:

$$E = \frac{[Fe]_0 - [Fe]_f}{[Fe]_0} \times 100 \dots [12]$$

D onde:

E : Eficiencia de remoción de hierro disuelto (%)

$[Fe]_0$: Concentración de hierro inicial.

$[Fe]_f$: Concentración de hierro final.

Teniendo en cuenta la ecuación [12] se ha obtenido la información de la figura 33, en la que muestra el promedio de la concentración de hierro por cada tratamiento instalado, generando una curva de tendencia logarítmica de acuerdo con el comportamiento de los datos obtenidos. Teniendo en cuenta las curvas de regresión los datos del tratamiento AB son muy dispersos respecto al resto de tratamientos y presentan menores eficiencias

de remoción del hierro; además, los tratamientos ABC y el humedal estacionario construido muestran mejores eficiencias en la remoción de hierro. El tratamiento del humedal estacionario construido presenta una tendencia logarítmica significativa respecto a los diversos tratamientos.

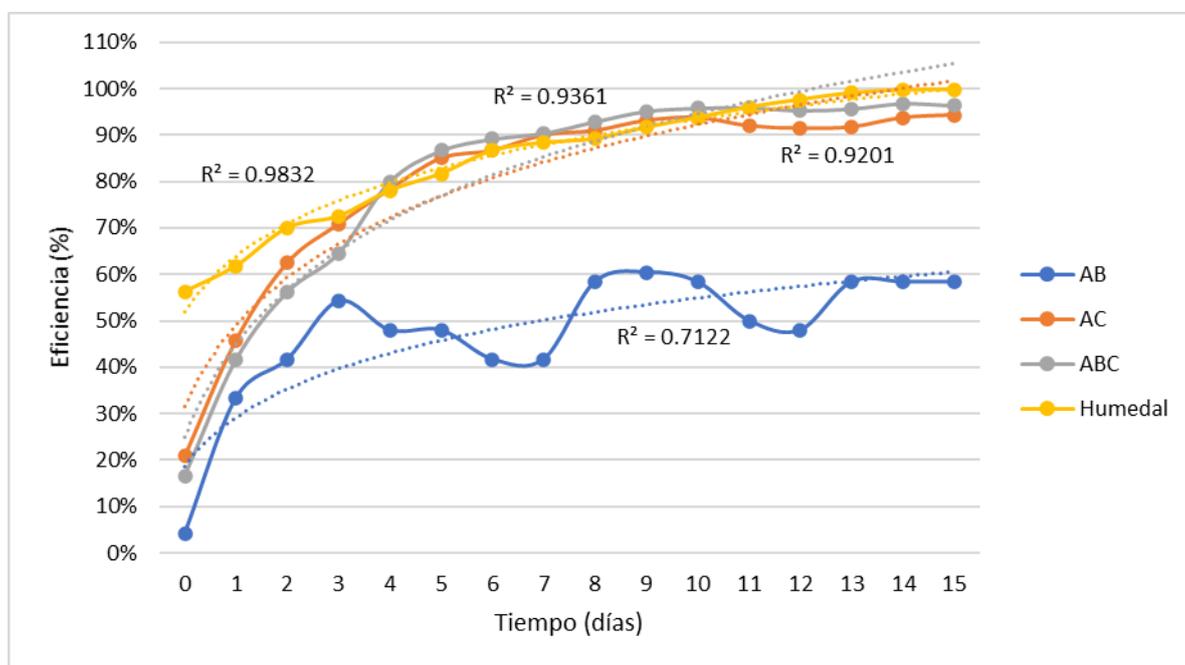


Figura 33. Eficiencia de remoción de hierro en la evaluación de los componentes del humedal.

Según la figura 34, se visualiza que los tratamientos más confiables para la remoción de hierro en los drenaje ácidos de mina son los tratamientos ABC (sinergia de bacterias y compost) y el humedal estacionario construido por presentar una distribución simétrica respecto al resto de los tratamientos de los componentes evaluados independientemente.

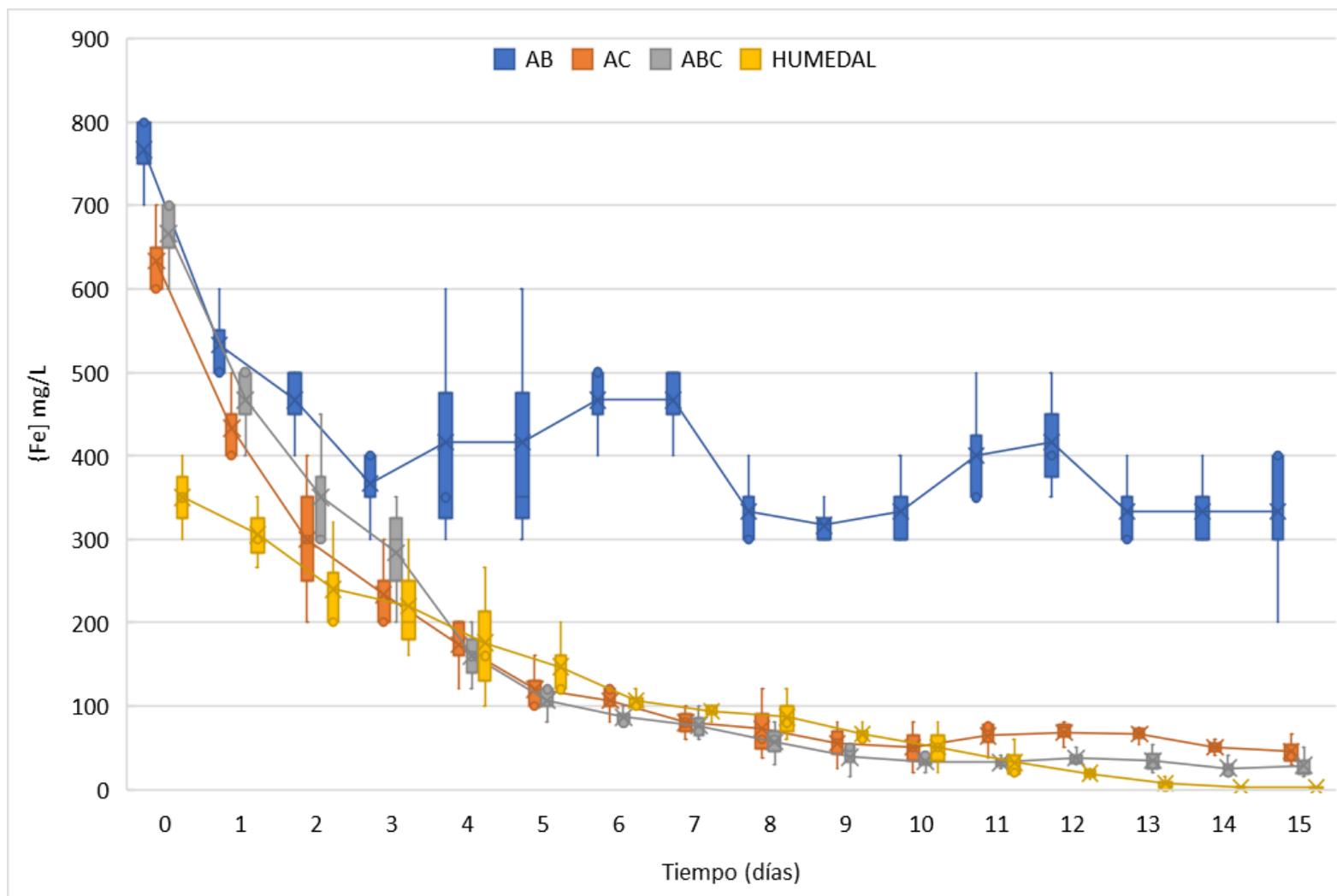


Figura 34. Diagrama de dispersión de medias para la remoción de hierro en los componentes del humedal.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras

A partir de los resultados obtenidos del aislamiento de las Bacterias Sulfato Reductoras en el medio de cultivo Postgate B y la columna Winogradsky se ha propagado un total de 12 y 8, respectivamente. Sin embargo, después del tiempo de crecimiento de las bacterias, se ha logrado evidenciar la presencia de las bacterias sulfato reductoras en 6 medios de cultivo Postgate B y en 8 columnas de Winogradsky, mediante rasgos cualitativos. Teniendo en cuenta lo mencionado por López & Fuentes (2015), la determinación de la presencia de las BSR se ha evidenciado por el ennegrecimiento de la superficie del medio de cultivo y la presencia de gases de sulfuro (olor a huevo podrido). El crecimiento tardío de las bacterias sulfato reductoras en algunos medios de cultivo podría estar influenciado a factores inhibitorios en la actividad de estas bacterias de acuerdo con lo mencionado por Neculita et al., (2007) o a la mínima presencia de bacterias sulfato reductoras en las fuentes principales de recolección.

5.2. Remoción de hierro en los conos Imhoff y el humedal estacionario construido

La remoción de hierro en cada uno de los tratamientos varía de acuerdo con su composición dando como resultado lo siguiente:

En el tratamiento de DAM con las Bacterias Sulfato Reductoras, se ha observado la acción inmediata en la reducción de la concentración de hierro y el mejoramiento de las condiciones de pH dentro de los primeros días de la instalación del tratamiento; además, con el paso de los días de evaluación estas bacterias logran estabilizar la concentración de hierro en un rango de 300 a 500 mg/L aproximadamente, como se muestra en la figura 26. La estabilización de la concentración de hierro puede estar influenciado a los factores de inhibición o a la escasa presencia de nutrientes para el crecimiento microbiano como lo menciona Neculita et al., (2007) y Zhang & Wang, (2014). Además Zhang & Wang, (2014), en su estudio realizado sugiere que el crecimiento de las bacterias sulfato reductoras para el cumplimiento del rol principal en la eliminación de metales pesados y sulfatos, debe promoverse el aporte continuo de carbono orgánico. No obstante, las bacterias sulfato reductoras logran reducir dentro de los 15 días de evaluación a la mitad de la concentración de hierro inicial.

En el tratamiento de DAM por acción del compost, se ha observado que la concentración de hierro disminuye considerablemente dentro de los primeros días de evaluación del sistema, esto puede deberse a que el compost posee alta capacidad de intercambio iónico. Además, la remoción de hierro en el tratamiento se estabiliza a partir del octavo día de evaluación con una eficiencia de remoción de hierro del 80 %, la estabilización del tratamiento con compost está ligado a la saturación y características del pH como lo menciona Neculita et al., (2007) & Ong et al., (2008).

El tratamiento sinérgico entre el componente compost y las bacterias sulfato reductoras presenta mejores condiciones de rendimiento en la remoción de hierro respecto a los tratamientos de los componentes independientes., esto puede estar ligado por la fuente de energía y alimento de las bacterias sulfato reductoras a partir de las características del compost.

La estabilidad de la concentración de hierro se da a partir del sexto día de instalado del sistema y muestra mejor eficiencia de remoción al final del día de evaluación. Además, Ayangbenro et al., (2018) menciona que la sinergia entre sales y sustratos orgánicos optimizan la eliminación y remoción de metales y sulfatos.

El humedal estacionario construido presentó mejores condiciones en la remoción de hierro con una eficiencia del 99.8% y una concentración del hierro de 1.2 mg/L en el último día de evaluación, 0.8 mg/L por debajo de los límites máximos permisibles para efluentes mineros. Además, el pH se incrementó de 2.54 a 7 aproximadamente ubicándose dentro del rango de los límites máximos permisibles para efluentes mineros. Ong et al., (2008) menciona los mecanismos de remoción de los metales esta ligado a los procesos que se desarrollan en los humedales; es por ello que, la obtención de las mejores condiciones en la remoción de hierro y el incremento del pH se debe a la interacción de sus componentes del humedal construido. Además, Pat-Espadas et al., (2018), menciona que las interacciones sinérgicas en un humedal determinan la remoción de metales pesados, siendo la interacción simbiótica microorganismo-planta la más importante para la eliminación y tolerancia de metales pesados.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. CONCLUSIONES

- Las Bacterias Sulfato Reductoras de la estación de muestreo de Mesapata tienen mejor crecimiento en los medios de cultivo Postgate B y la columna Winogradsky por el ennegrecimiento y la generación gases de sulfuro (olor a huevo podrido) en menor tiempo respecto a las Pastoruri y aguas residuales domésticas.
- La remoción de hierro con bacterias sulfato reductoras (tratamiento AB) reduce hasta el 50% del drenaje ácido de mina (de 800 a 400 mg/L).
- El compost logra inmovilizar el hierro es rápida en los primeros días de contacto con el drenaje ácido de mina; con un R^2 de 0.92 para su eficiencia.
- El tratamiento sinérgico muestra mejoría de las condiciones fisicoquímicas y la remoción del hierro debido a la generación de un micro ecosistema dentro del tratamiento y logrando bajar las concentraciones de hierro.
- El sistema de tratamiento del humedal estacionario construido presenta mejores condiciones para la remoción y mejoramiento de las condiciones del drenaje ácido de mina debido a la interacción sinérgica entre las bacterias sulfato reductoras, compost y plantas.

6.2. RECOMENDACIONES

- Teniendo en cuenta que la región Áncash presenta mayor incidencia por presencia de pasivos ambientales mineros en su territorio, se recomienda a las entidades enfocadas en la remediación de ambientes degradados a la implementación de sistemas de biorremediación teniendo en cuenta el enfoque sinérgico de los componentes del sistema, abordados en la presente investigación.
- Para futuras investigaciones sobre mejoramiento de los sistemas de biorremediación, es recomendable tener una diversidad de muestras de lodo con presencia de las bacterias sulfato reductoras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aduvire, O. (1991). Drenaje Ácido de Mina. Generación y Tratamiento. In *Instituto Geológico y Minero de España*. Instituto Geológico y Minero de España (IGME).
- Alejandro, J., Portillo, L., Manuel, V., Reyes, V., Rodrigo, L., Aguilar, G., Guadalupe, Á., Santander, P., & Guzmán, J. A. L. (2010). Humedales. In *Atlas del patrimonio natural, histórico y cultural de Veracruz ; Gobierno del Estado de Veracruz : Comisión del Estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional*.
http://www.sev.gob.mx/servicios/publicaciones/colec_veracruzsigloXXI/PatrimionaturalVeracruz/PatrimionaturalVeracruz1.pdf
- Aramburo, M. A., & Olaya, Y. (2012). Problemática de los pasivos ambientales. *Revista Gestion y Ambiente*, 15(3), 125–133.
- Ayangbenro, A. S., Olanrewaju, O. S., & Babalola, O. O. (2018). Sulfate-reducing bacteria as an effective tool for sustainable acid mine bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG), 1–10.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01986>
- Badillo, L., Carvajal, C., Plata, D., & Fernández, D. (2016). *Construcción y evaluación de la eficiencia de dos prototipos de humedal artificial para el tratamiento de aguas residuales domésticas provenientes de la Universidad El Bosque*.
- Bonel, B. A., Morrás, H. J. M., & Bisaro, V. (2005). Modificaciones de la microestructura y la materia orgánica en un Argiudol bajo distintas condiciones de cultivo y conservación. *Ciencia Del Suelo*, 23(1), 1–12.
- Cadillo, E. (2018). *PROPUESTA DE MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD DE LAS AGUAS ACIDAS QUE DRENAN DEL PASIVO AMBIENTAL DE LA MINA NUNCIA MEDIANTE EL USO DE BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS – ATAQUERO – CARHUAZ -ANCASH [UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL]*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1407279>
- Chappuis, M. (2019). Remediación y activación de pasivos ambientales mineros

- (PAM) en el Perú. *Medio Ambiente y Desarrollo*, 1–47.
- Chávez Quijada, M. (2015). Los Pasivos Ambientales Mineros: Diagnóstico Y Propuestas. *Red de Propuesta y Acción Minería Ambiente Comunidad*, 82.
- Congreso de la Republica, & MINAM. (2004). Ley 28271 - Ley que regula los pasivos ambientales de la Actividad Minera. In *Minam*.
- Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandova, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(2), 597–612.
- Doroni, G., El, S. I., & Juan, S. (2020). *La actividad minera y los pasivos ambientales* *. XI, 311–332.
- Durand, D., La Torre, F., Villón, C., & Pasapera, J. (2009). Geomorfología de la microcuenca Pastoruri-Cordillera Blanca 1. *Investigaciones Sociales*, 13(23), 59–77.
- Elliott, P., Ragusa, S., & Catcheside, D. (1998). Growth of sulfate-reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a treatment system for acid mine drainage. *Water Research*, 32(12), 3724–3730. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00144-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00144-4)
- Ford. (2003). Passive Treatment Systems. *National Science and Technology Center*, April.
- Fu, F., & Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 407–418. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.011>
- García, C., Moreno, J., Hernández, M., & Polo, A. (2002). Metales pesados y sus implicaciones en la calidad del suelo. *Ciencia y Medio Ambiente- CCMA-CSIC*, 125–138. <http://hdl.handle.net/10261/111812>
- García Serrano, J., & Corzo Hernández, A. (2008). *Depuración con Humedales Construidos. Guía Práctica de Diseño, Construcción y Explotación de Sistemas de Humedales de Flujo Subsuperficial*. (p. 100).
- Guevara, Á. (2012). *Utilización de humedales construidos en el tratamiento del*

drenaje ácido de minas. Universidad Industrial de Santander.

Gutierrez Rojas, A. V., Terrazas Siles, L. E., & Álvarez Aliaga, M. T. (2007).

Aislamiento y cultivo de bacterias sulfato reductoras acidófilas para la Producción de Sulfuro Biogénico para la precipitación de metales pesados. *Biofarbo*, 15, 5–12.

Gutierrez Rojas, A. V., Terrazas Siles, L. E., & Álvarez Aliaga, M. T. (2009).

Cultivo a escala de laboratorio de bacterias sulfato reductoras acidófilas y su aplicación en procesos de biorremediación utilizadas para la precipitación de metales pesados. *Biofarbo*, 17(1), 1–8.

Hernández, I. A., & Sulbarán, B. C. (2017). *Modelado de humedales artificiales empleando parámetros de calidad de agua*.

Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, M. del P. (2014). *Metodología de la investigación* (S. A. D. C. . McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES (ed.); 6th ed.).

Iakovleva, E., Mäkilä, E., Salonen, J., Sitarz, M., Wang, S., & Sillanpää, M. (2015). Acid mine drainage (AMD) treatment: Neutralization and toxic elements removal with unmodified and modified limestone. *Ecological Engineering*, 81, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.046>

Ivanovic, Z., & Vlaski-Lafarge, M. (2016). Evolution of Eukaryotes with Respect to Atmosphere Oxygen Appearance and Rise. *Anaerobiosis and Stemness*, 145–159. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800540-8.00008-9>

Johnson, D. B., & Hallberg, K. B. (2005). Acid mine drainage remediation options: A review. *Science of the Total Environment*, 338(1-2 SPEC. ISS.), 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.09.002>

Karathanasis, A. D., & Johnson, C. M. (2003). Metal Removal Potential by Three Aquatic Plants in an Acid Mine Drainage Wetland. *Mine Water and the Environment*, 22(1), 22–30. <https://doi.org/10.1007/s102300300004>

Kepler, D. A., & McCleary, E. C. (1994). Successive Alkalinity-Producing Systems (SAPS) for the Treatment of Acidic Mine Drainage. *Journal American Society of Mining and Reclamation*, 1994(1), 195–204.

<https://doi.org/10.21000/jasmr94010195>

- Kivaisi, A. K. (2001). The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: A review. *Ecological Engineering*, 16(4), 545–560. [https://doi.org/10.1016/S0925-8574\(00\)00113-0](https://doi.org/10.1016/S0925-8574(00)00113-0)
- Kleinmann, R. L. P. (1998). Treatment of mine drainage by anoxic limestone drains. *Acidic Mining Lakes*, 303–320.
- Langergraber, G., Dotro, G., Nivala, J., Rizzo, A., & Stein, O. R. (2020). *Wetland Technology*. IWA Publishing.
- Lee, C. W., Ng, A. Y. F., Narayanan, K., Sim, E. U. H., & Ng, C. C. (2009). Aislamiento y caracterización de bacterias cultivables de aguas costeras tropicales. *Ciencias Marinas*, 35(2), 153–167. <https://doi.org/10.7773/cm.v35i2.1525>
- Lopez, P., & Fuentes, J. (2015). Las bacterias sulfato-reductoras. *GEOMINAS*, 43(67), 93–98. <https://www.researchgate.net/publication/309322176>
- López Pamo, E., Aduvire, O., & Baretino, D. (2002). Tratamientos pasivos de drenajes ácidos de mina: Estado actual y perspectivas de futuro. *Boletín Geológico y Minero*, 113(1), 3–21.
- Maine, M. A., Sánchez, G. C., Hadad, H. R., Caffaratti, S. E., Del Carmen Pedro, M., Di Luca, G. A., & De Las Mercedes Mufarrege, M. (2016). Humedales construidos para tratamiento de efluentes de industrias metalúrgicas en Santa Fe, Argentina. *Tecnología y Ciencias Del Agua*, 7(1), 5–16.
- MINEM. (2020). *Anuario Minero: Reporte estadístico* (p. 150).
- MINEM. (2021a). *Boletín Estadístico Minero* (Dirección de Promoción Minera de la Dirección General de Promoción y Sostenibilidad Minera del Ministerio de Energía y Minas (ed.); 05–2021st ed.).
- MINEM. (2021b). *Boletín Estadístico Minero* (Dirección de Promoción Minera de la Dirección General de Promoción y Sostenibilidad Minera del Ministerio de Energía y Minas (ed.); 03–2021st ed.).
- Ministerio del Ambiente. (2017). Aprueban Estandares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen disposiciones complementarias. In *El Peruano*.

<http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-004-2017-MINAM.pdf>

Muyzer, G., & Stams, A. J. M. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 6(6), 441–454.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1892>

Ñáñez Alcántara, D. A. (2016). *ESTUDIO Y SELECCIÓN DE ESPECIES VEGETALES CON POTENCIAL BIORREMIADOR EN DRENAJES ÁCIDOS DE ROCA Y RELAVES MINERALES DE LA CUENCA DEL RÍO SANTA (ÁNCASH, PERÚ)* (Issue August). Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Neculita, C.-M., Zagury, G. J., & Bussière, B. (2007). Passive Treatment of Acid Mine Drainage in Bioreactors using Sulfate-Reducing Bacteria. *Journal of Environmental Quality*, 36(1), 1–16. <https://doi.org/10.2134/jeq2006.0066>

Núñez, E. (2020). Tratamiento de drenaje ácido de mina, mediante humedal artificial en condiciones de laboratorio [Universidad Nacional Agraria La Molina]. In *Universidad Nacional Agraria La Molina*.
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3271>

Obreque-Contreras, J., Pérez-Flores, D., & Gutiérrez, P. (2015). Acid Mine Drainage in Chile: An Opportunity to Apply Bioremediation Technology. *Journal of Waste Water Treatment & Analysis*, 06(03).
<https://doi.org/10.4172/2157-7587.1000215>

Odom, J., & Singleton, R. J. (1993). *The Sulfate-Reducing Bacteria : Contemporary Perspectives* (J. Odom & R. J. Singleton (eds.); 1st ed.). Springer-Verlag New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-9263-7>

Olds, W. E., Tsang, D. C. W., Weber, P. A., & Weisener, C. G. (2013). Nickel and Zinc Removal from Acid Mine Drainage: Roles of Sludge Surface Area and Neutralising Agents. *Journal of Mining*, 2013, 1–5.
<https://doi.org/10.1155/2013/698031>

Ong, S. K., Surampalli, R. Y., Bhandari, A., Champagne, P., Tyagi, R. D., & Lo, I. (2008). Natural Processes and Systems for Hazardous Waste Treatment. In *Safety And Health* (Vol. 127, Issue 2).

- OSINERGMIN. (2017). *La industria de la minería en el Perú - 20 años de contribución al crecimiento y desarrollo económico del país*.
http://www.osinergmin.gob.pe/seccion/centro_documental/mineria/Documentos/Publicaciones/Osinergmin-Industria-Mineria-Peru-20anos.pdf
- Palomino, E., Mostacero, J., Coico, F., Bobadilla, M., Leyva, M., & Polo, R. (2008). Biorremediación de drenajes ácidos con humedales altoandinos, Áncash - Perú. *Congreso Internacional Gestión Sostenible Del Agua: Reutilización, Tratamiento y Evaluación de La Calidad.*, 8.
- Pat-Espadas, A. M., Portales, R. L., Amabilis-Sosa, L. E., Gómez, G., & Vidal, G. (2018). Review of constructed wetlands for acid mine drainage treatment. *Water (Switzerland)*, 10(11), 1–25. <https://doi.org/10.3390/w10111685>
- Porta Casanellas, J., López-Acevedo Reguerín, M., & Roquero de Laburu, C. (2003). *Edafología : para la agricultura y el medio ambiente*. 830.
- Quiroga, R. (2015). *Procesos de bioprecipitación de metales pesados y bio reducción de Hierro (III) para el tratamiento de aguas ácidas de minas a escala de laboratorio*. Universidad Mayor de San Andrés.
- Real Academia Española. (2021). *Diccionario*. <https://dle.rae.es/>
- Sgier, H., Macias, F., Nieto, J., & Rotting, T. (2015). Diseño de una planta piloto para el tratamiento pasivo de drenaje ácido de mina. *Tecnología Del Agua*, 1(11), 70–75.
<http://www.tecnoaqua.es/media/uploads/noticias/documentos/articulo-tecnico-diseno-planta-piloto-tratamiento-pasivo-drenaje-acido-mina-tecnoaqua-es.pdf>
- Skousen, J., Rose, A., Geidel, G., Foreman, J., Evans, R., & Hellier, W. (1998). Handbook of technologies for avoidance and remediation of acid mine drainage. In *National Mine Land Reclamation Center, Morgantown*.
<https://www.osmre.gov/resources/library/ghm/hbtechavoid.pdf>
- Stevenson, F. J. (1995). Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions, Second Edition. *Journal of Chemical Education*, 72(4), A93.
<https://doi.org/10.1021/ed072pA93.6>
- Taylor, J., Pape, S., & Murphy, N. (2005). A Summary of Passive and Active

- Treatment Technologies for Acid and Metalliferous Drainage (AMD). In *Proceedings of the 5th Australian Workshop on Acid Drainage* (Issue 29).
- Thauer, R. K., Stackebrandt, E., & Hamilton, A. W. (1977). The Philosophy Of Risk Management. *Bacteriological Reviews*, 41(1), 100–180.
<https://doi.org/10.1108/eb027807>
- Thauer, R. K., Stackebrandt, E., & Hamilton, A. W. (2007). Energy metabolism and phylogenetic diversity of sulphate-reducing bacteria. In *Sulphate-Reducing Bacteria: Environmental and Engineered Systems*.
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511541490.002>
- US EPA. (2021). *GreenFacts*. <https://www.greenfacts.org>
- Villanueva, A., Palomino, E., & Paredes, M. (2005). Experiencia en biorremediación a través de humedales para el tratamiento de Drenajes Ácidos de Mina (DAM), planta concentradora Mesapata - Áncash. VI *Congreso Nacional de Ecología, Ambiente y Desarrollo Sostenible*.
- Watzlaf, G. R. (1997). Passive Treatment of Acid Mine Drainage in Down-Flow Limestone Systems. *Journal American Society of Mining and Reclamation*, 1997(1), 611–622. <https://doi.org/10.21000/jasmr97010611>
- Willis Poratti, G. (2016). *BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS POR SULFIDOGÉNESIS UTILIZANDO COMUNIDADES Y MICROORGANISMOS SULFATO-REDUCTORES*.
- Zhang, M., & Wang, H. (2014). Organic wastes as carbon sources to promote sulfate reducing bacterial activity for biological remediation of acid mine drainage. *Minerals Engineering*, 69, 81–90.
<https://doi.org/10.1016/j.mineng.2014.07.010>
- Zipper, C., & Skousen, J. (2014). Passive Treatment of Acid Mine Drainage. *Acid Mine Drainage, Rock Drainage, and Acid Sulfate Soils: Causes, Assessment, Prediction, Prevention, and Remediation*, 9780470487, 339–353.
<https://doi.org/10.1002/9781118749197.ch30>
- Zuñiga, M. A. (1991). *La minería en el Perú*. CEPAL.
<http://hdl.handle.net/11362/29834>

ANEXOS



ANEXO 1:

Monitoreo del crecimiento de las Bacterias Sulfato Reductoras en el medio de cultivo Postgate B.

CÓDIGO	FECHAS													
	Día 01		Día 10		Día 24		Día 41		Día 47		Día 54		Día 63	
	07/12/20		16/12/20		30/12/20		16/01/21		22/01/21		29/01/21		07/02/21	
	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E
BSR-P-01	0	0	1	0	1	1	2	2	2	2	3	3	4	4
BSR-P-02	0	0	1	0	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3
BSR-M-01	0	0	1	1	1	1	2	2	3	3	3	3	4	4
BSR-M-02	0	0	1	0	1	0	D	D	D	D	D	D	D	D
(O) = OLOR; (E) = ENNEGRECIMIENTO; (D) = DESCARTE														

VALORIZACIÓN	
0	NULO
1	ESCASO
2	MODERADO
3	ABUNDANTE
4	COMPLETO

ESTACIÓN MUESTREO	CÓDIGO	Día 01	Día 10	Día 32	Día 41	Día 47	Día 54	Día 63
		7/12/2020	16/12/2020	30/12/2020	16/01/2021	22/01/2021	29/01/2021	07/02/2021
PASTORURI	BSR-P-001							
	BSR-P-002							
MESAPATA	BSR-M-001							
	BSR-M-002			Descarte	Descarte	Descarte	Descarte	Descarte

ANEXO 2:

Monitoreo del repique de las Bacterias Sulfato Reductoras en el medio de cultivo Postgate B Mod-O.

CÓDIGO	FECHAS													
	Día 01		Día 04		Día 12		Día 21		Día 33		Día 42		Día 56	
	09/02/21		12/02/21		20/02/21		01/03/21		13/03/21		22/03/21		05/04/21	
	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E
BSR-Humedal artificial 01	0	0	0	0	1	1	2	1	2	2	3	3	4	4
BSR-Humedal artificial 02	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3
BSR-MC-Pastoruri 01	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3
BSR-MC-Pastoruri 02	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3
BSR-MC-Mesapata 01	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3
BSR-Desagüe	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3
BSR-CW-01	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	3	4	4
BSR-CW-02	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(O) = OLOR; (E) = ENNEGRECIMIENTO

VALORIZACIÓN	
0	NULO
1	ESCASO
2	MODERADO
3	ABUNDANTE
4	COMPLETO

CÓDIGO	Día 01	Día 04	Día 12	Día 21	Día 33	Día 42
	09/02/21	12/02/21	20/02/21	01/03/21	13/03/21	22/03/21
BSR-Humedal artificial 01						
BSR-Humedal artificial 02						
BSR-MC-Pastoruri 01						

CÓDIGO	Día 01	Día 04	Día 12	Día 21	Día 33	Día 42
	09/02/21	12/02/21	20/02/21	01/03/21	13/03/21	22/03/21
BSR-MC-Pastoruri 02						
BSR-MC-Mesapata 01						
BSR-Desagüe						

CÓDIGO	Día 01	Día 04	Día 12	Día 21	Día 33	Día 42
	09/02/21	12/02/21	20/02/21	01/03/21	13/03/21	22/03/21
BSR-CW-01						
BSR-CW-02						

ANEXO 3:

Monitoreo del crecimiento del consorcio de bacterias anaeróbicas en la columna Winogradsky.

CÓDIGO	FECHAS													
	Día 01		Día 04		Día 12		Día 21		Día 33		Día 42		Día 56	
	09/02/21		12/02/21		20/02/21		01/03/21		13/03/21		22/03/21		05/04/21	
	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E
BSR-Humedal artificial 01	0	0	0	0	1	1	2	1	2	2	3	3	4	4
BSR-Humedal artificial 02	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3
BSR-MC-Pastoruri 01	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3
BSR-MC-Pastoruri 02	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3
BSR-MC-Mesapata 01	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3
BSR-Desagüe	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3
BSR-CW-01	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	3	4	4
BSR-CW-02	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(O) = OLOR; (E) = ENNEGRECIMIENTO

VALORIZACIÓN	
0	NULO
1	ESCASO
2	MODERADO
3	ABUNDANTE
4	COMPLETO

CÓDIGO	Día 01	Día 04	Día 12	Día 21	Día 33	Día 42	Día 56
	09/02/21	12/02/21	20/02/21	01/03/21	13/03/21	22/03/21	05/04/21
BSR-Humedal artificial 01							
BSR-Humedal artificial 02							
BSR-MC-Pastoruri 01							

CÓDIGO	Día 01	Día 04	Día 12	Día 21	Día 33	Día 42	Día 56
	09/02/21	12/02/21	20/02/21	01/03/21	13/03/21	22/03/21	05/04/21
BSR-MC-Pastoruri 02							
BSR-MC-Mesapata 01							
BSR-Desagüe							

CÓDIGO	Día 01	Día 04	Día 12	Día 21	Día 33	Día 42	Día 56
	09/02/21	12/02/21	20/02/21	01/03/21	13/03/21	22/03/21	05/04/21
BSR-CW-01							
BSR-CW-02							

ANEXO 4:

Cuadro resumen de la remoción de hierro en los tratamientos.

Días	AB-T1	AB-T2	AB-T3	Promedio	%	Desviación estandar	AC-T1	AC-T2	AC-T3	Promedio	%	Desviación estandar	ABC-T1	ABC-T2	ABC-T3	Promedio	%	Desviación estandar	ABC-T4	ABC-T5	ABC-T6	Promedio	%	Desviación estandar
0	800.00	800.00	700.00	766.67	4.2%	57.74	600.00	700.00	600.00	633.33	20.8%	57.74	600.00	700.00	700.00	666.67	16.7%	57.74	350.00	300.00	400.00	350.00	56.3%	50.00
1	500.00	500.00	600.00	533.33	33.3%	57.74	400.00	500.00	400.00	433.33	45.8%	57.74	400.00	500.00	500.00	466.67	41.7%	57.74	300.00	266.70	350.00	305.57	61.8%	41.93
2	500.00	500.00	400.00	466.67	41.7%	57.74	300.00	400.00	200.00	300.00	62.5%	100.00	300.00	450.00	300.00	350.00	56.3%	86.60	200.00	200.00	320.00	240.00	70.0%	69.28
3	400.00	300.00	400.00	366.67	54.2%	57.74	200.00	300.00	200.00	233.33	70.8%	57.74	350.00	300.00	200.00	283.33	64.6%	76.38	160.00	200.00	300.00	220.00	72.5%	72.11
4	350.00	300.00	600.00	416.67	47.9%	160.73	200.00	200.00	120.00	173.33	78.3%	46.19	160.00	200.00	120.00	160.00	80.0%	40.00	100.00	160.00	266.70	175.57	78.1%	84.43
5	300.00	350.00	600.00	416.67	47.9%	160.73	100.00	160.00	100.00	120.00	85.0%	34.64	120.00	120.00	80.00	106.67	86.7%	23.09	120.00	120.00	200.00	146.67	81.7%	46.19
6	500.00	400.00	500.00	466.67	41.7%	57.74	120.00	120.00	80.00	106.67	86.7%	23.09	80.00	100.00	80.00	86.67	89.2%	11.55	100.00	100.00	120.00	106.67	86.7%	11.55
7	500.00	500.00	400.00	466.67	41.7%	57.74	100.00	80.00	60.00	80.00	90.0%	20.00	60.00	100.00	70.00	76.67	90.4%	20.82	80.00	100.00	100.00	93.33	88.3%	11.55
8	400.00	300.00	300.00	333.33	58.3%	57.74	120.00	60.00	37.50	72.50	90.9%	42.65	30.00	80.00	60.00	56.67	92.9%	25.17	60.00	80.00	120.00	86.67	89.2%	30.55
9	300.00	300.00	350.00	316.67	60.4%	28.87	80.00	60.00	25.00	55.00	93.1%	27.84	16.00	50.00	50.00	38.67	95.2%	19.63	60.00	60.00	80.00	66.67	91.7%	11.55
10	300.00	300.00	400.00	333.33	58.3%	57.74	80.00	50.00	20.00	50.00	93.8%	30.00	20.00	40.00	40.00	33.33	95.8%	11.55	20.00	50.00	80.00	50.00	93.8%	30.00
11	350.00	350.00	500.00	400.00	50.0%	86.60	80.00	75.00	37.50	64.17	92.0%	23.23	25.00	32.00	40.00	32.33	96.0%	7.51	16.00	20.00	60.00	32.00	96.0%	24.33
12	350.00	500.00	400.00	416.67	47.9%	76.38	75.00	80.00	50.00	68.33	91.5%	16.07	32.00	30.00	50.00	37.33	95.3%	11.02	12.00	25.00	20.00	19.00	97.6%	6.56
13	300.00	400.00	300.00	333.33	58.3%	57.74	75.00	70.00	53.30	66.10	91.7%	11.36	30.00	20.00	53.30	34.43	95.7%	17.09	3.00	16.00	3.00	7.33	99.1%	7.51
14	400.00	300.00	300.00	333.33	58.3%	57.74	50.00	40.00	60.00	50.00	93.8%	10.00	20.00	16.00	40.00	25.33	96.8%	12.86	3.20	3.00	1.30	2.50	99.7%	1.04
15	400.00	400.00	200.00	333.33	58.3%	115.47	40.00	30.00	66.70	45.57	94.3%	18.97	16.00	20.00	50.00	28.67	96.4%	18.58	2.60	1.60	1.20	1.80	99.8%	0.72

ANEXO 5:

Cuadro resumen de la variación de pH en los tratamientos.

Días	AB-T1	AB-T2	AB-T3	Promedio	Desviación estandar	AC-T1	AC-T2	AC-T3	Promedio	Desviación estandar	ABC-T1	ABC-T2	ABC-T3	Promedio	Desviación estandar	HE-I	HE-II	HE-III	Promedio	Desviación estandar
0	2.80	2.69	2.73	2.74	0.06	3.00	3.22	3.18	3.13	0.12	3.31	3.25	3.40	3.32	0.08	3.31	3.22	3.48	3.34	0.13
1	3.38	2.90	2.83	3.04	0.30	3.28	3.30	3.36	3.31	0.04	3.12	3.20	3.56	3.29	0.23	5.20	4.98	5.01	5.06	0.12
2	3.27	3.10	3.15	3.17	0.09	3.10	3.41	3.41	3.31	0.18	3.10	3.43	3.68	3.40	0.29	6.55	5.31	5.88	5.91	0.62
3	3.44	3.12	3.38	3.31	0.17	3.50	3.37	3.56	3.48	0.10	3.49	3.49	3.55	3.51	0.03	6.80	5.40	5.66	5.95	0.74
4	3.30	3.52	3.12	3.31	0.20	3.30	3.52	3.49	3.44	0.12	3.30	3.37	3.49	3.39	0.10	6.95	5.93	6.21	6.36	0.53
5	3.52	3.46	3.40	3.46	0.06	3.44	3.59	3.80	3.61	0.18	3.44	3.44	3.80	3.56	0.21	6.10	6.01	6.28	6.13	0.14
6	4.00	4.09	3.89	3.99	0.10	3.67	3.44	3.93	3.68	0.25	3.91	3.51	3.93	3.78	0.24	6.44	6.27	6.33	6.35	0.09
7	4.08	4.36	4.16	4.20	0.14	3.89	3.76	4.17	3.94	0.21	4.25	3.62	4.17	4.01	0.34	6.57	6.39	6.09	6.35	0.24
8	4.20	4.40	4.41	4.34	0.12	3.77	3.88	4.26	3.97	0.26	4.88	4.06	4.25	4.40	0.43	6.50	6.68	6.35	6.51	0.17
9	4.16	4.69	4.20	4.35	0.30	4.00	3.93	4.30	4.08	0.20	5.02	4.48	4.38	4.63	0.34	6.65	7.06	6.76	6.82	0.21
10	4.02	4.98	4.09	4.36	0.54	4.10	4.00	4.55	4.22	0.29	4.97	4.55	4.37	4.63	0.31	6.79	7.11	6.91	6.94	0.16
11	4.48	5.11	4.18	4.59	0.47	4.28	4.07	4.87	4.41	0.41	5.11	4.71	4.51	4.78	0.31	6.92	7.09	7.02	7.01	0.09
12	4.69	5.30	4.55	4.85	0.40	4.32	4.14	4.60	4.35	0.23	5.09	4.57	4.49	4.72	0.33	7.02	7.12	6.99	7.04	0.07
13	4.90	5.22	4.61	4.91	0.31	4.59	4.33	4.50	4.47	0.13	5.15	4.62	4.55	4.77	0.33	7.03	7.26	7.11	7.13	0.12
14	5.22	5.47	4.87	5.19	0.30	4.93	4.56	4.44	4.64	0.26	4.99	4.59	4.70	4.76	0.21	7.01	7.31	7.18	7.17	0.15
15	5.40	5.85	5.13	5.46	0.36	4.88	4.63	4.53	4.68	0.18	5.03	4.75	4.68	4.82	0.19	7.33	7.45	7.16	7.31	0.15

ANEXO 6:

Panel fotográfico de ejecución de la investigación.



Recolección de muestras de bacterias anaeróbicas de la estación de muestro Pastoruri.



Pesaje de reactivos del medio de cultivo Postgate B.



Preparación del medio de cultivo Postgate B.



Tamizaje de la grava (arena) de la quebrada de Cojup.



Acopio de Drenaje Ácido de Mina de Mesapata, Recuay, Áncash.



Instalación del humedal estacionario construido.



Instalación de los conos Imhoff.



Monitoreos fisicoquímicos de los tratamientos instalados en los conos Imhoff.