UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL AMBIENTE
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

"OPTIMIZACIÓN DE LA REMOCIÓN DE HIERRO DEL DRENAJE ÁCIDO DE MINA DEL PASIVO AMBIENTAL MINERO DE MESAPATA, RECUAY- ÁNCASH, 2020-2021"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL

Tesista: Br. **JENNIFER KAREN TRUJILLO MARCOS**

Asesor: Dr. **EDWIN JULIO PALOMINO CADENAS**

Huaraz-Perú

2022

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

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: TRUJILLO MARCOS JENNIFER KAREN

Código de alumno: 132.2502.064 Teléfono: 939185090

E-mail: jtrujillom unasam.edu.pe D.N.I. n°: 71583918

(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:

INGENIERA AMBIENTAL

4. Título del trabajo de investigación:

OPTIMIZACIÓN DE LA REMOCIÓN DE HIERRO DEL DRENAJE ÁCIDO DE MINA DEL PASIVO AMBIENTAL MINERO DE MESAPATA, RECUAY- ÁNCASH, 2020-2021

5. Facultad de: Ciencias del Ambiente

6. Escuela o Carrera: Ingeniería Ambiental

7. Línea de Investigación(*): PRESERVACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD Y DE LOS ECOSISTEMAS

8. Sub-línea de Investigación(*): EDUCACIÓN, EVALUACIÓN, CONTROL, MONITOREO Y REMEDIACIÓN AMBIENTAL

(*)Según resolución de aprobación del proyecto de tesis

9. Asesor:

Apellidos y nombres PALOMINO CADENAS EDWIN JULIO D.N.I n°: 31674598

E-mail: epalominoc unasam.edu.pe ID ORCID: 0000-0002-4589-6774

10. Referencia bibliográfica: Tesis en formato APA

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, 03/06/2022

Firma: Varillas Wiliam 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 a los tres días de junio del dos mil veintidós, en el Auditórium de la Facultad de Ciencias del Ambiente (FCAM) de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo (UNASAM), de conformidad a la normatividad vigente condujeron el acto académico público de sustentación y defensa de la tesis **"OPTIMIZACIÓN DE LA REMOCIÓN DE HIERRO DEL DRENAJE ÁCIDO DE MINA DEL PASIVO AMBIENTAL MINERO DE MESAPATA, RECUAY- ÁNCASH, 2020-2021"** que presentó **JENNIFER KAREN TRUJILLO MARCOS** 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, **JENNIFER KAREN TRUJILLO MARCOS** 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 Nº 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 Nº 761-2017-UNASAM, el Art. 160° del Reglamento de Gestión de la Programación, Ejecución y Control de las Actividades Académicas (Resolución de Consejo Universitario - Rector Nº 232-2017-UNASAM).

Huaraz, 03 de junio de 2022

DR. **HERACLIO FERNANDO CASTILLO PICON**
Presidente
Jurado de sustentación

M.Sc. **MARIO VLADIMIR LEYVA COLLAS**
Primer miembro
Jurado de sustentación

M.Sc. **YRMA SOLEDAD MINAYA SALINAS**
Segundo miembro
Jurado de sustentación

Dr. **EDWIN JULIO PALOMINO CADENAS**
Asesor de tesista

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi fortaleza en todo momento.

A mis padres, Teodosio Trujillo y Norca Marcos, por todo su amor y sacrificio.

A mis hermanos, Erick Bueno y Frank Trujillo, por su inmenso cariño y bondad.

A mis amigos y a todos los demás que ayudaron a realizar la tesis.

Jennifer Karen Trujillo Marcos.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por estar presente en cada momento de mi vida y por brindarme oportunidades para desarrollarme profesionalmente y así ayudar a mi entorno social.

A la Facultad de Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, por el respaldo académico y apoyo docente.

Al proyecto CASCADA de la Universidad Cayetano Heredia y al 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 (DAM) del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata, Recuay – Áncash” con código 044-2021-FONDECYT del concurso E041-2021-02 “Proyectos de Investigación Aplicada y Desarrollo Tecnológico”.

De manera especial, agradezco al Dr. Edwin Julio Palomino Cadenas y al Dr. Miguel Constante Bobadilla Álvarez, por brindarme su asesoría durante el desarrollo de la investigación.

Agradezco a mi familia y amigos, por brindarme su amor, confianza y ánimos para finalizar este trabajo de investigación. El camino ha sido duro y si no fuera por ellos esto no sería posible.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

RESUMEN

En el Perú la minería posee un gran impacto en la economía nacional, debido a la generación de divisas por la exportación de minerales como cobre, zinc y plata; sin embargo, es lamentable que en la actualidad el Perú reporte 7668 Pasivos Ambientales Mineros (PAMs) y uno de ellos es el PAM de Mesapata que constituye un relave polimetálico de flotación de minerales sulfurados. Estos depósitos generan continuamente Drenajes Ácidos de Mina (DAM) que contienen cantidades significativas de metales pesados. Uno de los metales que se encuentran en abundancia es el Fe^{+2} (800 mg/L) que impacta la calidad de las aguas, suelos y pastos naturales; por lo tanto, el presente trabajo de investigación tuvo por objetivo optimizar la remoción del hierro del Drenaje Ácido de Mina del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata.

El desarrollo de la investigación se dividió en tres etapas: En la etapa pre-experimental se acondicionó el lugar de trabajo, se muestrearon comunidades de Bacterias Oxidadoras de Hierro (BOFe) de Pastoruri, Mesapata y Campanayoc; y, se recolectó el DAM del lado norte del PAM de Mesapata. La etapa experimental consistió en optimizar la remoción de Fe^{+2} mediante tratamientos abióticos (pH, O_2 y O_3) y bióticos (BOFe); y, en la etapa post-experimental se realizó el análisis de las eficiencias de remoción de Fe^{+2} para la elección de las alternativas óptimas de tratamiento.

Los resultados mostraron que, el pH óptimo para la remoción de hierro varió entre 4.52 y 5.61, poseyendo eficiencias de remoción de hierro de 94.6% y 99.9%, respectivamente. Por otro lado, la oxigenación (1 L/min) y ozonización (2.15 L/min) para la remoción de $Fe^{+2,}$ son dependientes del pH, puesto que no oxidan al Fe^{+2} a pHs muy ácidos (2.32), por lo que antes de la inyección de O_2 y O_3 debe añadirse un neutralizante. De acuerdo a ello, se realizó la inyección por separado de O_2 y O_3 a 3 L de DAM a pH 4.0 y 5.5, los resultados demostraron que los tiempos de oxigenación óptimos se encuentran entre la 1 y 1.5 horas en DAM a pH 5.50, con eficiencia de remoción de Fe^{+2} de 65.0% y 80.8%. Así mismo, el tiempo de ozonización óptimo se encuentra entre los 5 y 11 minutos para DAM a pH 5.5 con eficiencias de remoción de Fe^{+2} de 71.3 %y 72.0%.

Para el caso del tratamiento biótico con BOFe, se observó que las bacterias provenientes de zonas con DAM y DAR con concentraciones mayores de 16 mg/L y pHs ácidos (2.56) tuvieron mejor crecimiento en Medio 9K Mod.; conservándose en total 17 cepas a pH 3 y 4. Por otro lado, las bacterias inoculadas (consorcio) en los sistemas Aquarium-Fe con DAM de 400 mg/L, 600 mg/L y 800 mg/L de Fe^{+2} y pH 2.56 – 4; obtuvieron

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

eficiencias muy altas de remoción de Fe^{+2}, al día 49 se observaron que en condiciones de aerobiosis las eficiencias de remoción fueron de 44%, 50%, 78% y en condiciones de microaerofilia fueron de 63%, 63% y 80%, respectivamente. En tal sentido, hay mayor eficiencia de remoción de Fe^{+2} en condiciones de microaerofilia, pH ácido y altas conentraciones de Fe^{+2}.

En conclusión, es posible optimizar la remoción de Fe^{+2} del DAM del PAM de Mesapata con tratamientos abióticos (pH, O_2 y O_3) y bióticos (BOFe), teniendo en cuenta la sinergia con el pH.

Palabras claves: DAM, remoción de hierro ferroso, Bacterias Oxidadoras de Hierro, TIFs.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ABSTRACT

In Peru, mining has a great impact on the national economy, due to the generation of foreign exchange from the export of minerals such as copper, zinc and silver; however, it is unfortunate that Peru currently reports 7,668 Mining Environmental Liabilities (PAMs) and one of them is the Mesapata PAM, which constitutes a polymetallic tailings from the flotation of sulphide minerals.These deposits continually generate Acid Mine Drainage (AMD) that contain significant amounts of heavy metals. One of the metals found in abundance is Fe^{+2} (800 mg/L) which impacts the quality of water, soil and natural pastures, therefore, this research work aimed to optimize the removal of iron from the Acid Mine Drainage of the Mesapata Mining Environmental Liability.

The development of the research was divided into three stages. In the pre-experimental stage, the workplace was conditioned, communities of Iron Oxidizing Bacteria (IOB) from Pastoruri, Mesapata and Campanayoc were sampled; and, AMD was collected from the north side of the Mesapata´s PAM. The experimental stage consisted of optimizing Fe^{+2} removal by means of abiotic (pH, O_2 and O_3) and biotic (IOB) treatments; and, in the post-experimental stage, the analysis of Fe^{+2} removal efficiencies was carried out to choose the optimal treatment alternatives.

The results showed that the optimal pH for iron removal varied between 4.52 and 5.61, with iron removal efficiencies of 94.6% and 99.9%, respectively.On the other hand, oxygenation (1 L/min) and ozonation (2.15 L/min) for the removal of Fe^{+2} are pH dependent, since they do not oxidize Fe^{+2} at very acidic pHs (2.32), for so before the injection of O_2 and O_3 a neutralizer must be added. Therefore, the separate injection of O_2 and O_3 was performed in 3 L of AMD at pH 4.0 and 5.5, the results showed that the optimal oxygenation times are between 1 and 1.5 hours in AMD at pH 5.50, with efficiency removal of Fe^{+2} of 65.0% and 80.8%. Likewise, the optimal ozonation time is between 5 and 11 minutes for AMD at pH 5.5 with Fe^{+2} removal efficiencies of 71.3% and 72.0%.

In the biotic treatment with BOFe, it was observed that the bacteria from areas with MAD and ARD with concentrations greater than 16 mg/L and acidic pHs (2.56) had better growth in Medium 9K Mod.; conserving a total of 17 strains at pH 3 and 4. On the other hand, the inoculated bacteria (consortium) in the Aquarium-Fe systems with ADM of 400 mg/L, 600 mg/L and 800 mg/L of Fe^{+2} and pH 2.56 – 4; obtained very high

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

removal efficiencies of Fe^{+2}, at day 49 it was observed that under aerobic conditions the removal efficiency was 44%, 50%, 78% and under microaerophilic conditions it was 63%, 63% and 80%, respectively. In this sense, there is greater removal efficiency of Fe^{+2} in microaerophilic conditions, acidic pH and at high concentrations of Fe^{+2}.

In conclusion, it is possible to optimize Fe^{+2} removal from the AMD of the Mesapata PAM with abiotic (pH, O_2 and O_3) and biotic (BOFe) treatments, taking into account the synergy with pH.

Keywords: AMD, ferrous iron removal, Iron Oxidizing Bacteria, TIFs.

Repositorio Institucional - **UNASAM** - Perú

ÍNDICE

CONTENIDO **Pág.**

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN REPOSITORIO..... i
ACTA DE SUSTENTACIÓN..... iii
DEDICATORIA..... iv
AGRADECIMIENTOS v
RESUMEN..... vi
ABSTRACT… viii
ÍNDICE..... x
RELACIÓN DE TABLAS..... xvi
RELACIÓN DE FIGURAS xvii
RELACIÓN DE ACRÓNIMOS xix

CAPITULO I..... 1
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 4
1.3.1. Variable independiente 4
1.3.2. Variable dependiente..... 4

CAPITULO II. 5
MARCO TEÓRICO..... 5
2.1. Antecedentes..... 5
2.2. Bases teóricas 11
2.2.1. Drenaje Ácido de Mina (DAM) 11
2.2.2. Mecanismos de formación de aguas ácidas 11
2.2.3. Etapas de la formación del DAM..... 11
2.2.4. Principales reacciones en la formación de agua ácida..... 12
2.2.5. Hierro (Fe) 15
2.2.6. Estrategias de remediación del DAM 16
2.2.7. Tecnologías de tratamiento abiótico del DAM..... 16
2.2.7.1. Oxigenación..... 16
2.2.7.2. Neutralización 17
2.2.7.3. Ozonización 20

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

2.2.8. Tecnología de tratamiento biótico del DAM 21
2.2.8.1. Oxidación microbiana del hierro 21
2.2.8.2. Bacterias Oxidadoras de Hierro (BOFe) 22
2.2.8.3. Biorreactores de oxidación de hierro 23
2.2.9. Sustratos esenciales para el crecimiento de las BOFe 25
2.2.10. Medios de cultivo 26
2.2.11. Recuperación de metales de lodos de DAM 26
2.3. Definición de términos básicos 27

CAPITULO III 30
MARCO METODOLÓGICO 30
3.1. Tipo de investigación 30
3.2. Diseño de la investigación 30
3.2.1. Procedimiento pre-experimental 30
3.2.2. Procedimiento experimental 31
3.2.3. Procedimiento post-experimental 31
3.3. Métodos o técnicas 32
3.3.1. Determinación del pH óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 32
3.3.1.1. Preparación y dosificación de hidróxido de sodio (NaOH) 32
3.3.1.2. Medición de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} en la influencia del pH del DAM 33
3.3.2. Determinación de oxígeno disuelto óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 34
3.3.2.1. Ajuste del caudal del oxígeno 34
3.3.2.2. Dosificación de oxígeno al DAM original, pH 4.5 y 7.0 35
3.3.2.3. Medición de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} en la influencia de la oxigenación del DAM 35
3.3.3. Determinación de ozono óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 36
3.3.3.1. Consideraciones del flujo de ozono 36
3.3.3.2. Dosificación de ozono al DAM original, pH 4.5 y 7.0 36
3.3.3.3. Medición de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} en la influencia de la ozonización del DAM 37
3.3.4. Aislamiento, propagación y evaluación de la capacidad oxidante de las bacterias oxidadoras de hierro a pH 3 y 4 37
3.3.4.1. Preparación de medio de cultivo 9K Modificado 37
3.3.4.2. Muestreo de Bacterias Oxidadoras de Hierro (BOFe) 39
3.3.4.2.1. Pastoruri 40
3.3.4.2.2. Mesapata 41

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

3.3.4.2.3. Campanayoc 43
3.3.4.3. Aislamiento de las BOFe 43
3.3.4.4. Evaluación del crecimiento de las BOFe 44
3.3.4.5. Propagación y conservación de las BOFe 45
3.3.4.6. Evaluación la capacidad oxidante de los consorcios bacterianos del hierro 46
3.3.4.6.1. Crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de sulfato de ferroso ($FeSO_4$) 47
3.3.4.6.2. Comportamiento de las BOFe en sistemas Aquarium-Fe con DAM a diferentes concentraciones de Fe^{+2}. 47
3.4. Población y muestra 49
3.4.1. Población 49
3.4.2. Muestra 49
3.5. Descripción de los instrumentos utilizados para la medición de las variables. 49
3.5.1. Determinación de los parámetros fisicoquímicos 49
3.5.2. Indicadores del crecimiento de las BOFe 50
3.5.3. Determinación del hierro ferroso (Fe^{+2}) 51
3.5.4. Determinación de la eficiencia de remoción de Fe^{+2} 52
3.6. Plan de procesamiento y análisis estadístico de la información 52

CAPITULO IV 53
RESULTADOS 53
4.1. Caracterización del Drenaje Ácido de Mina del PAM de Mesapata 53
4.2. Resultado de las condiciones óptimas de pH para la remoción de Fe^{+2} del DAM 53
4.2.1. Variación de los parámetros fisicoquímicos después de 24 horas de alcalinizar el DAM 53
4.2.1.1. Potencial de hidrógeno (pH) 53
4.2.1.2. Conductividad (EC) y Sólidos Totales Disueltos (TDS) 54
4.2.2. Influencia del pH sobre la precipitación y concentración de Fe^{+2} del DAM 54
4.3. Resultado del tiempo de oxigenación (O_2) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 55
4.3.1. Influencia de la oxigenación en la variación de los parámetros fisicoquímicos 55
4.3.1.1. Potencial de hidrógeno (pH) 55
4.3.1.2. Conductividad (EC) y Sólidos Totales Disueltos (TDS) 56
4.3.2. Influencia del oxígeno sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM original 57

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

4.3.3. Influencia del oxígeno sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 4.0 57
4.3.4. Influencia del oxígeno sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 5.5 58
4.4. Resultado del tiempo de ozonización (O_3) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 59
4.4.1. Influencia de la ozonización en la variación de los parámetros fisicoquímicos del DAM 59
4.4.1.1. Potencial de hidrógeno (pH)..... 59
4.4.1.2. Conductividad (EC) y Sólidos Totales Disueltos (TDS) 60
4.4.2. Influencia del ozono sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH original..... 60
4.4.3. Influencia del ozono sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 4.0 61
4.4.4. Influencia del ozono sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 5.5 62
4.5. Resultados del aislamiento, propagación y evaluación de la capacidad oxidante de las bacterias oxidadoras de hierro a pH 3 y 4 63
4.5.1. Aislamiento y propagación de las BOFe 63
4.5.1.1. Dinámica del crecimiento de las BOFe en frascos con 0.3 L de Medio 9K Mod., semisólido 63
4.5.1.1.1. Muestras provenientes de Pastoruri..... 63
4.5.1.1.2. Muestras provenientes de Mesapata 65
4.5.1.1.3. Muestras provenientes de Campanayoc..... 66
4.5.1.2. Dinámica del crecimiento de los consorcios bacterianos de hierro repicados en Aquarium-Fe con 5 L de Medio 9K Mod., semisólido. 67
4.5.1.3. Dinámica del crecimiento de los consorcios bacterianos de hierro repicados en frascos con 0.2 L de Medio 9K Mod., semisólido. 68
4.5.1.3.1. Muestras repicadas provenientes de Pastoruri 68
4.5.1.3.2. Muestras repicadas provenientes de Mesapata..... 70
4.5.1.3.3. Muestras repicadas provenientes de Campanayoc..... 71
4.5.1.4. Conservación de cepas de Pastoruri, Mesapata, Campanayoc y consorcio..... 71
4.5.2. Evaluación de la capacidad oxidante de los consorcios bacterianos de hierro a pH 3 y pH 4..... 72
4.5.2.1. Dinámica de crecimiento de BOFe en Medio 9K Modificado a diferentes concentraciones de sulfato ferroso ($FeSO_4$) 72
4.5.2.2. Comportamiento de las BOFe en condiciones de aerobiosis y microaerofilia, en función a la concentración de Fe^{+2} (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L), en el sistema Aquarium-Fe. 74
4.5.2.2.1. Aquarium-Fe con DAM (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L de Fe^{+2}) en condiciones de aerobiosis 74

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

4.5.2.2.2. Aquarium-Fe con DAM (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L de Fe^{+2}) en condiciones de microaerofilia 75
4.5.2.3. Dinámica de crecimiento de las BOFe en los Aquarium-Fe con DAM a diferentes concentraciones de Fe^{+2}. 77
4.5.2.4. Dinámica de crecimiento de las BOFe provenientes de los sistemas Aquarium-Fe, en Medio 9K Mod., semisólido. 77

CAPITULO V 79
DISCUSIÓN DE RESULTADOS 79
5.1. pH óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 79
5.2. Tiempo de oxigenación (O_2) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 80
5.3. Tiempo de ozonización (O_3) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM 82
5.4. Aislamiento, propagación y evaluación de la capacidad oxidante de las bacterias oxidadoras de hierro a pH 3 y 4 83
5.4.1. Aislamiento y propagación de las BOFe 83
5.4.2. Evaluación de la capacidad oxidante de los consorcios bacterianos de hierro a pH 3 y pH 4 85
5.5. Determinación de la eficiencia de la sinergia del pH, oxígeno, ozono y las bacterias oxidadoras de hierro en la remoción de Fe^{+2} 88

CAPITULO VI 89
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 89
6.1. Conclusiones 89
6.2. Recomendaciones 91

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 92
ANEXOS
ANEXO 1 Ubicación del área de estudio
ANEXO 2 Accesibilidad al PAM de Mesapata
ANEXO 3 Informes de ensayos
ANEXO 4 Determinación de las condiciones óptimas de pH para la remoción de Fe^{+2} DAM del DAM
ANEXO 5 Determinación de las condiciones óptimas de oxigenación para la remoción de Fe^{+2} DAM del DAM
ANEXO 6 Determinación de las condiciones óptimas de ozonización para la remoción de Fe^{+2} DAM del DAM
ANEXO 7 Preparación de los medios de cultivo 9K Modificado
ANEXO 8 Medio amonio (amonio al 1.7%) preparando a partir de orina hidrolizada con ureasa de sandia
ANEXO 9 Siembra de las BOFe en frascos con 300 mL de Medio 9K Mod., a pH 3 y 4 (Pastoruri, Mesapata y Campanayoc

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 10 Siembra de BOFe en 5L de Medio 9K Mod. a pH 3 y4, en los sistemas Aquarium-Fe

ANEXO 11 Siembra de las BOFe en frascos con 200 mL de Medio 9K Mod., a pH 3 y 4 (Pastoruri, Mesapata y Campanayoc

ANEXO 12 Crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de $FeSO_4$

ANEXO 13 Comportamiento de las BOFe en condiciones de aerobiosis y microaerofilia, en función a la concentración de Fe^{+2} (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L), en el sistema Aquarium-Fe

ANEXO 14 Determinación del crecimiento ce las BOFe obtenidas de los sistemas Aquarium-Fe, Fe^{+2} (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L) en tubos tapa rosca con 0.003L de medio 9K modificado.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

RELACIÓN DE TABLAS

CONTENIDO **Pág.**

Tabla 1. Volúmenes de NaOH empleado para cada tratamiento. 33

Tabla 2. Volúmenes de NaOH empleado para 3 L de DAM para las pruebas de oxigenación……..... 35

Tabla 3. Volúmenes de NaOH empleado para 3 L de DAM para las pruebas de ozonización.. 37

Tabla 4. Composición del medio de cultivo 9K Mod. semisólido para 1 L……..... 38

Tabla 5. Coordenadas, parámetros fisicoquímicos y concentración de Fe^{+2} en cada punto de muestreo de Pastoruri..... 41

Tabla 6. Coordenadas, parámetros fisicoquímicos y concentración de Fe^{+2} en cada punto de muestreo de Mesapata. 42

Tabla 7. Coordenadas, parámetros fisicoquímicos y concentración de Fe^{+2} en cada punto de muestreo en Campanayoc. 43

Tabla 8. Especificaciones técnicas de los instrumentos usados para la determinación de variables de estudio. 50

Tabla 9. Niveles de crecimiento de los consorcios bacterianos de hierro……..... 51

Tabla 10. Intervalo de medida y la graduación de la escala colorimétrica de los Kits de test de hierro 51

Tabla 11. Parámetros iniciales del DAM usados en los tratamientos abióticos (pH, O_2 y O_3) y bióticos (BOFe). 53

Tabla 12. Dinámica de crecimiento delas BOFe de Pastoruri en 33 días…….. 64

Tabla 13. Dinámica de crecimiento de las BOFe de Mesapata en 33 días……. 65

Tabla 14. Dinámica de crecimiento de las BOFe de Campanayoc en 33 días…….. 66

Tabla 15. Dinámica de crecimiento del consorcio de las BOFe en 33 días……. 67

Tabla 16. Dinámica de crecimiento de las BOFe de repique de Pastoruri en 16 días…….. 68

Tabla 17. Dinámica de crecimiento de las BOFe de repique de Mesapata en 16 días…….. 70

Tabla 18. Dinámica de crecimiento de las BOFe de repique de Campanayoc en 16 días…….. 71

Tabla 19. Cantidad de cepas aisladas de BOFe en Medio 9K Mod., sólido……..... 72

Tabla 20. Crecimiento de consorcios de BOFe a diferentes concentraciones de $FeSO_4$ a pH 3 y pH 4..... 73

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

RELACIÓN DE FIGURAS

CONTENIDO **Pág.**

Figura 1. Resumen del diseño de investigación…….. 32

Figura 2. Esquema de la recolección de muestras de BOFe……. 39

Figura 3. Mapa de los puntos de muestreo de las BOFe de Pastoruri……..... 40

Figura 4. Mapa de los puntos de muestreo de las BOFe de Mesapata……..... 42

Figura 5. Mapa de los puntos de muestreo de las BOFe de Campanayoc……. 43

Figura 6. Esquema de aislamiento de las BOFe del DAM y DAR en frascos independientes y en sistemas Aquarium-Fe…….....……44

Figura 7. Evaluación del crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de Fe^{+2} en el sistema Aquarium-Fe con DAM……..…….. 45

Figura 8. Repique de BOFe en frascos y su conservación de cepas de BOFe en Medio 9K Mod……..... 46

Figura 9. Evaluación del crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de $FeSO_4$ en medio semisólido 9K Mod……. 47

Figura 10. Esquema de implementación de los sistemas Aquarium-Fe con BOFe y medio amonio……... 48

Figura 11. Valores del pH inicial y pH después de 24 horas del tratamiento con NaOH (10N,1N, 0.1N)……. 54

Figura 12. Influencia del pH en la formación de precipitado y concentración de hierro ferroso……..... 55

Figura 13. pH (original, 4.0 y 5.5) en función del tiempo de oxigenación……. 56

Figura 14. Influencia del tiempo de oxigenación en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 4.0……. 58

Figura 15. Influencia del tiempo de oxigenación en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 5.5…….. ..... …….59

Figura 16. pH (original, 4.0 y 5.5) en función del tiempo de ozonización…… 60

Figura 17. Influencia del tiempo de ozonización en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 4.0…… 61

Figura 18. Influencia del tiempo de ozonización en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 5.5……..... 62

Figura 19. Crecimiento de las BOFe provenientes de Pastoruri……..... 65

Figura 20. Crecimiento de las BOFe provenientes de Mesapata…….. 66

Figura 21. Crecimiento de las BOFe provenientes de Campanayoc. 67

Figura 22. Crecimiento de consorcio de BOFe en Aquarium-Fe, provenientes de Pastoruri, Mesapata y Campanayoc……. 68

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Figura 23. Crecimiento de las BOFe repicadas de Pastoruri……. 69
Figura 24. Crecimiento de las BOFe repicadas de Mesapata…… 70
Figura 25. Crecimiento de las BOFe repicadas de Campanayoc…. 71
Figura 26. Crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de $FeSO_4$ a pH 3 y 4……..... 73
Figura 27. Sistemas Aquarium-Fe en condiciones de aerobiosis.. 74
Figura 28. Sistemas Aquarium-Fe en condiciones de microaerofilia. 76
Figura 29. Crecimiento de las BOFe en los Aquarium-Fe con DAM a diferentes concentraciones de Fe^{+2} y en condiciones de aerobiosis y microaerofilia……..... 77
Figura 30. Crecimiento de las BOFe provenientes de los Aquarium-Fe, en Medio 9K Mod., semisólido……..…….. 78

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

RELACIÓN DE ACRÓNIMOS

ACRON.	DENOMINACIÓN
Ag	Plata
Al	Aluminio
As	Arsénico
BOFe	Bacterias Oxidadoras de Hierro
CO_2	Dióxido de carbono
Cu	Cobre
DAM	Drenaje Ácido de Mina
DAR	Drenaje Ácido de Roca
EC	Conductividad eléctrica
Fe^{+2}	Hierro ferroso
Fe^{+3}	Hierro férrico
$FeSO_4$	Sulfato de ferroso
HR	Humedad relativa
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
Mn	Manganeso
NaOH	Hidróxido de sodio
O_2	Oxígeno
O_3	Ozono
PAM	Pasivo Ambiental Minero
pH	Potencial de hidrógeno
S	Azufre
T	Temperatura
TDS	Sólidos Disueltos Totales
TIFs	Formaciones de Terrazas de Hierro
Zn	Zinc

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

El Perú posee una larga tradición minera que se remonta desde la época preincaica, y especialmente a mediados del siglo XX se intensificaron las labores de exploración a lo largo del país. En la actualidad el Perú se ubica dentro de los principales productores de minerales (Cu, Zn y Ag) a nivel latinoamericano y mundial, siendo una de las actividades extractivas de mayor impacto en la economía nacional en el orden del 61.9%, de las cuales 60.5% correspondió a minerales metálicos (Chappuis, 2019).

La metalogenia de la región Áncash es muy variada por lo que posibilita la extracción de depósitos metálicos tales como Au, Cu, Pb, Zn y Mo. En la región se ubican importantes proyectos de gran y mediana minería (Villarreal & Rodríguez, 2009), que vienen explotando desde antes del boom de la gran minería en la región. A mediados del siglo XX, algunas familias adineradas en la provincia de Recuay combinaron la administración de la hacienda con la explotación minera. Como en el caso de las Minas Huancapetí, La Caudalosa, San Eliseo, que demandaron servicios en los pueblos vecinos e influyeron en la apertura de las plantas procesadoras de minerales que operaban en los distritos de Cátac y Ticapampa, generando fuentes de trabajo a muchas familias (Valcárcel, 2009). Sin embargo, además de ser fuente de riqueza, trajo consigo conflictos sociales por los vertidos de relaves mineros en los humedales de Yanayacu, San Miguel y Chahuapampa por parte de las plantas concentradoras de minerales ubicadas en Mesapata y en el caserío de San Miguel (Tuya et al., 2012).

Al 2021, se reportaron 7668 Pasivos Ambientales Mineros (PAMs), impactando en la dinámica de los ecosistemas (MINEM, 2021). Solo en Áncash, la totalidad de sus cuencas (Santa, Lacramarca, Casma, Nepeña, Culebras y Huarmey) fueron contaminadas por DAM

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

desde las cabeceras de cuenca. Este hecho se agrava por la deposición de relaves en ecosistemas frágiles como bofedales y riberas de ríos sin tomar en cuenta la legislación ambiental vigente (Palomino, 2021).

Recuay es la provincia de Áncash con mayor acumulación de PAMs (MINEM, 2019) y aquí destaca el caso emblemático del PAM de Mesapata que constituye un relave polimetálico de flotación de minerales sulfurados de Pb, Ag, Zn y Cu (UNASAM, 2004). Estos depósitos de relave generan continuamente Drenajes Ácidos de Mina (DAM) originados por la presencia de minerales sulfurados, como la pirita (FeS_2), que en aerobiosis, agua y presencia de microorganismos desestabilizan su estructura mediante reacciones de oxidación (Johnson, 2003). El DAM presenta altos contenidos de metales pesados como el Fe que está impactando la calidad de las aguas, suelos y pastos naturales consumidos por el ganado de la comunidad campesina de Cátac (Moreno & Vizconde, 2006).

Cañizares-Villanueva (2000), menciona que la persistencia de los metales pesados (Fe, Mn, Al, etc.) en cuerpos de agua induce su toxicidad al biomagnificarse; poniendo en grave riesgo la agricultura, la ganadería y la población donde hay PAMs.

Uno de los metales que se encuentran en abundancia en el DAM del PAM de Mesapata es el hierro disuelto (406 mg/L (LCA, 2016), 870.47mg/L (ANEXO 3)), y el hierro en grandes cantidades trae consecuencias como dificultades de respiración, dolores de cabeza, pérdida de peso, fatiga, mareo, e incluso coloración grisácea en la piel (Elcinto, 2000). Dicho metal contribuye en desarrollo de las plantas, sin embargo su exceso en forma de Fe^{+2} genera toxicidad y muerte (Juárez et al., 2015).

Las estrategias de remediación de los afluentes incluyen estrategias abióticas y bióticas (Klein et al., 2013). Los tratamientos abióticos comprenden comúnmente el uso de neutralizantes químicos (NaOH, CaCO, NH_3) y oxidantes (O_2, O_3), mientras que los tratamientos bióticos incorporan humedales construidos que permiten la absorción de metales disueltos a través de microorganismos (hongos, algas, levaduras, bacterias) y alguna de ellas en sinergia con las especies macrófitas. Otra tecnología biótica se da mediante el uso de microorganismos quimiolitótrofos como las Bacterias Oxidadoras de Hierro (BOFe) que obtienen su energía de la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3}, precipitando como $Fe(OH)_3$ (Aziz et al., 2020, citado en Arp & Stein, 2003).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

En base a ello, presente trabajo de investigación tuvo por objetivo optimizar la remoción de hierro del DAM del PAM de Mesapata, a través de pruebas experimentales controladas (abióticas y bióticas).

Planteamiento del problema de investigación

¿Es posible optimizar la remoción de hierro del Drenaje Ácido de Mina del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata?

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Optimizar la remoción del hierro del Drenaje Ácido de Mina del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar las condiciones óptimas de pH, oxígeno y ozono para la remoción de Fe^{+2}.
- Aislar, propagar y evaluar la capacidad oxidante de las bacterias oxidadoras de hierro, a pH 3 y 4.
- Determinar la eficiencia de la sinergia del pH, oxígeno, ozono y las bacterias oxidadoras de hierro en la remoción de Fe^{+2}.

1.2. Hipótesis

Considerando que el hierro precipita a partir de un pH de 4.5 (Crittenden & Montgomery, 2012), el oxígeno y el ozono son agentes oxidantes para el hierro en medio acuoso (Vidal, 2003; Pretrusevski, 2003, citado en Burbano & Sánchez, 2003), y evidencias de microorganismos como At. ferrooxidans y Ferrovum myxofaciens oxidan el hierro incluso a pHs ácidos (Fan et al., 2019; Hedrich et al., 2011 y Luetters y Hanert, 1989), es posible optimizar la remoción de hierro (Fe^{+2}) encontrando la sinergia de los factores mencionados.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

1.3. Variables

1.3.1. Variable independiente

- Optimización de variables abióticas (pH, O_2 y O_3) y bióticas (BOFe) bajo condiciones de laboratorio.

1.3.2. Variable dependiente

- Remoción del hierro (Fe^{+2}) del DAM del PAM de Mesapata (formación de sedimento y concentración de hierro en la fase acuosa).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

A lo largo de los años han venido desarrollándose técnicas para el tratamiento de los DAM. Estas tecnologías pueden ser divididas en estrategias de remediación abióticas y bióticas, y presentan como finalidad modificar el pH, disminuir la concentración de metales y sulfatos, oxidar o reducir los contaminantes o aprovechar metales acumulados en el sedimento. La estrategia óptima para el tratamiento de DAM está en función a la calidad y cantidad del efluente ácido, las características de los contaminantes y el espacio disponible (Skousen et al., 1998; Lottermoser, 2010, citado en Klein et al., 2013).

Los tratamientos convencionales usan neutralizantes para elevar el pH del DAM, permitiendo la formación de metales insolubles y su posterior precipitación. En este ámbito se han realizado trabajos de investigación tales como:

"Study of pH influence on selective precipitation of heavy metals from Acid Mine Drainage" ejecutado por Balintova y Petrilakova (2011), tuvo por objetivo evaluar la precipitación de metales del DAM de la mina abandonada Smolnik ubicada en Eslovaquia. Para elevar el pH del DAM usaron como neutralizante el hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración de 0.5N. El DAM tuvo una concentración inicial de hierro de 256.8 mg/L y un pH inicial de 3.06, respectivamente. Durante el experimento neutralizaron 500 mL de DAM bajo condiciones continuas de agitación y mediciones de pH. Este procedimiento se repitió a valores de pH gradualmente crecientes: 3.5; 4.0; 4.5; 5.0; 5.5; 6.0; 6.5; 7.0; 7.7; y 8.2. Luego, el sedimento de cada tratamiento fue filtrado y analizado.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Los resultados mostraron que la precipitación del hierro comenzó a pH 3.5 y a partir de pH 5.5 se presentó una rápida formación de sedimento hasta alcanzar un 96.6% de eficiencia de sedimentación a un pH de 8.2.

El trabajo realizado por Wei et al. (2005) "*Recovery of iron and aluminum from Acid Mine Drainage by selective precipitation*" tuvo por objetivos evaluar la solubilidad de metales del DAM en función al pH y desarrollar un proceso de precipitación selectiva para la recuperación de Fe y Al como productos separados. El DAM fue obtenido de la mina de carbón (Upper Freeport seam), ubicado en los Estados Unidos. El DAM tuvo un pH de 2.6 y una concentración de Fe y Al inicial de 162.0 mg/L y 80.8 mg/L, respectivamente. Utilizaron un proceso de dos pasos para las pruebas de recuperación de metales: precipitación de Fe seguida de precipitación de Al. Para la precipitación de hierro neutralizaron 500 mL de DAM con una solución de NaOH 10 N hasta que obtuvieron un pH final entre 3.0 y 4.5, después de recuperado el hierro añadieron 500 mL del DAM filtrado y continuaron neutralizando hasta llegar a un pH alcalino.

Los resultados mostraron que en un rango de pH de 3.5 a 4.0 la concentración de hierro disminuyó hasta 98.6%. Por otra parte casi todo el aluminio fue removido entre un pH 5.0 y 8.0, sin embargo resolubilizó a pH mayor a 10.

La investigación realizada por Montesinos (2017) *"Caracterización de efluentes de mina para la elección de la alternativa óptima de tratamiento"* se desarrolló con el objetivo de encontrar el mejor tratamiento para la remoción de metales mediante pruebas experimentales que abarcó la caracterización de materiales y efluentes de dos unidades mineras, los ensayos de laboratorio a los que fueron sometidos, fueron la neutralización usando cal y remoción de fases sólidas formadas.

De acuerdo a los resultados, el tratamiento óptimo se fundamentó principalmente en el consumo de cal (costos) y eficiencias de remoción de metales de los efluentes. El tratamiento óptimo de la primera mina poseyó dos etapas. La primera etapa consistió en neutralizar el efluente hasta valores de pH 6 y la eliminación de las fases solidas de Fe y Al. La segunda etapa de tratamiento consistió en alcalinizar el efluente filtrado hasta alcanzar un rango de pH entre 8.5 y 9, lo que permitió la separación de los hidróxidos formados por Zn y Mn. Optaron por las dos etapas debido a que los ensayos de neutralización directa hasta pH 8 o 9 consumiría mayor reactivo, ya que al no ser retiradas las fases sólidas de Fe y Al formadas a pH

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

5 a 6, estas se volverían a disolver cuando alcancen un pH superior a 7 y se necesitarían cantidades adicional de cal para que vuelvan a formar la fase sólida.

Por otra parte, el tratamiento óptimo del efluente de la segunda mina tuvo una sola etapa. Se alcalinizó el drenaje ácido hasta un rango de pH entre 9.5 y 10, con la finalidad de lograr la hidrólisis de Zn y Mn.

Otros tratamientos abióticos usan oxidantes como el oxígeno y/u ozono. En este ámbito se han realizado trabajos de investigación tales como:

"*Estudio experimental de la oxidación de hierro en aguas subterráneas de abastecimiento a través de aireación"*, el trabajo se realizó en Chile por Fuentes (2013) y tuvo por objetivo implementar un sistema discontinuo de aireación a escala de laboratorio para realizar ensayos experimentales y analizar dos variables: caudales de aire y tiempos de contacto de agua con el oxígeno. Estas condiciones se manipularon y combinaron con la finalidad de cuantificar los cambios en las concentraciones de hierro presentes en las muestras. El agua subterránea tuvo un pH de 7.3 y concentraciones iniciales de hierro entre 1.83 mg/L y 1.92 mg/L, estos valores superan en seis veces los límites de abastecimiento de agua potable de la localidad.

Los resultados mostraron que la oxidación del hierro es eficiente hasta la segunda hora de aireación y que los caudales aplicados tienen su mayor influencia en la tasa de oxidación, entre la primera y segunda hora. Puesto que utilizando un flujo de 9.2 (L/m) existe una remoción de 66.72%, mientras que empleando un caudal de 3.7 (L/m) la remoción alcanza los 51.14% a las dos horas de aireación, ambas pruebas fueron medidos después de 30 minutos de sedimentación.

Otras investigaciones han usado el ozono como oxidante, tal es el caso del trabajo de investigación de Rodríguez et al. (2021) "*Tratamiento de aguas residuales producidas en el proceso de remojo de curtiembres empleando ozono y hierro como catalizador*", tuvo por objetivo tratar las aguas residuales de una curtiembre por medio del ozono y hierro ferroso ($FeSO_4$) para catalizar la mineralización de la materia orgánica (términos de DQO). El agua residual tratada se obtuvo de una empresa de curtido de pieles ubicada en el municipio de Villapinzon, Colombia. Los factores experimentales fueron el pH inicial de 4, 7 y 10, la dosis de Fe^{+2} en el agua de 0 mg/L, 5mg/L y 10mg/L y eficiencia de remoción de la turbiedad y DQO. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado y se ajustaron el pH con NaOH 0.1N y

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

H_2SO_4 0.1N. Además se mencionan que en el sistema desarrollado se aprecia que el ozono oxida de Fe^{+2} a Fe^{+3} y así genera radicales libres que mineralizan de forma inmediata los contaminantes orgánicos (Huang et al., 2020; de Souza et al., 2010).

Los resultados señalan que la máxima remoción de turbiedad se da a pH alcalino y para el DQO, la mayor remoción fue de 92.13% a pH 10 y 10 mg/L de Fe^{+2}. A valores de pH 4 y 10mg/L de Fe^{+2}, la eficiencia de remoción de DQO solo es del 40.34%, por lo que en medios alcalinos el ozono tiene mayor poder oxidante.

Por otro lado, los tratamientos bióticos llegan a usar microorganismos (como las BOFe) para la oxidación de metales y su posterior precipitación. En relación a ello se han realizado los siguientes estudios:

Como el investigado por Perez (2016) "*Aislamiento y determinación de bacterias bioxidantes del género Acidithiobacillus y Leptospirillum presentes en las aguas residuales de las unidades mineras de Recuay-Áncash*" el cual tuvo por objetivos enriquecer los medios de cultivo para aumentar la población bacteriana bioxidante, aislar las bacterias de *Acidithiobacillus y Leptospirillum,* describir las características de las bacterias aisladas y determinar su actividad bioxidante. De acuerdo a las coordenadas descritas en la investigación, se tomaron 3 muestras del efluente cercano a la Unidad Minera Huancapetí, después las muestras fueron enriquecidas en medios de cultivo 9K y T&K líquidos a un pH 1.5. Después se realizó el aislamiento del cultivo en medio 9K sólido (con agar-agar o agarosa) usando las técnicas de siembra por estría y extensión. Para la identificación microscópica se realizó coloración Gram a las bacterias y se observaron en un microscopio Leica a 1000X, por último para determinar la actividad oxidante de las bacterias se realizó la cuantificación del Fe^{+2} y Fe total en el medio 9K inoculada con BOFe.

Los resultados mostraron que en la etapa de enriquecimiento se encontraron mayor crecimiento bacteriano en el medio 9K que en el T & K. En la etapa de aislamiento en medio 9K con agar-agar observaron el crecimiento bacteriano después de 14 a 25 días, en el 50% de placas sembradas por extensión y 10% por estría. Los resultados de la observación microscópica mostró bacterias con morfología bacilar y se pudieron diferenciar 3 tipos de colonias que coinciden con el género de *Acidithiobacillus,* por último se observó la oxidación progresiva del Fe^{+2} a Fe^{+3} y el cambio de color del medio de cultivo de verde traslúcido a anaranjado amarillento.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

La investigación realizada por Sheng et al. (2017) *"Bioreactors for low-pH iron (II) oxidation remove considerable amounts of iron"* presenta por objetivos desarrollar leyes de velocidad para la oxidación biológica de Fe^{+2} a pH bajo y optimizar las condiciones hidrogeoquímicas para la oxidación de Fe^{+2} en biorreactores de tratamiento activo con presencia de Bacterias Oxidadoras de Hierro.

El trabajo de investigación empezó con la selección de dos lugares en la cuenca de carbón bituminoso de los Apalaches en los Estados Unidos para la obtención de microorganismos oxidantes de Fe^{+2}, teniendo como base el nivel más rápido de oxidación del hierro por estas. Los microorganismos obtenidos fueron enriquecidos en biorreactores quimiostáticos con geoquímica controlada. Después de 74 a 128 días con periodos de enriquecimiento continuo y experimentos de tiempos de retención hidráulica, cuatro biorreactores (dos de cada sitio) fueron operados en modo de flujo continuo a través de una serie de puntos de ajuste de pH (2.1 a 4.2, [Fe] fijo) o concentraciones de hierro (80 a 2400 mg/L, pH fijo) por 52 a 138 días adicionales usando DAM anóxica específico del sitio como afluente.

Los resultados demostraron que las tasas de oxidación de los tratamientos de ambos lugares eran notablemente similares a pesar de que al principio mostraron tasa de oxidaciones muy diferentes. Las tasas de oxidación de hierro fueron más rápidos en flujos más rápidos, bajo pH y altas concentraciones de Fe^{+2}.

Es importante destacar que estos biorreactores también eliminaron eficazmente el Fe total a tasas de 7 a 20 veces mejores que los estanques de sedimentación de tratamiento pasivo a un pH óptimo entre 2.9 y 3.3, alcanzando al menos un 70% de remoción de hierro. Así mismo, los resultados apuntaron como una alternativa óptima a los biorreactores enriquecidos con microbios acidófilos que oxidan Fe^{+2} para el tratamiento del DAM.

La investigación realizada por Heinzel et al. (2009) *"Bacterial diversity in a mine water treatment plant"* tuvo por objetivo estudiar comunidades microbianas oxidantes de Fe^{+2} en una planta piloto de pretratamiento de DAM, en Nochten, Lusacia, Alemania. El resultado demostró que el pretratamiento del drenaje ácido (pH cercano a 3) por oxidación biológica disminuyó significativamente la carga de hierro antes de un tratamiento químico y permitió la precipitación de Fe^{+2} en forma de schwertmannita (mineral que contiene sulfato y hierro), por lo que la concentración de sulfato en el drenaje disminuye en cierta cantidad y puede ser usado en procesos industriales.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Además, el análisis de la genoteca de ARNr 16S demostró que la dominancia de las bacterias oxidantes de hierro en la planta fueron la *Betaproteobacteria* afiliada a "*Ferribacter polymyxa*" y parientes de *Gallionella ferruginea*.

Otra investigación relacionada al tratamiento biótico fue desarrollada por Sandström y Mattsson (2001) "*Bacterial ferrous iron oxidation of acid mine drainage as pre-treatment for subsequent metal recovery"*. El objetivo de la investigación fue buscar un tratamiento a largo plazo del Drenaje Ácido de Mina de la mina de cobre de Falu en Suecia. El tratamiento permitió obtener un afluente a un pH neutro y libre de metales.

La oxidación de hierro se estudió inicialmente en laboratorio usando cultivos por lotes de microorganismos mesófilos (35°C), termófilos moderados (45°C) y termófilos extremos (65°C) mantenidos a un pH de 1.6 y medio de cultivo 9K. Los cultivos de microorganismos mesófilos y termófilos extremos mostraron casi una misma cinética de oxidación, mientras que el cultivo de los microorganismos termófilos moderados no creció bien. De acuerdo a estos resultados se eligió a los microorganismos mesófilos para estudios posteriores a escala piloto, debido a su baja temperatura de operación y bajo costo.

Cerca de la mina se instaló una planta piloto con tres reactores en serie con una capacidad de tratamiento de hasta aproximadamente 500 L/h. Los reactores fueron llenados con cuerpos de plástico para apoyar la formación de biopelículas permanentes y evitar el lavado bacteriano, además se inyectó aire con 1% de CO_2 y se añadió una solución de 22% de nitrógeno total en forma de urea, amonio y nitrato; y 2.5% fósforo como fosfato. La planta piloto operó continuamente durante varios meses y se estudió la influencia del caudal, la concentración de hierro ferroso, el pH y la temperatura. Después de la oxidación de hierro, el hierro ferroso se precipitó en forma de hidróxido, que luego pudo ser reutilizado como pigmento.

La viabilidad del paso biológico para oxidación de hierro ferroso se demostró con éxito a una concentración ferrosa de 3.5 g/ L, temperatura de 35°C, pH de 1.8, tasa de flujo de 330 L/h y se obtuvo una tasa de oxidación de hierro ferroso de 750 mg/L x h. Este resultado obtenido sería usado para calcular los costos de construcción de una planta a gran escala, capaz de tratar 25 m^3 de DAM por hora. Antes de una final decisión, también se evaluaron otras alternativas tecnológicas como la oxidación por ozono y peróxido de hidrógeno.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Drenaje Ácido de Mina (DAM)

Son drenajes ácidos con un pH comprendido entre 2 y 4, y altos contenidos de metales disueltos (Fe, Al, Mn, Zn, Cu, Pb, etc.), alcanzando sus concentraciones en decenas y centenas de miligramos por litro (López Pamo et al., 2002). El DAM se origina cuando los depósitos de relaves contienen minerales sulfurosos y están expuestas a condiciones aeróbicas, cantidades suficientes de agua y microorganismos, ocurriendo una desestabilización en su estructura mediante reacciones de oxidación (Johnson, 2003).

Dependiendo de la naturaleza de los desechos de rocas y depósitos de relaves, el DAM contendrá elevados niveles de metales pesados y sólidos en suspensión (Romero et al., 2012). Esta problemática constituye un costo adicional y es una de las fuentes de contaminación de las aguas superficiales y subterráneas más severas, que puede persistir durante décadas o cientos de años (Aduvire, 2006; Shim et al., 2015), por ello se recomienda el tratamiento del DAM a medida que se va generando (Shim et al., 2015).

2.2.2. Mecanismos de formación de aguas ácidas

De acuerdo a Aduvire (2006) y Ford (2003), la generación del agua ácida se da por la existencia de los siguientes cuatro elementos:

- Mineral sulfuroso (mayormente el sulfuro de hierro).
- Agua (como líquido o humedad).
- Oxidante (oxígeno proveniente del aire o de procedencia química).
- Bacterias como elemento catalizador.

2.2.3. Etapas de la formación del DAM

Generalmente, se observa como un proceso de tres etapas marcadas por el pH del agua.

La primera etapa da comienzo con la oxidación química de los minerales sulfurosos teniendo como principal oxidante al oxígeno. Esta oxidación da como resultado la liberación de iones ferrosos (Fe^{+2}), los cuales a un pH mayor a 7, se oxidan rápidamente a iones férricos (Fe^{+3}) y precipitan como

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

hidróxidos (INAP, 2014). En esta etapa la velocidad de oxidación es baja, debido a que el hierro férrico no contribuye como oxidante por no contar con la cantidad suficiente. La generación de ácido continúa, por lo que el pH del agua va disminuyendo hasta 4.5.

En la segunda etapa las reacciones de oxidación continúan tanto química como biológicamente, se produce sulfato ferroso que al ser oxidado nuevamente se transforma en sulfato férrico, y este último al ponerse en contacto con el agua ácida va formando ácido sulfúrico e hidróxido férrico que produce la coloración amarilla en el agua, este proceso continuará hasta que el pH baje a niveles inferiores a 3.5 (Aduvire, 2006).

En la tercera etapa el agente oxidante de los sulfuros pasa a ser el hierro férrico (Fe^{+3}), cuya capacidad de oxidación es mucho mayor que la del oxígeno, en este sentido las reacciones de oxidación producen el ion ferroso (Fe^{+2}), que bajo la presencia de bacterias se convierten en ion férrico (Fe^{+3}), el cual es el nuevo oxidador. Así mismo, cuando el pH del agua desciende por debajo de 4.5, el ion férrico se ve afectado por reacciones de oxidación-reducción y la acción bacteriana puede lixiviar el sulfuro de hierro directamente del sulfato. Mientras sucede esto, la bacteria oxida el ion ferroso a férrico, el que a su vez oxida a los sulfuros produciéndose así grandes cantidades de ácidos a una velocidad de oxidación considerable más rápida que la desarrollada en la primera etapa (Aduvire, 2006).

Estudios acerca de la dinámica y mecanismos de la oxidación de la pirita incluyen los efectos de factores ambientalmente relevantes como el pH, OD, condiciones redox, coexistencia del clorito (Cl^{-}), metales sensibles a redox como el hierro de valencia cero (Fe) y el aluminio (Al) y metales orgánicos complejos (Aduvire, 2006).

2.2.4. Principales reacciones en la formación de agua ácida

Los sulfuros de hierro son los minerales más comunes con capacidad para generar drenaje ácido. Dentro de ello, la pirita (FeS_2) es considerada la responsable de la formación de la mayor parte de aguas ácidas en el mundo (Chandra & Gerson, 2010; INAP, 2014). El agente oxidante para la oxidación de la pirita puede ser el oxígeno o el hierro férrico (Fe^{+3}), así mismo Álvarez et al. (2010) menciona: “Dependiendo de la ausencia o presencia de

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

microorganismos que catalicen las reacciones de meteorización se habla de oxidación abiótica o biótica, respectivamente" (p. 19).

Banks et al. (1997); Stumm y Morgan (1981); Álvarez et al. (2010) y otros autores, dan a conocer la descripción completa de la química de la oxidación de la pirita:

El inicio de la oxidación directa se da cuando el sulfuro de hierro (pirita) entra en contacto con la atmósfera y el agua (reacción 1). En esta reacción por cada mol de pirita se produce 1 mol de hierro ferroso (Fe^{+2}), 2 moles de ion sulfato (SO_4^{2-}) y 2 de protones (H^+). Es decir, se produce acidez, se liberan sulfatos y Fe, junto con otros elementos accesosrios (As, Cd, Co, Ni, Pb, etc.) que, en mayor o menor proporción, forman parte de la pirita (Banks et al., 1997).

$$FeS_2 + \frac{7}{2}O_2 + H_2O \rightarrow Fe^{+2} + 2SO_4^{-2} + 2H^+ \text{.....(1)}$$

El hierro ferroso (Fe^{+2}), que se libera en la reacción (1), en presencia de oxígeno tiende a pasar a hierro férrico (Fe^{+3}), consumiendo un protón por cada mol de Fe^{+2}. Determinadas bacterias acidófilas quimiolitótrofas (aquellas que se 'alimentan' de un susbtrato inorgánico) como *Thiobacillus ferroxidans* y otras, aumentan la tasa de conversión de hierro (Fe^{+2} a Fe^{+3}) en un factor de cientos a un millón (Blowes et al., 2003), y tienen su desarrollo óptimo a condiciones de pH ácido, catalizando las reacciones de oxidación y obteniendo energía de este proceso.

$$Fe^{2+} + \frac{1}{4}O_2 + H^+ \rightarrow Fe^{3+} + \frac{1}{2}H_2O \text{.....(2)}$$

La tasa de oxidación es de primer orden con respecto a la concentración de hierro ferroso y oxígeno, y de se segundo orden con respecto a la concentración de protones (Stumm & Morgan, 1981). Además, la tasa de oxidación ($K = 3 * 10^{12}$ mol/l/min a 20°C) depende de la temperatura (Stumm & Morgan, 1981).

La ecuación, que describe la tasa de oxidación del hierro ferroso en ambientes acuosos, según lo postulado por Stumm y Morgan (1981) indica que tanto la concentración de oxígeno como el pH son parámetros importantes para dictar qué tan rápido se oxida el hierro.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

$$\frac{-d[Fe^{+2}]}{dt} = \frac{k * [O_2] * [Fe^{+2}]}{[H^+]^2}$$

Una vez producido el hierro férrico (Fe^{+3}), este puede actuar como un aceptor de electrones para una mayor oxidación de la pirita, o puede ocurrir hidrolisis, ambos procesos liberan más protones. Estas dos se explican en las reacciones (3) y (4), respectivamente (Banks et al., 1997; Sandström & Mattsson, 2001).

La oxidación indirecta, reacción (3), muestra que el agente oxidante es el hierro férrico (Fe^{+3}), y tiene la capacidad de oxidar a la pirita entre 10 y 100 veces más rápidamente que el oxígeno (Ritchie, 1994).

$$FeS_2 + 14Fe^{+3} + 8H_2O \rightarrow 15Fe^{+2} + 2SO_4^{-2} + 16H^+ \ldots.(3)$$

La reacción (3) implica la reducción de Fe^{+3} a Fe^{+2}, por tanto para que se pueda producir debe existir una reoxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} por oxígeno reacción (2). Es decir,aunque en la reacción de oxidación indirecta no intervenga el oxígeno, éste es necesario para que se produzaca. La reacción (3), depende de la disponibilidad de Fe^{+3}, aunque la solubilidad del Fe^{+3} es muy baja en soluciones neutras y alcalinas.

La reacción (4) da a conocer que el hierro férrico a pH alto se hidroliza aún más y se precipita en forma de hidróxido férrico, generando acidez, (Sandström & Mattsson, 2001). Cabe señalar, que los sólidos se van formando si el pH está por encima de aproximadamente 3.5 y por debajo se precipitaran pocos o ningún solido (Ford, 2003).

$$Fe^{+3} + 3H_2O \rightarrow Fe(OH)_3 + 3H^+ \ldots\ldots\ldots(4)$$

A valores de pH menores a 4 la oxidación de la pirita mediante Fe^{+3} es mucho más rápida que por el O_2 pero la reacción (2) que controla la disponibilidad de Fe^{+3}, es extremedamente lenta, por esta razón, la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} es el proceso limitante en la oxidación abiótica de la pirita y hace que, sin la intervención de microorganismos, estas reacciones sean muy lenta (Singer & Stumm, 1970).

Al aumentar las concentraciones de Fe^{+3} se produce un incremento de la oxidación indirecta de la pirita, reacción (3), que genera más Fe^{+2} y de

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

nuevo se oxida a Fe^{+3}, de forma que estas reacciones se retroalimentan en un ciclo sin fin (Olías Álvarez et al., 2010).

2.2.5. Hierro (Fe)

Es uno de los elementos más abundantes que se puede encontrar en la corteza terrestre, está presente en corrientes naturales de agua en concentraciones que varían de 0.5 a 50 mg/L (Jiménez, 2001) además el hierro se encuentra en dos estados de oxidación en la naturaleza, en ion ferroso (Fe^{+2}), o en la forma más oxidada, ión férrico (Fe^{+3}), suspendida o disuelta (Ehrlich, 2002). Bajo condiciones oxidantes y alcalinas se favorece la oxidación del Fe^{+2} a Fe^{+3}, ocasionando la precipitación del hierro, ya que los compuestos férricos son insolubles en el agua. También, Bacterias Oxidadoras de Hierro (BOFe) como el *Thiobacillus ferrooxidans*, oxidan el Fe^{+2} a Fe^{+3} en medio ácido, donde es imposible la oxidación química (Marín, 2019).

El Fe es requerido en cantidades relativamente pequeñas por prácticamente todas las formas de vida conocidas, puesto que el metabolismo del Fe juega un papel central en la energía de los procariotas, ya sea el Fe^{+2} como donante de electrones (como fuente de energía única o contributiva) o el Fe^{+3} como un receptor de electrones (algunos anaerobios facultativos y abligatorios). Algunas bacterias acidófilas (generalmente definidas como aquellas con un pH óptimo de crecimiento < 3) pueden usar el hierro ferroso, dependiendo de la disponibilidad de oxígeno (Johnson, 2007).

En caso de los seres humanos requieren concentraciones de 60 a 170 microgramos por decilitro (mcg/dL) en sangre. La deficiencia de hierro es el tipo más común de anemia y puede estar relacionado con patologías graves, pero cuando las concentraciones alcanzan niveles entre 300 y 600 miligramos por cada kilogramo de peso corporal, estamos hablando de una intoxicación aguda, y por ende puede causar respiración agitada, fallas respiratorias, convulsiones, problemas cardiacos y hasta llevar a coma (Marín, 1996, citado en Restrepo et al., 2007).

Además, Pinedo y Tananta, (2019) evaluaron la influencia del consumo de agua con hierro férrico (2.2 mg/L) en el Asentamiento Humano Nuevo Jerusalén-Ucayali, los resultados demostraron que el 86.1% de la población

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

presentó algún síntoma del consumo del agua, siendo la afección intestinal la más frecuente (32.3%).

2.2.6. Estrategias de remediación del DAM

Debido a que el principal contaminante del DAM son los metales biodisponibles (como el hierro y sulfatos), se han desarrollado en años recientes varias técnicas de remoción de estos contaminantes. Estas tecnologías pueden ser divididas en estrategias abióticas y bióticas de remediación (Klein et al., 2013) y tanto sistemas abióticos como bióticos incluyen aquellos que se clasifican como activos (necesitan entradas continuas de recursos para mantener el proceso) o pasivos (requieren entrada de recursos relativamente pequeña en el momento de su funcionamiento) (Johnson & Hallberg, 2005).

2.2.7. Tecnologías de tratamiento abiótico del DAM

Las tecnologías de tratamiento convencional usan tratamientos químicos que incrementan el pH del DAM, causando la formación de metales insolubles y su subsiguiente precipitación (Skousen et al., 1998), también se usa la oxidación forzada por medio de la oxigenación u ozonización del DAM (Sandström & Mattsson, 2001). El tratamiento dependerá de las características del drenaje a tratar y de la calidad final requerida.

2.2.7.1. Oxigenación

La oxigenación es el proceso de añadir oxígeno en el agua (Skousen et al., 1998). Comunmente la inyección de oxígeno al DAM es mediante la aireación mecánica. La turbulencia creada por el aireador dispersa burbujas de aire y mantiene el sistema uniforme (Skousen et al., 1998) y dado que el contaminante principal es el hierro ferroso (Skousen et al., 1998, citado en Burbano & Sánchez, 2003), la aireación provee el oxígeno disuelto necesario para convertir el hierro de la forma ferrosa, a su forma insoluble, además este tratamiento es frecuentemente utilizado cuando existen concentraciones mayores a 5 mg/L de hierro (Bracho et al., 2012).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Así mismo, Olías Álvarez et al. (2010) y Skousen et al. (1998) mencionan que solo alrededor de 10 mg/L de oxígeno pueden disolverse en el agua (depende de la temperatura), por lo que si hay más de unos 50 mg/L de hierro ferroso, el agua debe ser oxigenada para favorecer su oxidación. Incluso con concentraciones de Fe más bajas, la aireación aumenta la cantidad de Oxígeno Disuelto (OD) y promueve la oxidación de hierro.

Hustwit et al. (1992) menciona que el agotamiento de OD en el DAM puede ser critico para la oxidación del Fe. Si por ejemplo el DAM posee 63 mg/L de Fe^{+2}, la oxidación completa demandará 9 mg/L de OD. Pero a concentraciones más altas de Fe^{+2} se requiere que se reponga el OD por medios mecánicos para que continúe la oxidación. Por lo tanto, la transferencia de oxígeno puede convertirse en un limitante si la velocidad de reposición de oxígeno no satisface la demanda de oxígeno para la oxidación de Fe^{+2}. Además, menciona que es posible remover hierro como hidróxido de hierro ($Fe(OH)_2$) sin oxigenación,pero se requerirá de pH muy alcalino.

La eficacia de la inyección de oxígeno para oxidar Fe^{+2} depende del pH porque la oxidación inorgánica es lenta por debajo de aproximadamente 5, sin embargo la oxidación es usualmente combinada con un tratamiento quimico que permite neutralizar el pH y en algunos casos solo la aireación es suficiente cuando el drenaje está cercano al pH alcalino (Skousen et al., 1998).

La aireación después de la adición química es beneficiosa porque la conversión de hierro ferroso a hierro férrico es dependiente del pH y es mucho más rápida a un pH de 8. La aereación antes y después del tratamiento usualmente reduce la cantidad de reactivos neutralizantes necesarios para precipitar el hierro del DAM (Skousen et al., 1998).

2.2.7.2. Neutralización

De acuerdo a Olías Álvarez et al. (2010) y Skousen et al. (1998), consiste en la adición de una sustancia alcalina para la

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

neutralización de la acidez del agua y elevar el pH a niveles que permitan la formación de hidróxidos metálicos insolubles y su próxima precipitación. El pH requerido para precipitar la mayoría de los metales en el agua está entre el rango de 6 a 9, sin embargo el hidróxido férrico precipita alrededor de un pH 3.5 (Skousen et al. 1998).

Existen sustancias químicas primarias que han sido utilizadas para el tratamiento de DAM, cada sustancia química posee características diferentes que puden ser aprovechadas para un tratamiento específico, la mejor opción entre las difrentes alternativas depende de los factores fisicoquímicos y económicos (Skousen et al. 1998).

Algunos de los compuestos que usualmente se utilizan para la neutralización del drenaje ácido, son los siguientes (Ismail et al., 2012 y Olías Álvarez et al., 2010):

- Cal (CaO), es comúnmente usada para el tratamiento de DAM (Othman et al., 2017) como un polvo finamente molido, tiende a ser hidrófilo y se requiere una mezcla mecánica extensa para su disolución. La cal hidratada o comúnmente llamada lechada de cal, es particularmente útil y rentable en situaciones de gran flujo y alta acidez, generalmente se usa con un mezclador aireador para ayudar a dispersar y mezclar el químico en el agua (Skousen y Ziemkiewicz, 1996). La cal hidratada tienen una eficacia limitada si se requiere a un pH muy alto (>10) para eliminar iones como el Mn, además a grandes cantidades tiende a aumentar solo el volumen de sedimento sin reaccionar con el DAM. (Skousen et al., 2019).

- Carbonato cálcico ($CaCO_3$), ha sido usado por décadas para elevar el pH y precipitar metales en el DAM (Skousen et al., 1998). Usado generalmente en forma de piedra caliza, que tiene un menor precio que la cal y un escaso o nulo riesgo de manipulación. Su utilización está recomendada cuando los contaminantes a eliminar en el drenaje son fundamentalmente

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Fe y Al, y cuando la acidez no es muy alta. Cuando se vierte directamente sobre el drenaje a tratar, ha de ser de un tamaño de grano lo suficientemente pequeño para que se disuelva antes de que las partículas puedan quedar encapsuladas por precipitados en su superficie (Olías Álvarez et al., 2010).

- Hidróxido de sodio (NaOH), es usualmente usado en locaciones remotas, en flujos lentos, drenajes con alta acidez y con concentraciones elevadas de Fe y Mn. El sistema puede alimentarse mediante goteo del NaOH directamente en el DAM, esta solución se solubiliza y se dispersa rápidamente elevando el pH de forma inmediata (Skousen et al., 1998 y Skousen & Ziemkiewicz, 2005). Además, el NaOH cambia el pH más no acompleja al hierro a temperatura ambiente (25°C), por lo que Wei et al. (2005) recomiendan el uso del NaOH para la recuperación de metales debido a que garantiza la pureza de los metales a recuperar en comparación con la cal hidratada que generalmente genera complejos.

- Amoniaco (NH_3), es un gas a temperatura ambiente, comprimido y almacenado como líquido, se disuelve rápidamente cuando entra en contacto con el agua. Al ser una base fuerte sube rápidamente el pH hasta 9.2, su inyección debe ser en flujo dinámico antes de ingresar a sedimentador para que exista una buena combinación debido a que el amoniaco es menos denso (Skousen et al., 1998). El amoniaco debe ser usado con mucho cuidado (Hilton 1990), además los operadores deben realizar análisis adicionales rutinariamente de la temperatura, la acidez y total de amonio en el DAM.

- Carbonato de sodio (Na_2CO_3), es generalmente usado para tratar DAM en zonas remotas con flujo lento, baja acidez y baja concentración de metales (Skousen et al., 2000), su costo no es muy elevado por lo que su uso se basa más en la conveniencia del tratamiento. El carbonato de sodio viene en forma de briquetas sólidas y se alimenta por gravedad a través de contenedores de almacenamiento, la cantidad a usar

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

depende de la tasa de flujo y la características del DAM (Skousen et al., 2019).

Los factores más importantes que se deben tener en cuenta para estas técnicas son la dosis química apropiada, el efecto energético de la mezcla y el tiempo de la mezcla (Caviedes Rubio et al., 2015).

Cada DAM debe ser probado con diferentes químicos antes de su aplicación, la prueba para evaluar el reactivo químico más eficaz para la precipitación de los metales es mediante la titulación, además se deben ver los costos de cada sistema de tratamiento de DAM basados en la neutralización (en términos de costo de reactivo, la inversión del capital y mantenimiento del sistema de dispersión) y la eliminación del sedimento, deben evaluarse para determinar el sistema más eficiente y rentable (Skousen et al., 2019).

2.2.7.3. Ozonización

Debido a su elevado potencial redox el ozono es un oxidante químico muy potente, propiedad que puede ser utilizada para la degradación de compuestos contaminantes orgánicos e inorgánicos, actualmente el uso del ozono ha abarcado el tratamiento de diferentes tipos de aguas (residuales, industriales) (Rodríguez Vidal, 2003). Ricaurte (2006), menciona que el ozono es recomendable en el pre-tratamiento de aguas para la remoción de metales disueltos, lo que permitiría un ahorro en coagulantes y tiempos de retención. En 1960 se empezó a realizar la aplicación del ozono para la oxidación de Fe^{+2}, para la eliminación del color del agua y por sus efectos coagulantes, puesto que la ozonización es más rápida y más eficaz que otros métodos (aireación, Cl_2, $KMnO_4$) (Rodríguez Vidal, 2003).

Así mismo Rodríguez Vidal, (2003), menciona que el ozono es un oxidante muy efectivo no solo para el Fe^{+2}, sino para otras especies inorgánicas reducidas, como, Mn^{+2}, S^{-2}, NH_3, etc. La aplicación más extendida es la oxidación de Fe^{+2} y Mn^{+2}, especies

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

que pueden dar color al agua y provocar el crecimiento de bacterias dependientes de dichos elementos. El ozono transforma dichas especies reducidas en sus formas oxidadas insolubles: Fe^{+3} y Mn^{+4}; en estos casos, la ozonización es más rápida y más eficaz que otros métodos (aireación, cloración).

$$2Fe^{2+} + O_3 + 5H_2O \rightarrow 2Fe(OH)_3 \downarrow + O_2 + 4H^+$$

$$Mn^{2+} + O_3 + H_2O \rightarrow MnO_2 \downarrow + O_2 + 2H^+$$

Los principales factores que afectan a la transferencia del ozono al DAM son: el tamaño de las burbujas del gas, la agitación del medio acuoso y el tiempo de contacto del ozono. Es importante mencionar que el ozono es muy poco soluble en el agua y muy volátil (Ricaurte, 2006). Para el caso de desinfección se debe mantener 1 minuto por cada litro (flujo 2.15 mg/L) (Ficha técnica ozonizador GO-500 JMD).

2.2.8. Tecnología de tratamiento biótico del DAM

En contraste con las estrategias de remediación abiotica, la biorremediación ha sido objeto de investigación y de desarrollo más reciente presentando resultados muy prometedores (Klein et al., 2013). Los principales contaminantes en el DAM son el hierro y el azufre, y tienden a presentarse en sus estados móviles, forma reducida (hierro ferroso, Fe^{+2}) y oxidada (sulfato, SO_4^{2-}) (Stumm & Morgan, 1981), por lo que al transferirlos a sus estados oxidado (hierro férrico, Fe^{+3}) y reducido (sulfuro), disminuirá su solubilidad en el DAM, lo que a su vez conduce a la precipitación y eliminación de estos contaminantes, de ello se deduce que la aplicación de la biorremediación mediante actividades metabólicas oxidativas y reductoras de los microorganismos que obtienen energía usando hierro y sulfato es una estrategia prometedora (Klein et al., 2013).

2.2.8.1. Oxidación microbiana del hierro

La oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} es dependiente de la concentración de protones (pH) y oxígeno disuelto (OD) (Klein et al., 2013). El Fe^{+2} es químicamente estable en medios muy ácidos,

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

y la oxidación abiótica del hierro es rápida en aguas saturadas de oxígeno con pH cerca al neutro (Singer & Stumm, 1970), por lo tanto, el hierro se encuentra predominantemente en forma férrica como hidróxidos de hierro poco solubles, lo que dificulta su acceso a los sistemas biológicos. Por el contarrio, en condiciones ácidas, el Fe^{+2} es estrable incluso en presencia de oxígeno atmosférico. Esto proporciona una oportunidad para que los microorganismos utilicen Fe^{+2} como donante de electrones y como fuente de energía que no está fácilmente disponible para los microorganismos que viven en entorno circunneutrales (Klein et al., 2013).

La oxidación del Fe^{+2} por bacterias acidófilas oxidantes del hierro es el principal proceso oxidativo en el DAM (Hallberg, 2010; Johnson & Hallberg, 2005).

2.2.8.2. Bacterias Oxidadoras de Hierro (BOFe)

Las BOFe se encuentra entre las primeras procariotas en ser observadas y registradas por microbiólogos pioneros, como Ehrenberg y Winogradsky, en el siglo XIX (Hedrich et al., 2011).

Las BOFe son bacterias quimiolitótrofas (obtienen energía de la oxidación de materiales inorgánicos y fijan el dióxido de carbono) (Walton & Johnson, 1992) no dañinas que producen su energía oxidando el Fe^{+2} a Fe^{+3} (Larson et al., 2014; Aziz et al. 2020, citado en Arp & Stein, 2003), haciendo que este último se precipite y acumule (Hedrich et al., 2011). El hierro oxidado da a las bacterias su color amarillento característico. Estas bacterias crecen en esteras o grupos grandes y permanecen en un lugar determinado hasta que cambien las condiciones óptimas para su crecimiento (Aziz et al., 2020).

La oxidación del hierro ferroso por microorganismos acidófilos oxidantes de hierro (por ejemplo, *Acidithiobacillus ferroxidans*) ocurre típicamente a pH ≤ 3.5, en la interfaz anóxica-oxica (microaerofílica), en agua con contenido de oxígeno disuelto de menos de 10% (Liang et al., 1993). Las condiciones para bacterias oxidantes de hierro neutrofilas como *Gallionella ferruginea* y

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Leptothrix spp se dan en medios anoxicos y a un pH neutro (Kirby et al., 1999; Hedrich et al., 2011)**;** sin embargo, existe una diversidad considerable de bacterias oxidadoras de hierro, cada uno con diferentes afinidades por el hierro ferroso, temperatura y pH óptimo, etc.(Sandström & Mattsson, 2001). Se podría anticipar que diferentes especies oxidantes de hierro serían más apropiadas para algunas situaciones que otras (Johnson & Hallberg, 2005).

Bonnefoy y Holmes, (2011) y Ilbert y Bonnefoy, (2013), mencionan que la vía de oxidación microbiana de hierro aún no se ha identificado para todos los oxidantes de hierro, pero difiere entre los microorganismos oxidantes de hierro acidófilos y neutrófilos. La investigación en esta área se ha concentrado en las ventajas percibidas de diferentes medios de soporte para las bacterias y se ha centrado exclusivamente en una única especie oxidante de hierro acidófila, el *At. ferrooxidans* (Hallberg y Johnson, 2001).

Sin embargo se tiene cierto conocimiento de la bacteria autótrofa de tallo lateral, *Gallionella ferruginea*, que oxida Fe^{+2} a Fe^{+3} (Luetters & Hanert, 1989) y de las bacterias de género *Leptospitillum* que se encuentran oxidando el hierro ferroso en compuestos férricos como la pirita. (Hallberg, 2003, citado en Arias et al., 2012, p. 60), estas bacterias (*Leptospitillum*) son consideradas como aerobias estrictas y el rango de pH en el que se desarrollan es de 1.5 a 4.

2.2.8.3. Biorreactores de oxidación de hierro

El hierro ferroso es quimicamente estable a pH ≤ 3.5; por lo tanto, el hierro que se encuentra en las aguas ácidas de mina puede eliminarse bioticamente (Singer & Stumm, 1970). Por lo tanto, los biorreactores de oxidación de hierro fueron desarrollados con un enfoque de tratamiento de DAM (Simate & Ndlovu, 2014). Debido al bajo rendimiento energético por oxidación del hierro ferroso y al bajo rendimiento celular asociado, se ha considerado la inmovilización de células bacterianas en una matriz sólida (Kelly, 1978).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Los estudios revelaron que la tasa de oxidación y la eficiencia de remoción son dependientes del material de la matriz, la concentración de hierro y los microorganismos usados. La mayoría de estudios cultivaron *At. ferrooxidans* en biorreactores de lecho compacto, usando varios materiales como matriz de soporte y el hierro se llegó a oxidar con eficiencias de eliminación de hasta el 95% (Klein et al., 2013).

Además, Rowe y Johnson (2008), mencionan que los microorganismos tienen diferentes capacidades de oxidación en determinadas condiciones de proceso**,** además en uno de los estudios se ha llegado a descubrir una nueva cepa bacteriana aislada del *Ferrovum*, el cual tuvo una de las tasa de oxidación más altas en biorreactores de lecho compacto comparado con el *At. ferrooxidans* bajo condiciones similares. Por lo tanto, nuevas bacterias oxidantes del hierro podrían tener una mayor potencial para la remediación de DAM que el conocido *At. ferrooxidans*, de acuerdo a ello se concluyó que los cultivos mixtos que contienen varios microorganismos oxidantes del hierro parecen ser más eficientes que los cultivos puros para el tratamiento del DAM.

En última instancia, un biorreactor "híbrido", que contenga una mezcla de acidófilos oxidantes de hierro haciendo uso de las características beneficiosas de cada uno, podría ser el sistema de lecho compacto más eficaz para remediar aguas de minas de diferentes composiciones químicas (Rowe & Johnson, 2008; Hou et al., 2020).

Por otro lado Janneck et al., 2010 mencionan que uno de los mayores problemas de los biorreactores de oxidación de hierro es el bloqueo del sistema como consecuencia de la formación de minerales férricos como la schwertmannita. Una posibilidad para evitar el bloqueo es la instalación de un limpiador para eliminarla de la parte inferior de la planta.

A diferencia del lodo de hierro formado durante el tratamiento abiótico, la schwertmannita puede deshidratarse con relativa

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

facilidad y utilizarse para aplicaciones industriales como pigmento para tintes o cerámicas (Barham, 1997; Sandström & Mattsson, 2001), así mismo debido a su potencial para adsorber metales, metaloides, fosfato y floruro, la schwertmannita se puede aplicar en el tratamiento de agua de mina como adsorbente también (Regenspurg & Peiffer, 2005). Se ha demostrado que elimina el arseniato, cadmio, cromato, cobre, plomo y zinc de agua de la mina por coprecipitación o adsorción (Regenspurg & Peiffer, 2005).

2.2.9. Sustratos esenciales para el crecimiento de las BOFe

El crecimiento de bacterias acidófilas oxidantes de hierro ferroso puede verse limitado por la disponibilidad de nutrientes esenciales en las aguas afectadas por las minas.

El fosfato se encuentra solo en trazas en las aguas ácidas de mina (Banks et al., 1997; Walton & Johnson, 1992), porque el fosfato se precipita como fosfato de hierro o se adsorbe a los minerales férricos presentes (Stumm & Morgan, 1981). La baja biodisponibilidad resultante del fosfato se manifiesta como una reducción de la tasa de crecimiento, de la tasa de oxidación del hierro y de la tasa de fijación de CO_2 como se describe para *At. ferrooxidans* (Seeger & Jerez, 1993).

El CO_2 es el segundo nutriente esencial, puesto que la mayoría de los microorganismos que viven en el DAM son autotrofos y debido a la escasa solubilidad del CO_2 en condiciones ácidas, las bacterias acidofilas oxidantes del hierro pueden estar limitadas por el CO_2 en condiciones atmosféricas (Stumm & Morgan, 1981). La tasa de crecimiento y oxidación del *At. ferrooxidans* mejora mediante la aireación con aire enriquecido con CO_2 (Barron & Lueking, 1990; Sandström & Mattsson, 2001).

El tecer nutriente importante es el nitrogeno, además se ha informado que el crecimeinto de bacterias oxidantes de hierro se inhibe por concentraciones elevadas de nitrato (Blight & Ralph, 2008, Gyllenberg, 1971), puesto que la fuente de nitrogeno más importante es el amonio, la falta de amonio puede resultar en una reducción de la actividad bacteriana (Tuovinen et al., 1979).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Por último la concentración variable del sulfato de hierro ($FeSO_4$), impacta en el crecimiento e inhibición de las Bacterias Oxidadoras de Hierro (Blight & Ralph, 2008).

Los efectos limitantes de los nutrientes descritos, deben considerarse para desempeño de las técnicas de tratamiento biótico. En algunos casos, una mayor disponibilidad de los nutrientes puede incrementar la eficiencia de los biorreactores (Klein et al., 2013; Sandström & Mattsson, 2001).

2.2.10. Medios de cultivo

De acuerdo a Arias et al. (2012) mencionan:

"Se han desarrollado una gran variedad y tipos de medios de cultivo específicos dependiendo de las necesidades de cada bacteria para proveer el ambiente bioquímico adecuado. Los medios de cultivo son empleados para el aislamiento de cultivos puros e identificación de bacterias, de acuerdo a sus propiedades bioquímicas y fisiológicas" (p. 60).

Para el crecimiento de las BOFe los medios de cultivo más usados son el 9K y T&K (Jhonson, 2006; citado en Arias et al. 2012). De la misma manera muchos autores han concordado que para *Ferrobacillus ferroxidans,* un tipo de BOFe, la obtención de minerales a partir de soluciones y minerales pueden efectuarse usando el medio nutriente 9K líquido y sólido (Silverman & Lundgren, 1959).

De acuerdo a Arias V y col., 2012, citado en Arias et al. 2012, menciona: "Los medios líquidos son utilizados para el aislamiento y crecimiento de consorcios bacterianos, mientras que los medios sólidos son preferentemente utilizados para el aislamiento de las cepas puras".

2.2.11. Recuperación de metales de lodos de DAM

El tratamiento químico del DAM produce precipitados de hidróxidos de metales. Así mismo el tratamiento pasivo de los DAM permite la acumulación de lodos de hidróxidos metálicos en áreas discretas. Este lodo contiene grandes y variadas cantidades de metales. Dado que la mayor parte del drenaje de la mina contiene algún nivel de Fe, es posible la recuperación y utilización de hidróxidos, oxihidróxidos u óxidos de Fe para pigmentos,

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

revestimientos y catalizadores. Otros metales si son suficientes en cantidad pueden ser recuperados para usos industriales y comerciales (Skousen et al., 1998).

También puede recircularse la schwertmannita formada en la planta para mejorar la eficiencia de oxidación (Tischler et al., 2013).

2.3. Definición de términos básicos

a) Bioacumulación: es un aumento de la concentración de un producto químico (metales) en un ser vivo en un cierto plazo, de forma que llega a ser superior a la del producto químico en el ambiente (Navarro-Aviñó et al., 2007).

b) Biorremediación: es el empleo de microorganismos para la recuperación de escenarios perturbados o para el tratamiento de materiales (RAE, 2020).

c) Dosis: es aquella porción o cantidad de algo, puede ser tanto inmaterial como material. Ej. Dosis de carbonato de calcio (RAE: Real Academia Española, 2020)**.**

d) Metales pesados: son aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinos térreos) (Navarro-Aviñó et al., 2007).

e) Metales disueltos: son aquellos componentes (metálicos) de una muestra sin acidular que pasan a través de un filtro de membrana de 0.45 um (APHA, 1992).

f) Metales totales: es la concentración de metales determinada en una muestra sin filtrar tras digestión intensa, o la suma de concentraciones de metales en las fracciones disuelta y suspendida (APHA, 1992).

g) Microaerofilia: Son aquellos microorganimos que para sobrevivir requieren niveles de oxígeno muy inferiores a los que se encuentran normalmente en la atmósfera de la tierra (Liang et al., 1993).

h) Neutralización: es una reacción química que se presenta al mezclar un ácido con una base en solución acuosa. Los iones hidrónio del ácido y los iones oxidrilo de la base, se combinan para formar agua y una sal. Este proceso es utilizado como etapa de pretratamiento para la sedimentación (Aduvire, 2006).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

i) **Lechada de cal:** es la combinación de agua y óxido de calcio y es usualmente usado para la neutralización y precipitación de hidróxidos de hierro y manganeso (Aduvire, 2006).

j) **Oxidación biológica:** es un proceso de transferencia de electrones de unas moléculas a otras en las células vivas, para la elaboración de energía, muchas oxidaciones biológicas pueden darse participación de oxígeno molecular (Bender et al., 2013).

k) **Oxígeno disuelto:** es la cantidad de oxígeno que está disuelto en un líquido, puede expresarse en miligramos por litro (mg/L) o en porcentaje de saturación (%) (Skousen et al., 1998).

l) **pH**: es un cologaritmo (-(1) log) de la concentración de los iones hidronio (H^+) en una solución. Sirve para describir si una solución es ácida o alcalina en una escala de 1 a 14. Las soluciones que tienen valores de pH entre 1 y 7 son ácidas y las de 7 a 14 son alcalinas o básicas. Solo un agua neutra tiene valor de 7 a 24°C (Jiménez, 2001).

m) **Pirita (FeS_2):** es el sulfuro más común en la naturaleza, encontrándose en formaciones hidrotermales, rocas ígneas y depósitos sedimentarios, junto a ella se encuentran otros sulfuros metálicos como la marcasita (FeS_2), arsenopirita (FeAsS), galena (PbS), etc. (Olías Álvarez et al., 2010).

n) **Precipitación:** procede de un cambio sobrevenido a la naturaleza del disolvente trayendo como consecuencia una separación del cuerpo de su disolución (Fresenius, 1846).

o) **Sedimentación:** es la deposición o precipitación de materiales transportados por distintos agentes, los metales suelen precipitar como una pasta poco compacta de pequeños granos llamada “floc” que progresivamente se va compactando como un lodo de color anaranjado o rojo (Olías Álvarez et al., 2010).

p) **Sinergia:** es la acción de dos o más componentes cuyo efecto es superior al efecto individual de cada componente (RAE, 2022).

q) **Schwertmannita:** es un mineral que fue originalmente descubierto en drenajes ácidos y luego fue sintetizado en laboratorios, puesto que tiene un considerable

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

potencial como adsorbente, por lo que puede ser usado como un remediador ambiental (Zhang et al., 2018).

r) **Formaciones de Terrazas de Hierro (TIFs, por sus siglas en inglés):** del término inglés Terraced Iron Formations, son estructuras laminadas que cubren áreas en la superficie de ambientes con drenaje ácidos y depósitos de relaves, y brinda información relevante sobre los microorganismos acidófilos y sus entorno (Shuster et al., 2018; Sánchez et al., 2007).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

- Experimental, por la manipulación de variables (pH, O_2, O_3) y consorcios de BOFe) a nivel de laboratorio para la remoción de Fe^{+2} y
- Cuantitativa, por la evaluación de causa-efecto mediante registro de concentraciones de Fe^{+2}.

3.2. Diseño de la investigación

3.2.1. Procedimiento pre-experimental

Consistió en dos etapas, la etapa de laboratorio y de campo. La etapa de laboratorio permitió el acondicionamiento del lugar de trabajo mediante la adquisición de estantes metálicos, organizadores (39 L), oxigenador OLIVE OLV-10 (0-10 L/min), ozonizador GO-500 JMD (2.15 L/min), Multiparámetro WTW Multi 3630 IDS y balanza analítica (0.1-500 g). La etapa de campo tuvo como primer objetivo muestrear comunidades bacterianas oxidadoras de hierro de Pastoruri, Mesapata y Campanayoc, para ello se utilizaron materiales como: probetas (100 y 200 mL), pipetas y pipeteadores (2.5 mL y 10 mL), jarras (50, 250 y 1000 mL), cintas de pH (0 a 6.5), frascos estériles de plástico (50 mL), espátulas de plástico, cooler (icepack a 4°C), kits de medición de Fe^{+2} (Mcolortest Iron test – Merk -0.0 a 2.5 mg/L) y pH-metro HANNA HI98129 (pH/EC/TDS/°C). El segundo objetivo consistió en recolectar el DAM del PAM de Mesapata, para ello se utilizaron bidones (350 L) y baldes (20 y 4L).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

3.2.2. Procedimiento experimental

En esta etapa se pretendió demostrar la remoción de Fe^{+2} mediante tratamientos abióticos y bióticos, en condiciones de laboratorio.

Para dicho propósito se realizó las pruebas de pH (frascos herméticos estériles de polietileno de 40 mL), oxígeno y ozono (contenedores de polietileno 4 litros), y BOFe (sistema Aquarium-Fe), cumpliendo con las pruebas por triplicado para la:

1. Determinación del pH óptimo para la remoción de hierro ferroso mediante la neutralización por hidróxido de calcio a diferentes dosificaciones.

2. Determinación del tiempo de oxigenación óptimo para la remoción de hierro ferroso en el DAM.

3. Determinación del tiempo de ozonización óptimo para la remoción de hierro ferroso en el DAM.

4. Aislamiento, propagación y evaluación de la capacidad oxidante de las bacterias del hierro para oxidar hierro ferroso del DAM.

3.2.3. Procedimiento post-experimental

En esta etapa se ha realizado el análisis de datos obtenidos en la etapa previa, que se ha sistematizado y analizado. La elección de las alternativas óptimas de tratamiento se realizó comparando la eficiencia de los tratamientos con pH, O_2, O_3 y comunidades bacterianas en base a aspectos de mayor remoción del Fe^{+2}. En la figura 1 se observa el resumen del diseño de la investigación.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

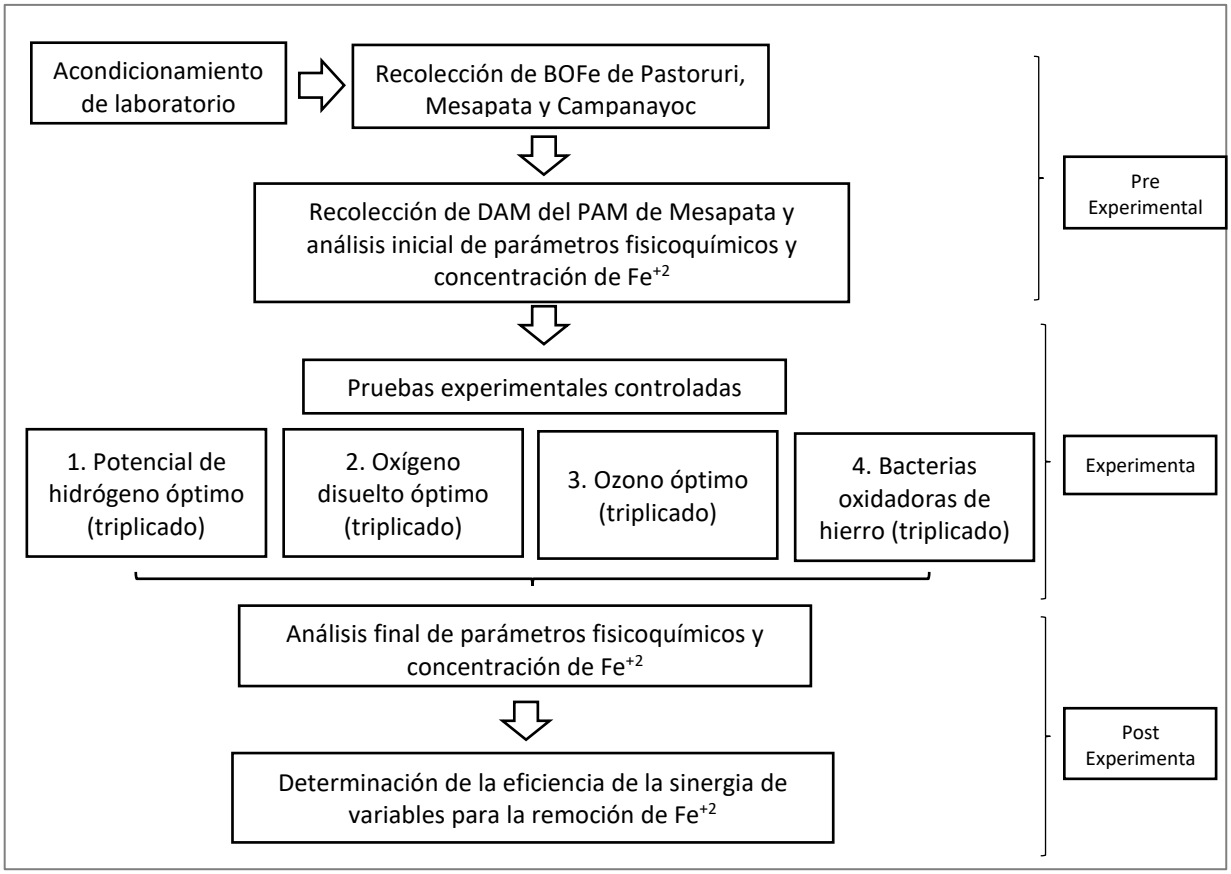


Figura 1. Resumen del diseño de investigación

3.3. Métodos o técnicas

En campo, las muestras de DAM fueron tomadas del sedimentador N° 02 ubicado en el lado norte del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata, de acuerdo al protocolo para Monitoreo de la calidad de los Recursos Hídricos Superficiales (ANA, 2016).

3.3.1. Determinación del pH óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

3.3.1.1. Preparación y dosificación de hidróxido de sodio (NaOH)

Se realizó la preparación de hidróxido de sodio a diferentes concentraciones 10N, 1N y 0.1N. Para ello se pesó 40.0 g, 4.0 g y 0.4 g de NaOH sólido, respectivamente, y se disolvió lentamente en 100 mL de agua destilada para cada concentración (Science ASSIST, 2014). La dosificación a diferentes niveles de pH (DAM actual, 3.0, 3.5; 4.0; 4.5; 5.0; 5.5; 6.0; 6.5; 7.0; 7.5; 8.0; 8.5; 9.0; 9.5; 10.0) se establece en la tabla 1 para lo cual se emplearon

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

volúmenes de NaOH añadidos en 30 mL de DAM contenido en recipientes de 40 mL de capacidad y se agitó la solución por 1 min después de la dosis por triplicado (Balintova & Petrilakova, 2011).

De acuerdo a lo anterior la siguiente tabla resume los volúmenes de NaOH empleado para cada tratamiento del DAM:

Tabla 1. Volúmenes de NaOH empleado para cada tratamiento.

TRATAMIENTOS	NaOH; µL		
	10N	1N	0.1N
DAMpHa*, DAMpHb*, DAMpHc*,			
DAMpH - 3.0a; DAMpH - 3.0b ;DAMpH - 3.0c		500	800
DAMpH - 3.5a ; DAMpH - 3.5b ;DAMpH - 3.5c		500	900
DAMpH - 4.0a ; DAMpH - 4.0b ;DAMpH - 4.0c		600	1000
DAMpH - 4.5a ; DAMpH - 4.5b ;DAMpH - 4.5c		600	1600
DAMpH - 5.0a ; DAMpH - 5.0b ;DAMpH - 5.0c		700	1600
DAMpH - 5.5a ; DAMpH - 5.5b ;DAMpH - 5.5c		1200	1600
DAMpH - 6.0a ; DAMpH - 6.0b ;DAMpH - 6.0c	100		2600
DAMpH - 6.5a ; DAMpH - 6.5b ;DAMpH - 6.5c	100	400	100
DAMpH - 7.0a ; DAMpH - 7.0b ;DAMpH - 7.0c	100	400	300
DAMpH - 7.5a ; DAMpH - 7.5b ;DAMpH - 7.5c	100	400	350
DAMpH - 8.0a ; DAMpH - 8.0b ;DAMpH - 8.0c	100	400	550
DAMpH - 8.5a ; DAMpH - 8.5b ;DAMpH - 8.5c	100	400	850
DAMpH - 9.0a ; DAMpH - 9.0b ;DAMpH - 9.0c	100	400	900
DAMpH - 9.5a ; DAMpH - 9.5b ;DAMpH - 9.5c	100	400	1300
DAMpH - 10.0a ; DAMpH - 10.0b ;DAMpH - 10.0c	100	400	1800

*a, b, c: Representan tres réplicas

3.3.1.2. Medición de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} en la influencia del pH del DAM

Al inicio y después de 24 horas de realizado las pruebas de pH, se midieron los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad (uS/cm) y TDS (ppm) con el pH-metro HANNA (HI HI98129), también, se calcularon los volúmenes de precipitado (cm^3) en base a la altura (h) y radio (r) de los tubos tapa rosca de 30 mL de capacidad.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Las concentraciones de Fe^{+2} se midieron en mg/L con los Kits Test de Hierro (Mcolortest Irontest - Merck) de rango bajo (114403: 0.0-0.2 mg/L) y alto (114438: 0.2-2.5 mg/L), durante la medición se determinaron solo las fracciones solubles, haciendo las diluciones con agua desionizada y ozonizada, según el límite de detección del kit.

En base a las concentraciones de hierro ferroso inicial y final se calcularon las eficiencias de remoción para cada uno de los tratamientos de acuerdo a la siguiente ecuación (Perry & Green, 1992, citado en Berrospi, 2019):

$$Eficiencia\ (\%): \frac{i-f}{i} x100$$

Donde:

i = concentración de hierro ferroso inicial en el DAM (mg/L).

f = concentración de hierro ferroso final en DAM tratado (mg/L).

3.3.2. Determinación de oxígeno disuelto óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

3.3.2.1. Ajuste del caudal del oxígeno

Se instaló un sistema de oxigenación, que contó con un generador de oxígeno (0-10 L/min), manguera (Ø=4 mm), piedra difusora (Ø de poro=140 µm) de oxígeno, contenedores de polietileno de 4 L de capacidad y oxímetro (Multiparámetro WTW Multi 3630 IDS).

Para determinar el caudal más eficiente en los tratamientos, se realizó ensayos de saturación de oxígeno a diferentes caudales, 1 L/min, 2 L/min y 3 L/min, teniendo un tiempo de saturación de 2.22, 2.54 y 2.44 minutos, respectivamente, de acuerdo con estos resultados se tomó como flujo de caudal 1 L/min para todas las pruebas de oxigenación, debido a que saturó en un menor tiempo y caudal.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

3.3.2.2. Dosificación de oxígeno al DAM original, pH 4.5 y 7.0

Se tomó 3 L de DAM en contenedores de polietileno de 4 L de capacidad. El generador inyectó oxígeno a un flujo constante de 1 L/min a través de una manguera que tuvo un difusor cuya función fue generar pequeñas burbujas de oxígeno, las cuales rompieron en la superficie del agua liberándolo y creándose una corriente capaz de aumentar el área superficial del DAM en contacto con el oxígeno. Se dosificó el oxígeno a diferentes tiempos de contacto en horas (0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 y 3.0). Al finalizar el tiempo de oxigenación de cada tratamiento, se tomaron 14 mL de muestra por triplicado en tubos Falcón® de 15 mL de capacidad.

Con el NaOH preparado anteriormente se realizó la dosificación para dos niveles de pH (4.5 y 7.0), en la tabla 2 se muestran los volúmenes de NaOH añadidos a 3 L de DAM para alcanzar el pH querido, después se agitó la solución por 2 minutos y se dejó estabilizar por 10 minutos, luego se inyectó el oxígeno (1 L/ min) a diferentes tiempos de contacto.

Tabla 2. Volúmenes de NaOH empleado para 3 L de DAM para las pruebas de oxigenación.

TRATAMIENTOS	NaOH; µL	
	10N	1N
DAM pH original (2.32)	0	0
DAM pH - 4.5 (pH final* 4.0)	8100	8700
DAM pH - 7.0 (pH final 5.5)	8100	9600

* pH final (después de 24 horas)

3.3.2.3. Medición de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} en la influencia de la oxigenación del DAM

Al inicio y después de 24 horas de inyectado el oxígeno a los tratamientos, se midieron los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad (uS/cm) y TDS (ppm) con el pH-metro HANNA (HI HI98129). Además, se calcularon los volúmenes de precipitado en mL.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Las concentraciones de hierro ferroso se midieron en mg/L con el Kit Test de Hierro (Mcolortest Irontest - Merck) de rango bajo (114403: 0.0-0.2 mg/L), durante las mediciones se determinaron solo las fracciones solubles, haciendo las diluciones con agua desionizada y ozonizada, según el límite de detección del kit.

En base a las concentraciones de hierro ferroso inicial y final obtenidos, se calcularon las eficiencias de remoción de hierro de acuerdo a la siguiente ecuación (Perry & Green, 1992, citado en Berrospi, 2019):

$$Eficiencia\ (\%): \frac{i-f}{i} x100$$

Donde:

i = concentración de hierro ferroso inicial en el DAM (mg/L).

f = concentración de hierro ferroso final en DAM tratado (mg/L).

3.3.3. Determinación de ozono óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

3.3.3.1. Consideraciones del flujo de ozono

Se instaló un sistema de ozonización, que contó con un generador de ozono GO-500 JMD (flujo constante de 2.15 L/min), una manguera (Ø=4mm), piedra difusora (Ø de poro=140 µm**)** de ozono y contenedores de polietileno de 4 L de capacidad.

3.3.3.2. Dosificación de ozono al DAM original, pH 4.5 y 7.0

Se tomó 3 L de DAM en contenedores de propileno de 4 L de capacidad, después se dosificó el ozono a un flujo de 2.15 L/min a diferentes tiempos de contacto en minutos (0.5; 1.0; 3.0; 5.0; 7.0; 9.0; 11.0; 13.0; 15.0; 17.0). Al finalizar cada tiempo de contacto se tomaron 14 mL de muestra por triplicado en tubos Falcón® de 15 mL de capacidad.

Se realizó la dosificación de NaOH al DAM para obtener dos niveles de pH (4.5 y 7.0), en la tabla 3 se muestran los volúmenes de NaOH añadidos a 3 L de DAM para alcanzar el pH querido, luego se agitó la solución por 2 minutos y se dejó estabilizar por 10

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

minutos, después se inyectó el ozono (2.15 L/min) a diferentes tiempos de contacto.

Tabla 3. Volúmenes de NaOH empleado para 3 L de DAM para las pruebas de ozonización.

TRATAMIENTOS	NaOH; µL	
	10N	1N
DAM pH original (2.35)	0	0
DAM pH - 4.5 (pH final* 4.0)	8100	8700
DAM pH - 7.0 (pH final 5.5)	8100	9600

*pH final (después de 24 horas)

3.3.3.3. Medición de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} en la influencia de la ozonización del DAM

Al inicio y después de 24 horas de inyectado el ozono a los tratamientos, se midieron los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad (uS/cm) y TDS (ppm) con el pH-metro HANNA (HI HI98129). Además, se calcularon los volúmenes de precipitado en mL.

Las concentraciones de hierro ferroso se midieron en mg/L con los Kits Test de Hierro (Mcolortest Irontest - Merck) de rango bajo (114403:0.0 - 0.2 mg/L). Se determinaron solo las fracciones solubles, haciendo las diluciones con agua desionizada y ozonizada, según el límite de detección del kit.

En base a las concentraciones de hierro ferroso inicial y final obtenidos, se calcularon las eficiencias de remoción de hierro ferroso para cada uno de los tratamientos. Se usó la misma fórmula de eficiencia que en la oxigenación.

3.3.4. Aislamiento, propagación y evaluación de la capacidad oxidante de las bacterias oxidadoras de hierro a pH 3 y 4

3.3.4.1. Preparación de medio de cultivo 9K Modificado

El medio 9K desarrollado inicialmente fue llamado así por contener 9 g de Fe^{+2} /L pero fue modificándose en el tiempo de

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

acuerdo a las necesidades del sistema (Quatrini et al., 2007). Para la investigación se usó el medio de cultivo 9K Modificado con la finalidad de aislar específicamente las BOFe traídas de los puntos de muestreo, la composición del medio de cultivo final comprendió la fusión de dos medios previos: el de Silverman y Lundgren (1959) y el de Johnson (1995), la cual se presenta en la tabla 4.

Tabla 4. Composición del medio de cultivo 9K Mod. semisólido para 1 L.

Soluciones	Reactivos	Cantidad (1 L)
Solución A	$FeSO_4$ $7H_2O$	20 g
	Agua	0.3 L
Solución B	$(NH_4)_2SO_4$	3 g
	KCl	0.10 g
	K_2HPO_4	0.50 g
	$MgSO_4$. $7H_2O$	0.50 g
	$Ca(NO_3)_2$	0.01 g
	H_2SO_4, 10N	1 mL
	Agua	0.6 L
Solución C	Agar	5 g
	Agua	0.1 L

El modo de preparación del medio 9K Mod., se realizó de la siguiente manera (Silverman & Lundgren, 1959):

1. **Solución A:** Pesar 20 g de $FeSO_4$. $7H_2O$ y disolver en 0.3 L de agua desionizada, ozonizada y caliente, ajustar a pH 3 o 4 con H_2SO_4 10N, agitando hasta su disolución completa.

2. **Solución B:** Los reactivos pesados disolver en 0.6 L de agua desionizada, ozonizada y caliente, ajustar a pH 3 o 4 con H_2SO_4 10N.

3. **Solución C:** Disolver 5 g de agar en 0.1L de agua desionizada y ozonizada, por ebullición.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Mezclar las tres soluciones a una temperatura no menor de 60°C y distribuir en frascos, tubos o placa de acuerdo a la necesidad.

Se realizó controles de calidad en frascos estériles bajo las mismas condiciones de medios de cultivo con bacterias estándar, así demostrando la no contaminación de los medios de cultivo.

3.3.4.2. Muestreo de Bacterias Oxidadoras de Hierro (BOFe)

Se salió de Huaraz con destino a Pastoruri, Mesapata, y Campanayoc, para tomar las muestras de las BOFe. El criterio de muestreo se hizo en base a estudios precedentes de Sheng et al. (2017), (i) se llegó a los puntos de muestreo con ayuda de un GPS Navegador GARMIN Etrex 30, después (ii) se tomaron con una espátula de plástico 50 ml de muestras por separado ya sea de lodo, Formaciones de Terrazas de Hierro (TIFs), óxidos de hierro y/o sedimento (iii) las muestras obtenidas fueron almacenadas en un cooler a 4°C e (iv) inmediatamente, fueron transportadas a un laboratorio acondicionado en la ciudad de Huaraz para el aislamiento y propagación de las BOFe en Medio 9K Modificado.

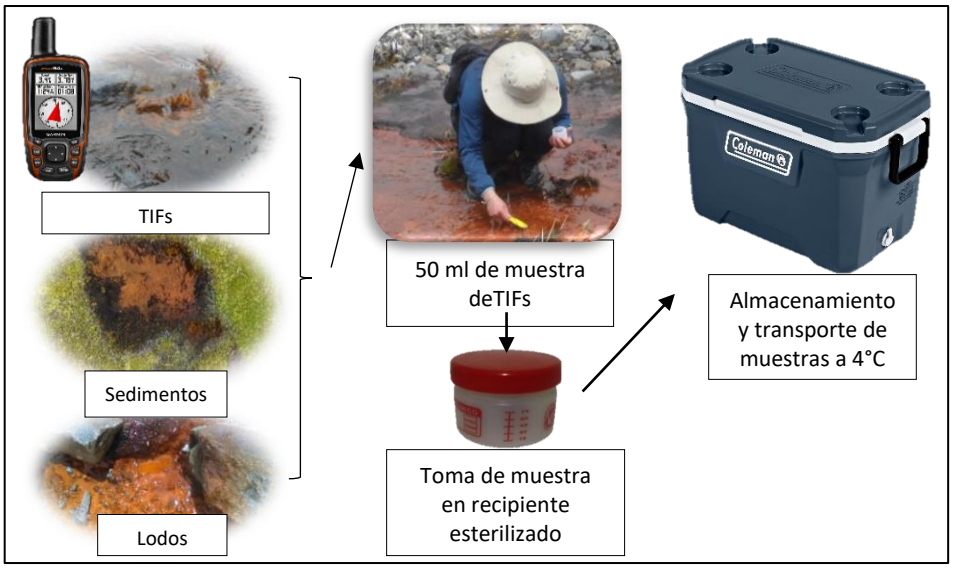


Figura 2. Esquema de la recolección de muestras de BOFe.

Durante el muestreo se midieron los parámetros de campo (pH, conductividad, TDS, temperatura) con el pH-metro HANNA (HI

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

HI98129), a la vez se midieron las concentraciones de Fe^{+2} (mg/L) con el Kit Test de Hierro (MColortest Irontest - Merck) de rango alto (0.2-2.5 mg/L) y se tomaron las coordenadas UTM de cada punto de muestreo con el GPS Navegador GARMIN Etrex 30.

3.3.4.2.1. Pastoruri

Se arribó a Pastoruri a horas de la mañana. La zona presentó 4°C de temperatura atmosférica, 11 Km/h de velocidad del viento y no hubo presencia de precipitación pluvial (The weather Channel, 2020).

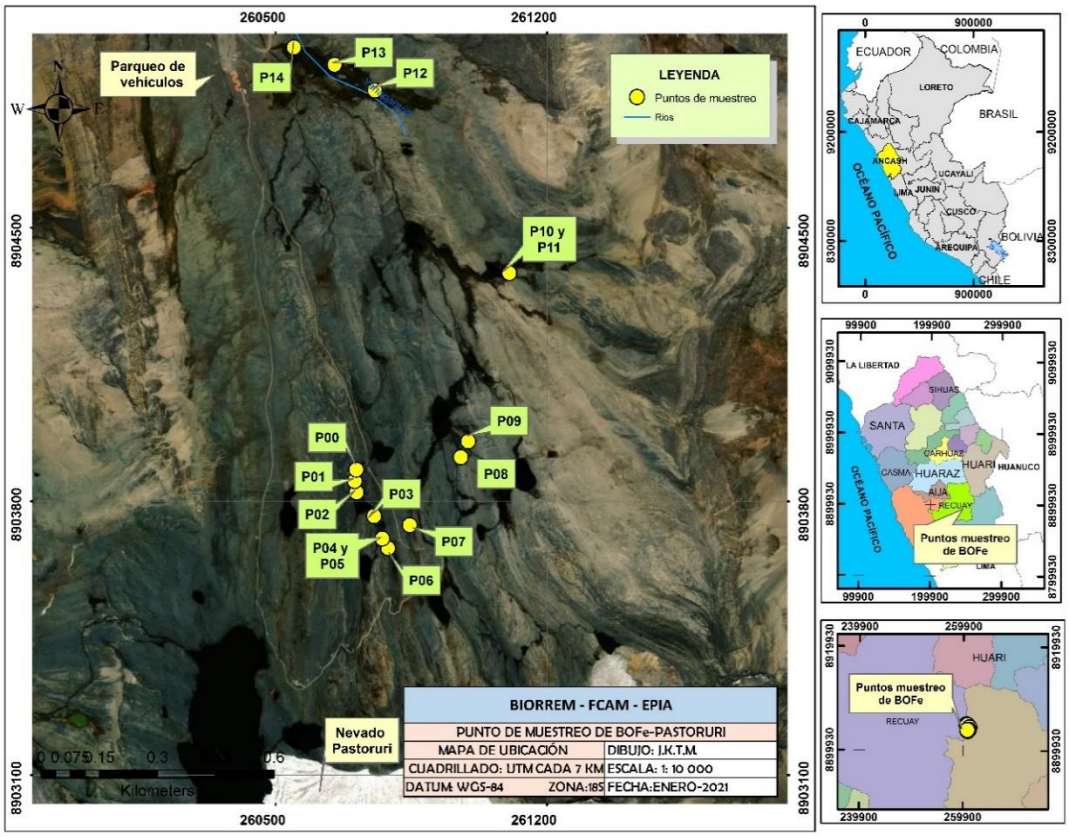


Figura 3. Mapa de los puntos de muestreo de las BOFe de Pastoruri.

El punto P00 fue un punto de control donde se realizaron mediciones de los parámetros fisicoquímicos, mas no se recolectaron muestras de BOFe.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Tabla 5. Coordenadas, parámetros fisicoquímicos y concentración de Fe^{+2} en cada punto de muestreo de Pastoruri.

Pto.	Coordenadas UTM		Parámetros fisicoquímicos				Fe^{+2} (mg/L)	Tipo de cuerpo de agua	Tipo de muestra
	X	Y	pH	EC (uS/cm)	TDS (ppm)	T (°C)			
P00	260708	8903881	3.16	420	216	6.21	-	Efluente de humedal construido y de la laguna.	No se recolectó muestra.
P01	260704	8903852	3.09	494	246	5.7	20	A la mitad del humedal construido.	Sedimento
P02	260709	8903823	3.12	492	246	6.2	16	Laguna encima del humedal construido.	Sedimento con algas
P03	260754	8903762	4.4	191	96	7.9	-	Cauce de arroyo con flujo menor.	Sedimento
P04	260775	8903705	3.1	505	253	8.3	35	Cauce de arroyo con flujo mayor.	TIFs
P05									
P06	260790	8903680	3.17	484	243	8.1	-	Charco encima del arroyo.	TIFs
P07	260846	8903739	2.96	600	299	8.5	-	Charco al margen derecho del circuito peatonal	Precipitados de hierro con algas.
P08	260978	8903913	3.12	470	238	8.7	-	Escorrentía con presencia de Fe en zona rocosa con poca vegetación.	Lodo
P09	260997	8903953	5.57	97	52	5.3	20	Afloramiento de agua subterránea que tributa a una laguna.	TIFs
P10	261103	8904384	5.78	45	22	6.5	4	Afloramiento de agua subterránea y humedal periglaciar.	Sedimento
P11									
P12	260756	8904851	5.76	8	4	13.8	0.8	Parte alta de humedal con predominio de *Plantago rígida.*	Sedimento
P13	260652	8904917	6.19	27	14	9	-	Parte media del humedal.	Sedimento
P14	260547	8904961	6.21	17	9	16.3	0.2	Parte baja del humedal.	Sedimento

3.3.4.2.2. Mesapata

Se llegó a Mesapata a horas de la tarde. La zona presentó 18°C de temperatura atmosférica, 5 Km/h de velocidad del viento

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

(The weather Channel, 2020) y precipitación pluvial leve. En la figura 4, se observa que las muestras en su mayoría fueron tomadas de la zona norte del relave.

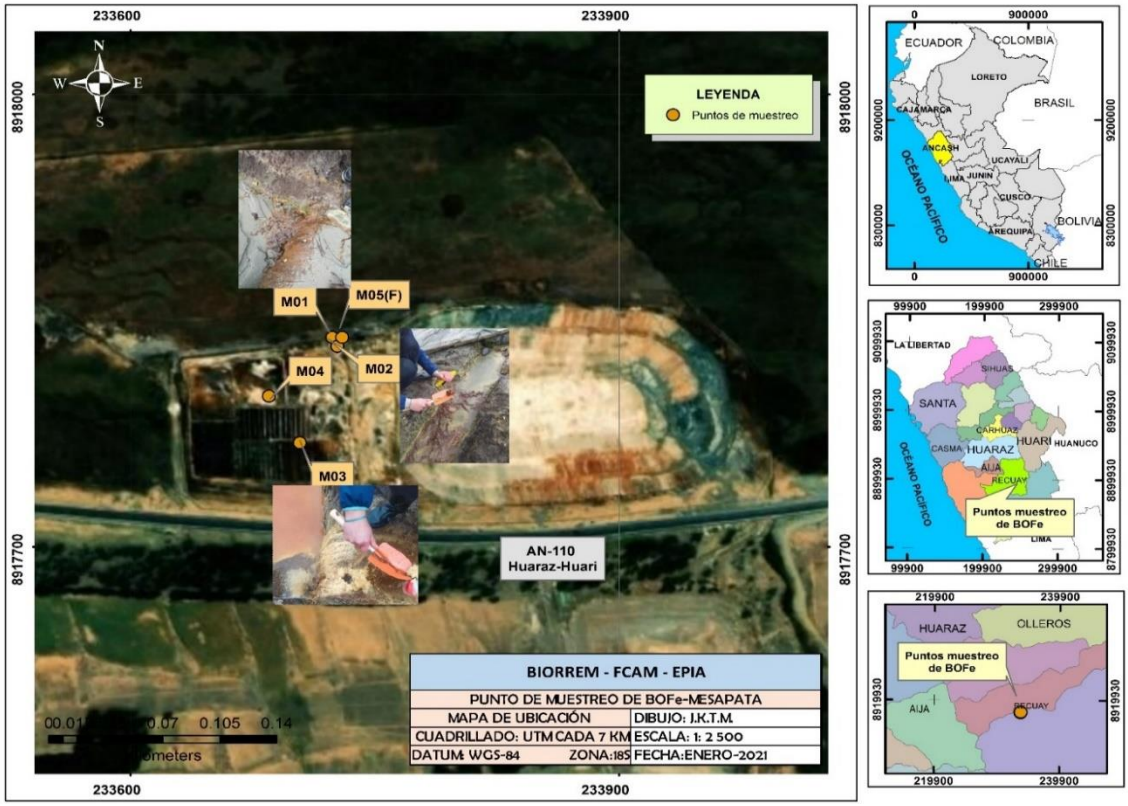


Figura 4. Mapa de los puntos de muestreo de las BOFe de Mesapata.

Tabla 6. Coordenadas, parámetros fisicoquímicos y concentración de Fe^{+2} en cada punto de muestreo de Mesapata.

Pto.	Coordenadas UTM		Parámetros fisicoquímicos			Fe^{+2} (mg/L)	Tipo de cuerpo de agua	Tipo de muestra
	X	Y	pH	EC (uS/cm)	TDS (ppm)			
M01	233730	8917842	2.56	>3999	>1999	-	Salida del primer sedimentador del lado norte.	TIFs
M02	233727	8917833	2.56	>3999	>1999	-	Riachuelo al costado del primer sedimentador	TIFs
M03	233704	8917769	-	-	-	-	Entrada al sedimentador de la zona central.	TIFs
M04	233685	8917800	-	-	-	-	Humedal construido.	Sedimento.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

M05 (F)	233735	8917840	2.56	>3999	>1999	800	Segundo sedimentador.	Precipitado de hierro.

3.3.4.2.3. Campanayoc

Se arribó a Campanayoc a horas de la mañana. La zona presentó una temperatura atmosférica de 11°C (The weather Channel, 2020) y no hubo precipitación pluvial.

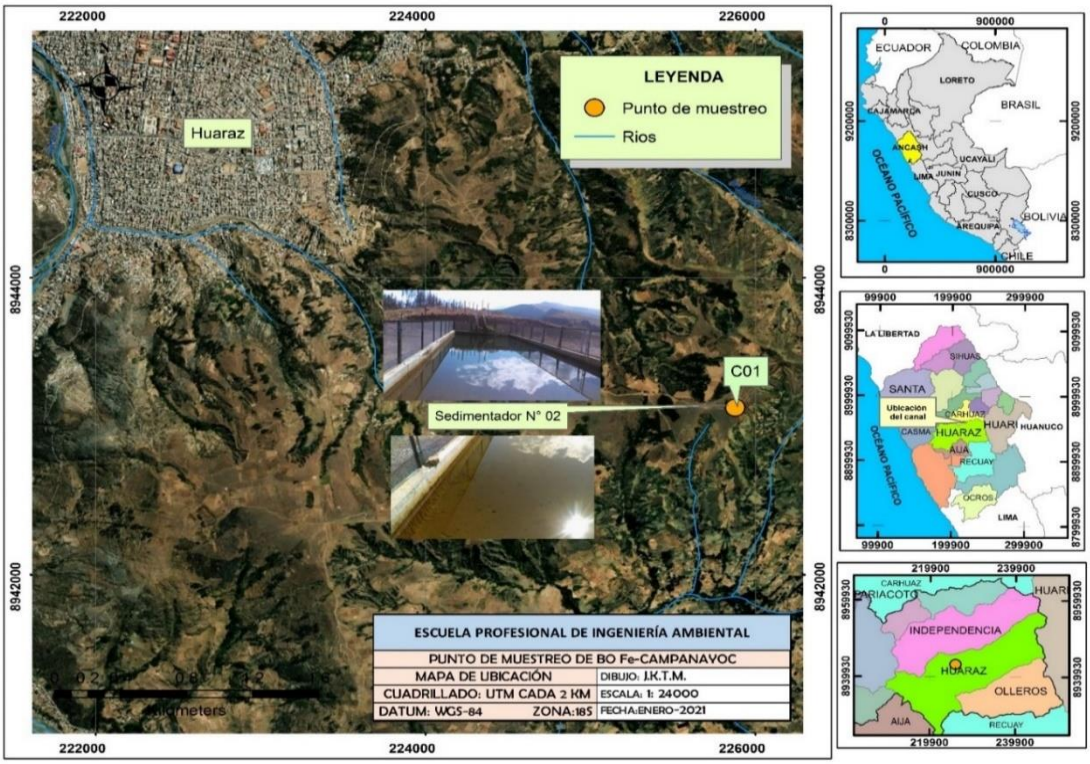


Figura 5. Mapa de los puntos de muestreo de las BOFe de Campanayoc.

Tabla 7. Coordenadas, parámetros fisicoquímicos y concentración de Fe^{+2} en cada punto de muestreo en Campanayoc.

Pto.	Coordenadas UTM		Parámetros fisicoquímicos			Fe^{+2} (mg/L)	Tipo de cuerpo de agua	Tipo de muestra
	X	Y	pH	EC (uS/cm)	TDS (ppm)			
C01	225869	8943140	4.45	138	70	*	Sedimentador 2	Precipitado de hierro.

* Elevadas concentraciones de Fe en Campanayoc (canal Huapish-Shallap-Toclla) (Zimmer et al., 2018).

3.3.4.3. Aislamiento de las BOFe

En la figura 6 se observa el procedimiento utilizado para aislamiento de las BOFe. Se inició con la homogenización de los 50 ml de cada muestra de BOFe traídos de Pastoruri (14), Mesapata

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

(5) y Campanayoc (1), después se inocularon 5 ml de muestra en frascos independientes con 0.3 L de Medio 9K Mod., semisólido, a pH 3 y 4; seguidamente, las muestras se agitaron, de manera que los microorganismos se distribuyeron homogéneamente por todo el medio de cultivo, después se incubaron a una temperatura de 21°C, una humedad relativa de 40% y se evaluaron semanalmente por 33 días.

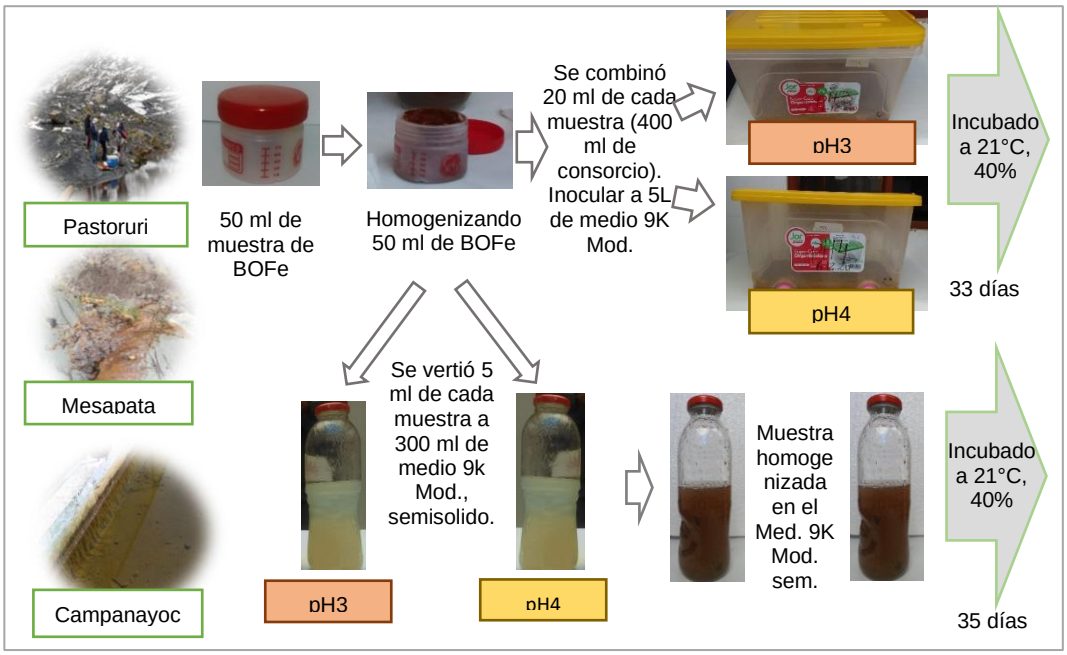


Figura 6. Esquema de aislamiento de las BOFe del DAM y DAR en frascos independientes y en sistemas Aquarium-Fe.

Por otro lado, se combinó 20 ml de cada muestra de BOFe en un recipiente estéril y se inocularon al sistema Aquarium-Fe con 5 L de Med. 9K Mod., semisólido a pH 3 y 4, posteriormente las muestras se homogenizaron para permitir el crecimiento de los consorcios bacterianos en todo el medio, una vez terminado se incubaron en las mismas condiciones anteriores por 33 días con evaluación semanal.

3.3.4.4. Evaluación del crecimiento de las BOFe

En la figura 7, se observó y anotó los cambios sufridos en los medios de cultivos sembrados, tanto en los frascos independientes como en los sistemas Aquarium-Fe, estos cambios fueron: el

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

enturbiamiento en la parte superior del medio, el desarrollo de un velo o película en la superficie de un color anaranjado amarillento propio de la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3}, la consistencia, la forma de las colonias y el olor.

Una vez que aparecieron los precipitados de hierro en los Aquarium-Fe, se introdujo DAM a diferentes concentraciones y se mantuvo a condiciones de aerobiosis y microaerofilia.

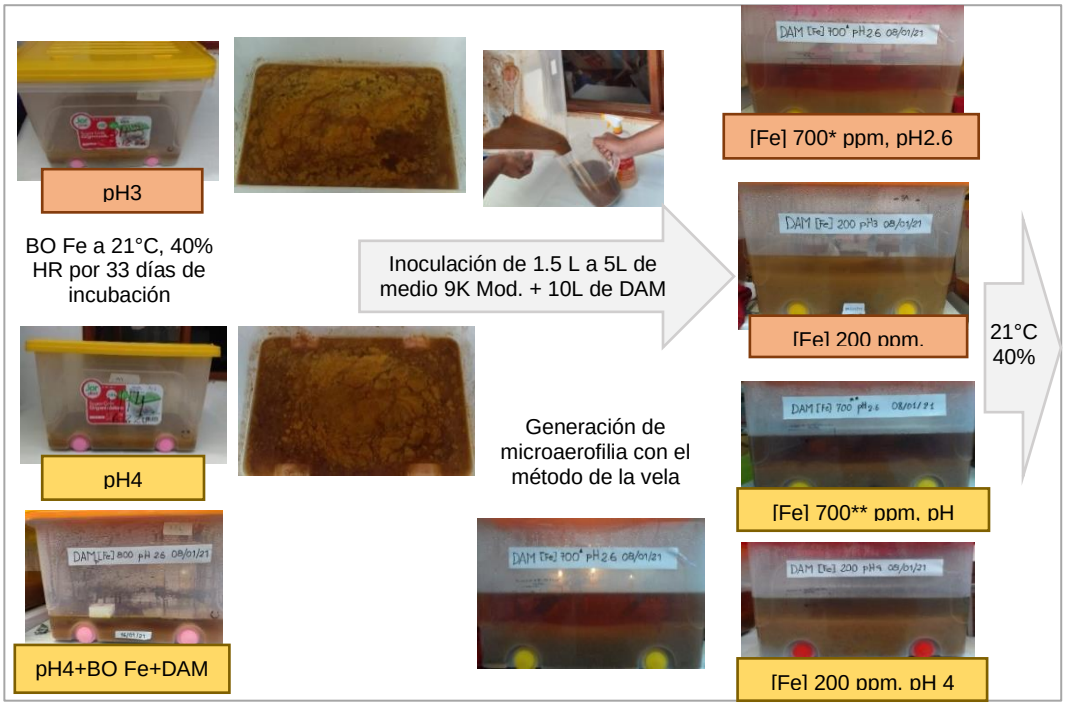


Figura 7. Evaluación del crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de Fe^{+2} en el sistema Aquarium-Fe con DAM.

3.3.4.5. Propagación y conservación de las BOFe

En la figura 8 se muestra que una vez alcanzada la fase logarítmica de crecimiento bacteriano de los cultivos iniciales (figura 6); con la ayuda de un asa bacteriológica se propagó las BOFe en frascos con 0.2 L de Medio 9K Mod., semisólido tanto a pH 3 como a pH 4, según corresponda. Se tuvo cuidado de poner a las BOFe solo en la parte superficial del medio, puesto que es la zona donde se observó crecimiento, luego se incubaron con una inclinación a pico de flauta a una temperatura de 21°C, humedad relativa de 40% y con evaluación inter diaria.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

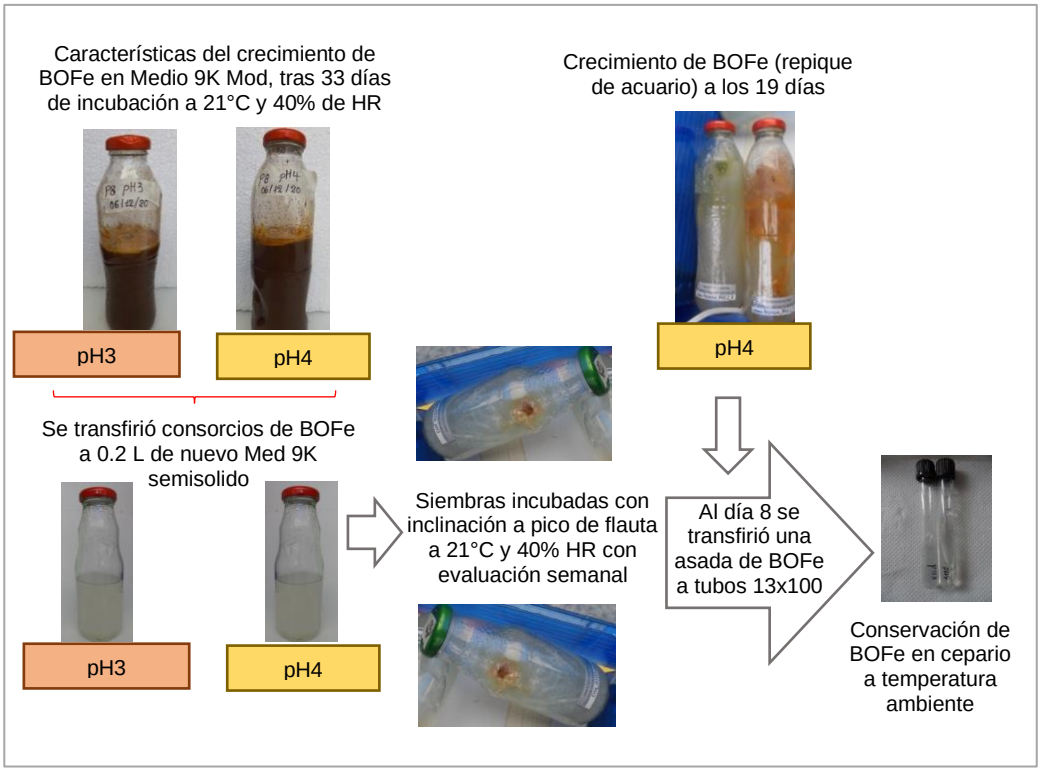


Figura 8. Repique de BOFe en frascos y su conservación de cepas de BOFe en Medio 9K Mod.

Al octavo día de crecimiento se realizó la propagación de las BOFe en tubos independientes tapa rosca de vidrio 13 x 100 mm (9ml) con 0.003 L de Medio 9K Mod., sólido, tanto a pH 3 como a pH 4. La propagación se realizó con la ayuda un asa bacteriológica, el cual permitió realizar movimientos suaves sobre la superficie del medio sólido. Una vez terminado se conservaron con una inclinación a pico de flauta a una temperatura de 21°C y una humedad relativa de 40% con evaluación interdiaria.

3.3.4.6. Evaluación la capacidad oxidante de los consorcios bacterianos del hierro

Se realizó pruebas experimentales para demostrar la capacidad oxidante de las BOFe en Medio 9K Mod., sólido, a diferentes concentraciones de $FeSO_4$, además se vio el comportamiento de las BOFe a diferentes concentraciones de hierro ferroso en DAM en el sistema Aquarium-Fe.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

3.3.4.6.1. Crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de sulfato de ferroso ($FeSO_4$)

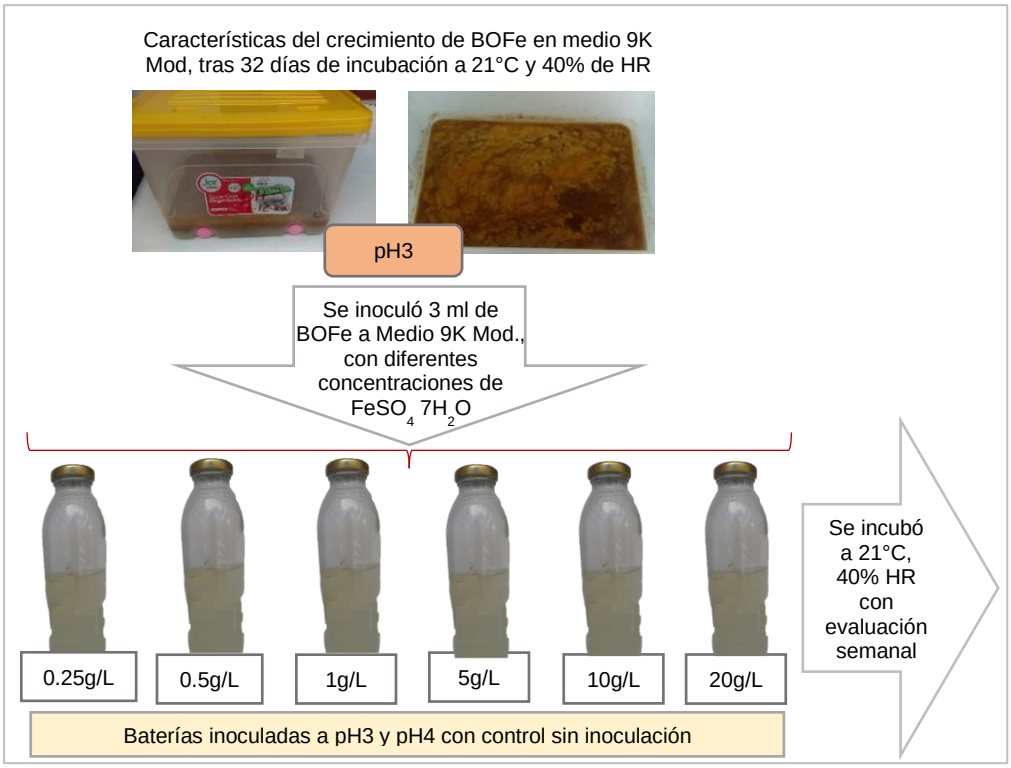


Figura 9. Evaluación del crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de $FeSO_4$ en medio semisólido 9K Mod.

Una vez alcanzado el crecimiento logarítmico de las BOFe en el sistema Aquarium-Fe, con la ayuda de un asa bacteriológica se tomó muestras de consorcios de la parte superficial y se sembró en frascos con 0.2 L de Medio 9K Mod., sólido con diferentes concentraciones de $FeSO_4$ (0.25; 0.5; 1; 5; 10 y 20g/L). La siembra se realizó en la parte superficial a pH 3 y 4, luego se incubó a una temperatura de 23°C y 40% de humedad relativa. Se registró el crecimiento tomando como indicador la tabla 9.

3.3.4.6.2. Comportamiento de las BOFe en sistemas Aquarium-Fe con DAM a diferentes concentraciones de Fe^{+2}.

A 8.5 L de DAM con código T100 (100 mg/L de Fe^{+2}) se añadió 425 ml de medio amonio (amonio al 1.7%), preparado a partir de orina hidrolizada con ureasa de sandía cuyo detalle se explica en el ANEXO 8. Después se inoculó 0.2 L del consorcio

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

de BOFe (cepas de Campanayoc, Pastoruri y Mesapata) por duplicado, a una se prendió la vela para generar microaerofilia y la otra se mantuvo en aerobiosis. Se repitió el mismo procedimiento para los tratamientos T200 (200 mg/L de Fe^{+2}), T400 (400 mg/L de Fe^{+2}), T600 (600 mg/L de Fe^{+2}) y T800 (800 mg/L de Fe^{+2}).

Se incubaron todos los tratamientos en un sistema de solario (temperatura promedio de 20 °C ± 3, humedad relativa promedio 45%).

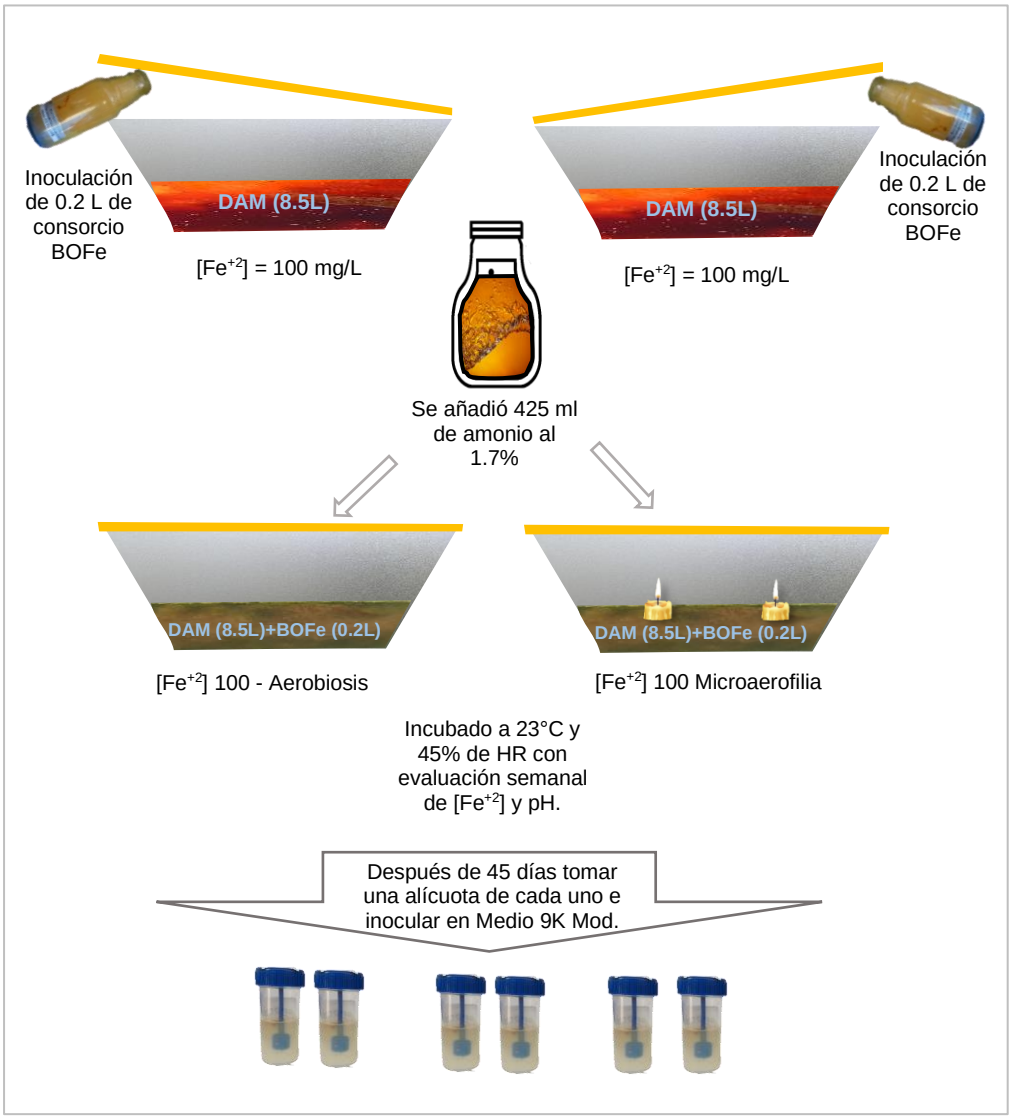


Figura 10. Esquema de implementación de los sistemas Aquarium-Fe con BOFe y medio amonio.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Semanalmente se determinaron las concentraciones de Fe^{+2} en mg/L de cada tratamiento, con el Kit Test de Hierro (Mcolortest Irontest - Merck) de rango bajo (114403: 0.0-0.2 mg/L) y alto (114438: 0.2-2.5 mg/L), durante la medición se determinaron solo las fracciones solubles, haciendo las diluciones con agua desionizada y ozonizada, según el límite de detección del kit. También se registró los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad (uS/cm) y TDS (ppm) con el pH-metro HANNA (HI HI98129).

Tras la estabilización de los sistemas Aquarium-Fe (al día 45) se procedió a tomar con un asa microbiológica una porción de BOFe para sembrarlas en tubos tapa rosca de plástico con 0.002 L de Medio 9K Mod., semisólido. Se incubó a una temperatura de 23°C, humedad relativa de 45% y con evaluación interdiaria.

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

Drenaje Ácido de Mina del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata

3.4.2. Muestra

Drenaje Ácido de Mina del sedimentador N° 02 de la cara norte del Pasivo Ambiental Minero de Mesapata. El DAM posee elevadas concentraciones de metales totales y disueltos, respectivamente: hierro (870.47 mg/L: 683.47 mg/L), arsénico (245.41 mg/L: 104.97), manganeso (95.73 mg/L: 93.61 mg/L), zinc (83.817 mg/L: 82,78 mg/L) y aluminio (62.889 mg/L: 60.27 mg/L) (ANEXO 3: Informe de ensayo N° 160760 - 2022 S.A.G.).

Muestras de BOFe traídas de Mesapata, Pastoruri y Campanayoc.

3.5. Descripción de los instrumentos utilizados para la medición de las variables.

3.5.1. Determinación de los parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos se midieron con el pH-HANNA (HI HI98129). De acuerdo a su información técnica el equipo ha sido producido, calibrado y probado usando normas e instrumentos de referencia, tomando en cuenta el National Institute of Standards and Technology (NITS) de los

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Estados Unidos y por los estándares físicos nacionales que han sido aceptados internacionalmente.

Para la medición del oxígeno disuelto se usó el Multiparamétrico WTW 3630 IDS, el cual posee un sensor FDO 925 óptico de excelente precisión que trabaja en el rango de 0-20 mg/L ± 0.5% del valor de oxígeno. En la tabla 8 se muestran las especificaciones técnicas de acuerdo al manual de instrucciones de los instrumentos mencionados.

Tabla 8. Especificaciones técnicas de los instrumentos usados para la determinación de variables de estudio.

Variable	Instrumento	Rango de medición	Sensibilidad
Potencial de hidrógeno (pH)	pH-metro HANNA Waterproof Tester (HI98129)	0 a14	± 0.01
Conductividad eléctrica (EC)	pH-metro HANNA Waterproof Tester (HI98129)	0 a 3999 uS/cm	± 0.2%
Sólidos Totales Disueltos (TDS)	pH-metro HANNA Waterproof Tester (HI98129)	0 a 2000 ppm	± 0.2%
Temperatura (°C)	pH-metro HANNA Waterproof Tester (HI98129)	0 a 60°C	± 0.5°C
Oxígeno multiparamétrico (OD)	Multiparametrico WTW 3630 IDS	0 a 20 mg/L	± 0.5%

3.5.2. Indicadores del crecimiento de las BOFe

En la tabla 9 se muestra una clasificación progresiva para la determinación del crecimiento de las BOFe en el Medio 9K Mod., y en los Aquarium-Fe. La clasificación se realizó en base a indicadores macroscópicos como el enturbiamiento en la parte superior del medio, el desarrollo de películas de color anaranjado amarillento (Fe^{+2} a Fe^{+3}) en la superficie, así como la consistencia, la forma, el olor de la película formada.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Tabla 9. Niveles de crecimiento de los consorcios bacterianos de hierro.

Símbolo	Valor	Descripción
(-)	0	No hay crecimiento
(-/+)	0.25	Muy poco crecimiento
(+/-)	0.5	Poco crecimiento
(+)	1	Crecimiento fase inicial
(+2)	2	Crecimiento medio
(+3)	3	Crecimiento alto
(+4)	4	Crecimiento notable

3.5.3. Determinación del hierro ferroso (Fe^{+2})

Los Kits Test de Hierro (Mcolotest Irontest – Merck) de rango bajo (114403: 0.0-0.2 mg/L) y alto (114438: 0.2-2.5 mg/L), contienen por separado dos frascos de reactivo Fe-1 (en caja de aluminio); una jeringa de plástico graduada de 5 ml; dos tubos de ensayo con tapa roscada (en bloque comparador) y una tarjeta colorimétrica. La determinación de la concentración Fe^{+2}, es mediante el comparador de tarjeta colorimétrica y el bloque comparador con tubos de ensayo.

El ensayo permite que todos los iones de hierro se reduzcan a iones de Fe^{+2}. Éstos, en medio amortiguado con tioglicolato, forman con un derivado de triazina un complejo violeta rojizo. La concentración de Fe^{+2} se determina semicuantitativamente por comparación visual del color de la solución de medición con las zonas de color de una tarjeta colorimétrica.

Tabla 10. Intervalo de medida y la graduación de la escala colorimétrica de los Kits de test de hierro

Nominación	Intervalos de medidas (mg/L de Fe)	Número de determinaciones (unid.)	Sensibilidad
Kit de test de hierro rango bajo (cod.114403)	0.01 - 0.02 - 0.03 - 0.04 - 0.06 - 0.08 - 0.10 - 0.15 - 0.20	300	± 0.01

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Kit de test de hierro rango alto (cod. 114438)	0.2 - 0.4 - 0.6 - 0.8 - 1.0 - 1.3 - 1.6 - 2.0 - 2.5	500	± 0.02

3.5.4. Determinación de la eficiencia de remoción de Fe^{+2}

En base a las concentraciones de hierro ferroso inicial y final obtenidos, se calcularon las eficiencias de remoción de hierro para cada uno de los tratamientos de acuerdo a la siguiente ecuación (Perry & Green, 1992, citado en Berrospi, 2019):

$$Eficiencia\ (\%): \frac{i - f}{i} x100$$

Donde:

i = concentración de hierro ferroso inicial en el DAM (mg/L).

f = concentración de hierro ferroso final en DAM tratado (mg/L).

3.6. Plan de procesamiento y análisis estadístico de la información

Los instrumentos que se utilizaron para el procesamiento, análisis e interpretación de los resultados fue mediante el software Microsoft Excel 2019, para medidas de tendencia central (promedios), barras de error (desviaciones estándar), pruebas de diferencia entre un tratamiento otro y curvas de tendencia, con la finalidad de determinar el óptimo tratamiento.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. Caracterización del Drenaje Ácido de Mina del PAM de Mesapata

En la tabla 11 se presentan los resultados de las mediciones iniciales de los parámetros fisicoquímicos del DAM: pH, conductividad (uS/cm) y TDS (ppm) con el pH-metro HANNA (HI HI98129); el oxígeno disuelto con el Multiparamétrico WTW 3630 IDS; la concentración de Fe^{+2} se midió con el Kit Test de Hierro (Mcolortest Irontest - Merck) de rango alto (114438: 0.2 - 2.5 mg/L) y el sulfato con el Kit Test de Sulfato (Mcolortest Sulfatetest – Merck) de rango (114411: 25 - 300 mg/L).

Tabla 11. Parámetros iniciales del DAM usados en los tratamientos abióticos (pH, O_2 y O_3) y bióticos (BOFe).

Drenaje ácido	pH	CE (uS/cm)	TDS (ppm)	OD (mg/L)	Fe^{+2} (mg/L)	Sulfato (mg/L)
DAM del PAM de Mesapata	2.33 - 2.56	>3999	>2999	2.51	800	15000

4.2. Resultado de las condiciones óptimas de pH para la remoción de Fe^{+2} del DAM

Pasadas las 24 horas desde cada tratamiento, se midieron los valores de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración de hierro soluble y la eficiencia de remoción de hierro de cada uno de los tratamientos.

4.2.1. Variación de los parámetros fisicoquímicos después de 24 horas de alcalinizar el DAM

4.2.1.1. Potencial de hidrógeno (pH)

En la figura 11, se observa la diferencia que existe entre el pH inicial y el pH después de 24 horas. De acuerdo a la regresión lineal

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

de los datos de pH después de 24 horas, el coeficiente de determinación (R^2) es del 94.6%, lo que indica que existe un alto ajuste de datos. En la mayoría de los casos existe una reducción del pH, excepto en el pH 5.5 que aumentó el valor hasta pH 6.55.

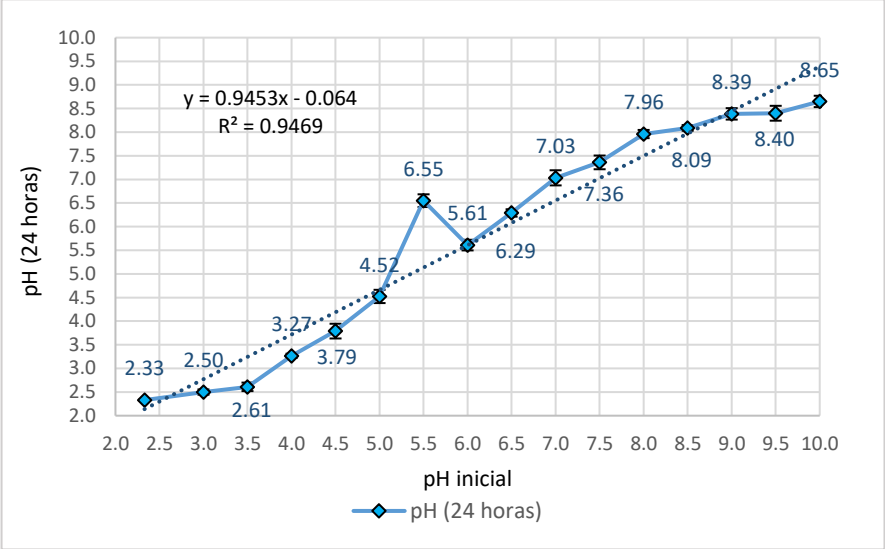


Figura 11. Valores del pH inicial y pH después de 24 horas del tratamiento con NaOH (10N,1N, 0.1N).

4.2.1.2. Conductividad (EC) y Sólidos Totales Disueltos (TDS)

El segundo parámetro fisicoquímico medido en el tratamiento con NaOH fue la conductividad; en todos los casos se registraron valores superiores a 3999 uS/cm.

Los resultados de los TDS mostraron que todos los tratamientos se encuentran por encima de los 2000 ppm.

4.2.2. Influencia del pH sobre la precipitación y concentración de Fe^{+2} del DAM

En la figura 12, se observa que a medida se incrementa el pH, se genera mayor volumen de precipitado (relación directamente proporcional), así mismo, los valores obtenidos se ajustan a una regresión polinómica de segundo orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 94.8%. La precipitación empezó a partir de pH 2.50 (inmediatamente después de añadir NaOH) formándose 2.39 cm^3, mientras que a un pH de 8.40 se obtuvo 12.21 cm^3. Sin embargo, en algunos tratamientos a pHs más alcalinos fluctúa la formación de precipitado.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

También se observa que a pHs más alcalinos la concentración de hierro ferroso disminuye (relación inversamente proporcional), los datos obtenidos se ajustan a una regresión potencial de segundo orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 71.2%. El DAM con un pH final de 2.5, presenta una concentración de 160 mg/L con un 80% de remoción de Fe^{+2} y a pHs iguales y superiores a 5.61 presentan una concentración de Fe^{+2} por debajo de los 2 mg/L poseyendo un 99.9% de eficiencia de remoción de Fe^{+2}.

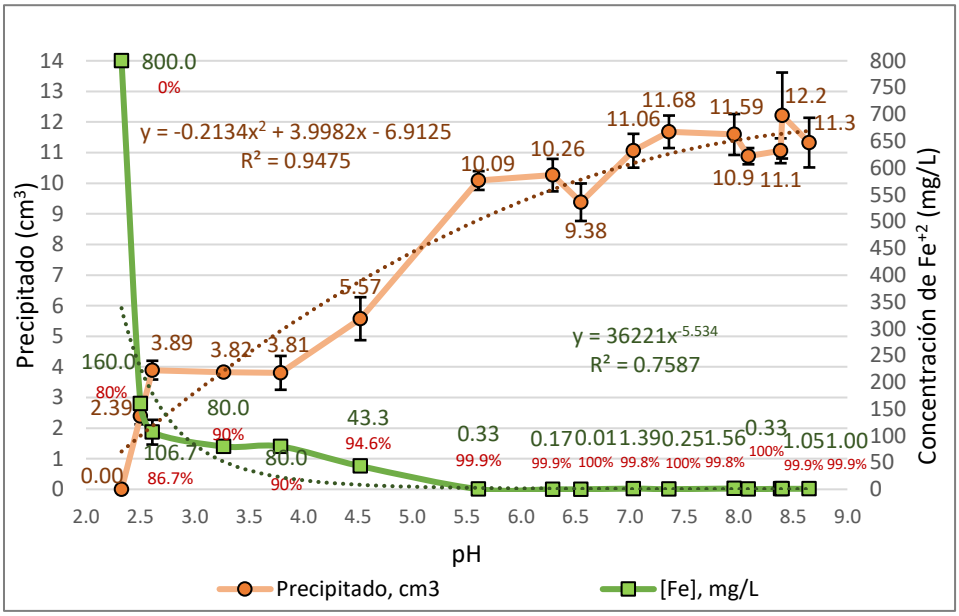


Figura 12. Influencia del pH en la formación de precipitado y concentración de hierro ferroso.

4.3. Resultado del tiempo de oxigenación (O_2) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

Pasadas las 24 horas desde la oxigenación, se midieron los valores de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración de hierro ferroso y la eficiencia de remoción de hierro ferroso de cada uno de los tratamientos.

4.3.1. Influencia de la oxigenación en la variación de los parámetros fisicoquímicos

4.3.1.1. Potencial de hidrógeno (pH)

En la figura 13 se muestra que el pH del DAM original (2.32) se mantiene sin variación durante las 3 horas de oxigenación. Inicialmente el DAM pH 4.0 tuvo un pH de 4.5 pero después de 24

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

horas tuvo los siguientes resultados: a las 0 horas de oxigenación el pH fue de 4.21 y a partir de las 0.5 horas se produjo una ligera acidificación en función del tiempo llegando a 4.03 a las 2.5 horas; y, a las 3 horas se elevó a 4.07. En general los valores de pH 4.0 no sufren un cambio drástico, manteniéndose en un rango de 4.03 a 4.21. Los datos se ajustan a una regresión polinómica de tercer orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 98.6%.

El DAM pH 5.5 inicialmente se llevó a pH 7.0 pero después de 24 horas se observaron los siguientes resultados: a las 0 horas de oxigenación el pH tuvo un valor de 5.40 y a las 0.5 horas sufrió un descenso a 5.30 y a partir de allí sufre un incrementó hasta obtener un pH de 5.80 a las 2.5 horas; y, 5.55 a las 3 horas. Los valores mantienen un ligero cambio en el tiempo en un rango de 5.40 a 5.80. Los datos para este tratamiento también poseen una egresión polinómica de tercer orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 96.1%.

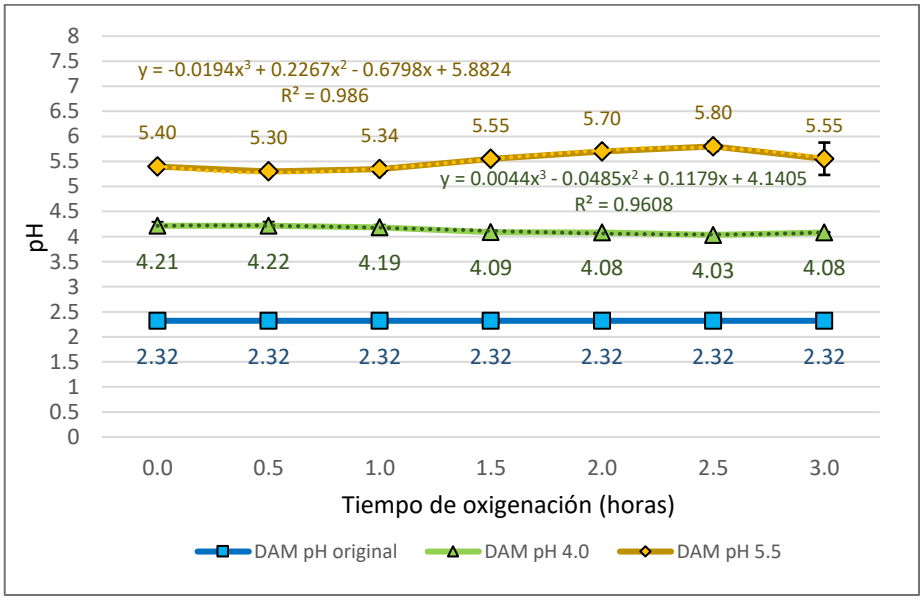


Figura 13. pH (original, 4.0 y 5.5) en función del tiempo de oxigenación.

4.3.1.2. Conductividad (EC) y Sólidos Totales Disueltos (TDS)

La conductividad no presentó variación, los valores registrados fueron superiores a 3999 uS/cm.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Los TDS se mantuvieron constantes en el tiempo mostrado un valor mayor a 2000 ppm.

4.3.2. Influencia del oxígeno sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM original

La inyección de oxígeno al DAM original (pH 2.32) no produjo formación de precipitado ni variación en los parámetros fisicoquímicos (pH, EC y TDS). En consecuencia, tampoco hubo variación en la concentración de Fe^{+2} y mucho menos eficiencia de remoción de Fe^{+2}.

4.3.3. Influencia del oxígeno sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 4.0

En la figura 14 se observa los volúmenes de formación de precipitados del tratamiento DAM pH 4.0, los resultados muestran que a las 0 horas se formó 1.90 ml de precipitado y a partir de las 0.5 horas de inyectado el oxígeno existió una disminución constante del precipitado hasta alcanzar el valor de 1.70 ml a las 2 horas, pero a las 2.5 horas el volumen del precipitado se vuelve a elevar a 1.97 ml y decae nuevamente hasta el valor mínimo de 1.63 ml a las 3 horas. Los datos de precipitación se ajustan a una regresión polinómica de cuarto orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 78.9%.

Además, la figura muestra los siguientes resultados; a las 0 horas se tuvo una concentración de hierro soluble de 80.0 mg/L, a las 0.5 horas y 1 horas de inyectado el oxígeno, la concentración es de 61.67 mg/L y 56.67 mg/L (desviación estándar 5.77) con 22.92% y 29.17% de eficiencia de remoción de Fe^{+2}, respectivamente, a partir de ese momento se dio un incremento progresivo de la concentración de Fe^{+2} hasta obtener un valor máximo de 75.00 mg/L con una eficiencia de remoción de 6.25% a las 2.5 horas, sin embargo, a las 3 horas la concentración vuelve a decaer con un valor de 71.67 mg/L. Los datos se ajustan a una regresión polinómica de tercer orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 95.9%.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

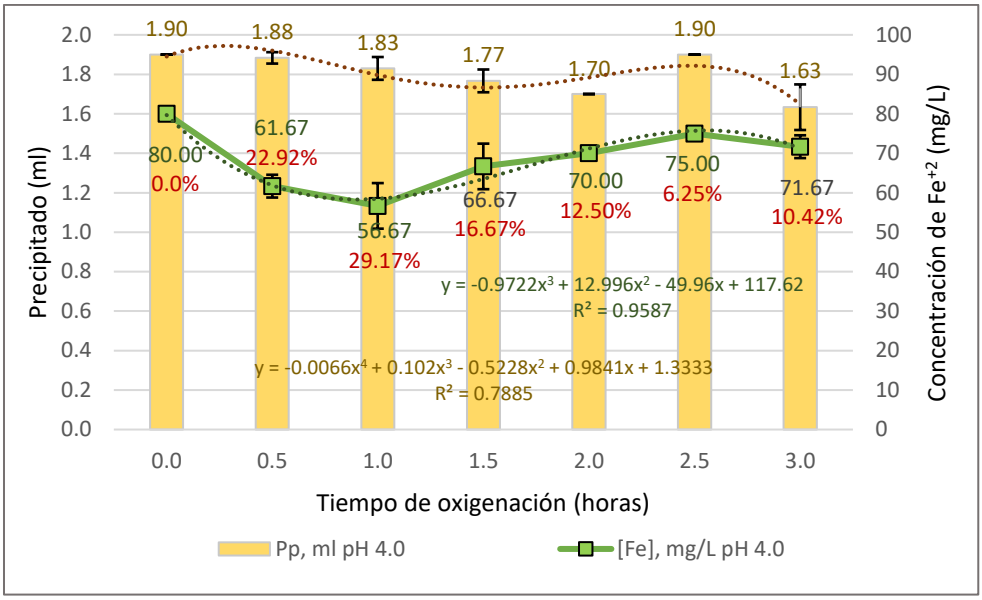


Figura 14. Influencia del tiempo de oxigenación en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 4.0.

4.3.4. Influencia del oxígeno sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 5.5

En la figura 15 se observa el volumen de formación de precipitados del tratamiento DAM pH 5.5, los resultados muestran que a las 0 horas se formó 2.50 ml de precitado y a partir de la 0.5 horas existe una disminución progresiva hasta obtener 2 ml a las 1.5 horas, el cual continúa constante hasta las 3 horas. Los datos se ajustan a una regresión polinómica de segundo orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 93.4%.

Además, la figura muestra resultados de la concentración y eficiencia de remoción de Fe. A las 0 horas se tuvo una concentración de 0.80 mg/L, a las 0.5 horas se poseyó una concentración de 0.61mg/L con una eficiencia de remoción del 23.3% y una desviación estándar de 0.48, a las 1.5 horas se tuvo una eficiencia de remoción del 80.8%, a partir de allí la eficiencia decae debido a que se eleva la concentración de Fe^{+2} hasta obtener un máximo de 0.34 mg/L a las 2.5 horas, pero a las 3 horas se obtuvo el mínimo valor de concentración de Fe^{+2} de 0.03 mg/L con una eficiencia de remoción del 95.8%. Los datos se ajustan a una regresión polinómica de cuarto orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 99.7%.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

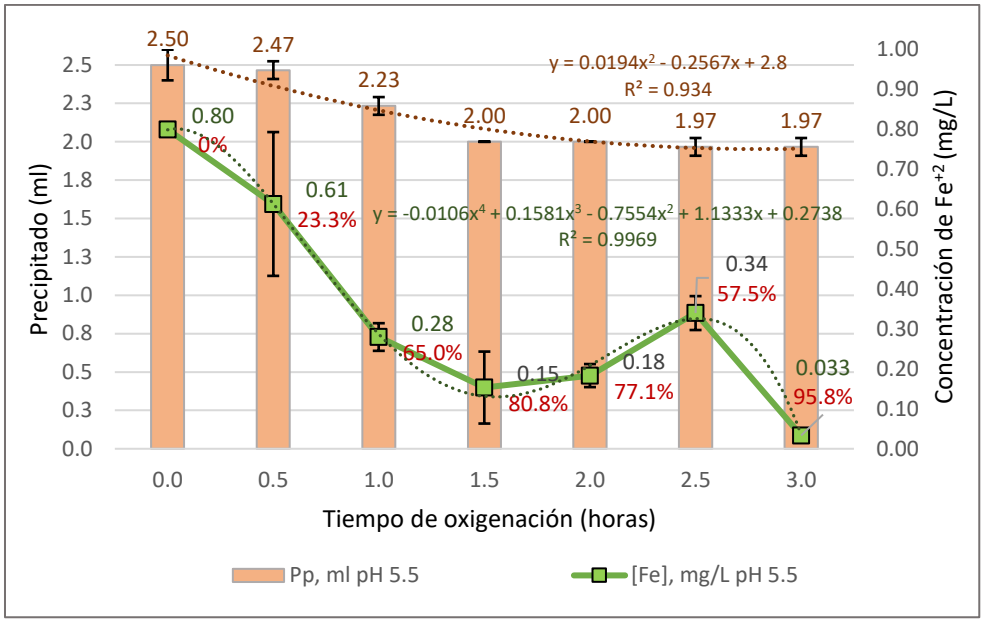


Figura 15. Influencia del tiempo de oxigenación en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 5.5.

4.4. Resultado del tiempo de ozonización (O_3) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

Pasada las 24 horas desde la ozonización se midieron los valores de los parámetros fisicoquímicos, formación de precipitado, concentración y eficiencia de remoción de hierro ferroso de cada uno de los tratamientos.

4.4.1. Influencia de la ozonización en la variación de los parámetros fisicoquímicos del DAM

4.4.1.1. Potencial de hidrógeno (pH)

En la figura 16 se muestra que el pH del DAM original (2.35) no presenta cambios durante los 17 minutos de ozonización. El DAM pH 4.0 inicialmente se llevó a pH 4.5 pero después de 24 horas se observaron los siguientes resultados; a las 0 horas de ozonización el pH es de 4.22, este valor se mantiene poco variable hasta el minuto 7, pues a partir de allí empieza a modificarse ligeramente hasta obtener un valor mínimo de 4.07 a los 17 minutos. Pero en términos generales el pH no varía significativamente Los datos se ajustan a una regresión polinómica

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

de segundo orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 83.5%.

Inicialmente el DAM pH 5.5 tuvo un pH de 7.0 pero después de 24 horas se tuvo los siguientes resultados: a las 0 horas de ozonización el pH se encuentra a 5.45 y se mantiene sin mucha variación hasta el quinto minuto y a partir de allí el DAM empieza a cambiar el pH obteniendo un valor máximo de 5.74 a los 13 minutos. Los datos se ajustan a una regresión polinómica de segundo orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 76.3%.

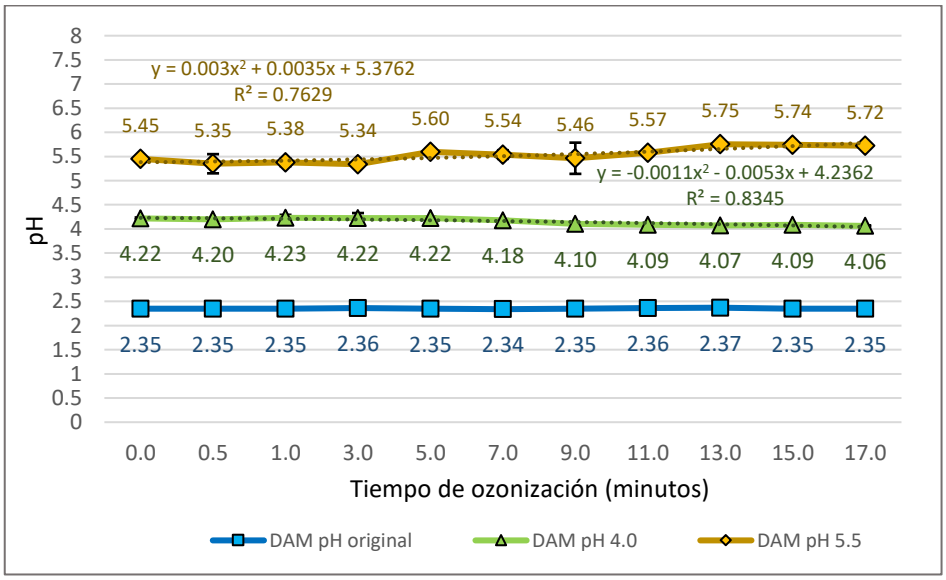


Figura 16. pH (original, 4.0 y 5.5) en función del tiempo de ozonización.

4.4.1.2. Conductividad (EC) y Sólidos Totales Disueltos (TDS)

La conductividad no presentó variación en los tratamientos, los valores registrados fueron superiores a 3999 uS/cm y los TDS se mantuvieron constantes en el tiempo mostrado un valor mayor 2000 ppm.

4.4.2. Influencia del ozono sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH original

La inyección de ozono al DAM original (pH 2.35) no produjo variación en los parámetros fisicoquímicos (pH, EC y TDS) ni formación

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

de precipitados. En consecuencia, tampoco hubo variación en la concentración de Fe^{+2} y mucho menos eficiencia de remoción de Fe^{+2}.

4.4.3. Influencia del ozono sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 4.0

La figura 17 muestra los resultados de los tratamientos DAM pH 4.0, a los 0 minutos se formó 1.88 ml de precipitado y a partir de los 5 minutos se presentó una ligera disminución que continuó hasta obtener 1.73 ml a los 13 minutos, sin embargo, a los 17 minutos vuelve a incrementar el volumen a 1.97 ml. Estos datos se ajustan a una regresión polinómica de tercer orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 81.02%.

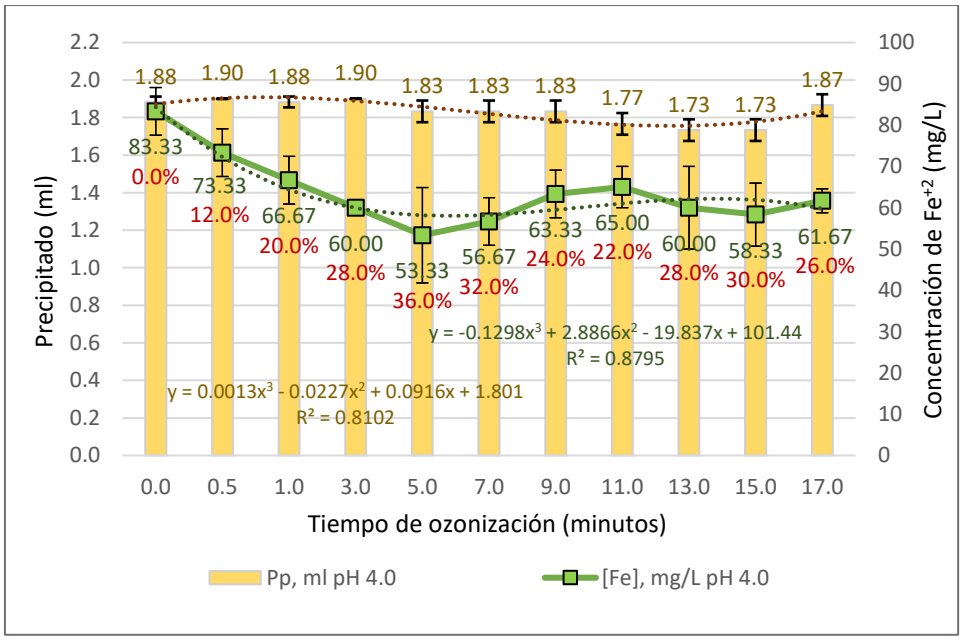


Figura 17. Influencia del tiempo de ozonización en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 4.0.

La inyección de ozono a los tratamientos DAM pH 4.0 muestran que a los 0 minutos la concentración de Fe^{+2} es de 83.3 mg/L la cual posee una desviación estándar de 5.57, pasado 0.5 minutos de ozonizado el DAM, la concentración es de 73.33 mg/L con una eficiencia de remoción de Fe^{+2} del 12.00% y a los 5 minutos se obtuvo la mínima concentración de hierro (53.33 mg/L) con una eficiencia remoción del 32.00% y una desviación estándar de 11.55, a partir de ese momento la concentración vuelve a incrementarse progresivamente hasta los 17 minutos alcanzando una concentración de 61.67 mg/L, el cual que posee una eficiencia de remoción de Fe^{+2} del 26.00%.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Los datos obtenidos se ajustan a una regresión polinómica de tercer orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 88.0%.

4.4.4. Influencia del ozono sobre la precipitación, concentración y eficiencia de remoción de Fe^{+2} del DAM pH 5.5

En la figura 18 se muestran los resultados de la inyección de ozono al DAM pH 5.50, a los 0 minutos se tuvo 2.43 ml de precipitado y a partir del tercer minuto existe una disminución progresiva del volumen de precipitado hasta alcanzar 1.97 ml a los 17 minutos. Estos datos se ajustan a una regresión polinómica de segundo orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 91.8%.

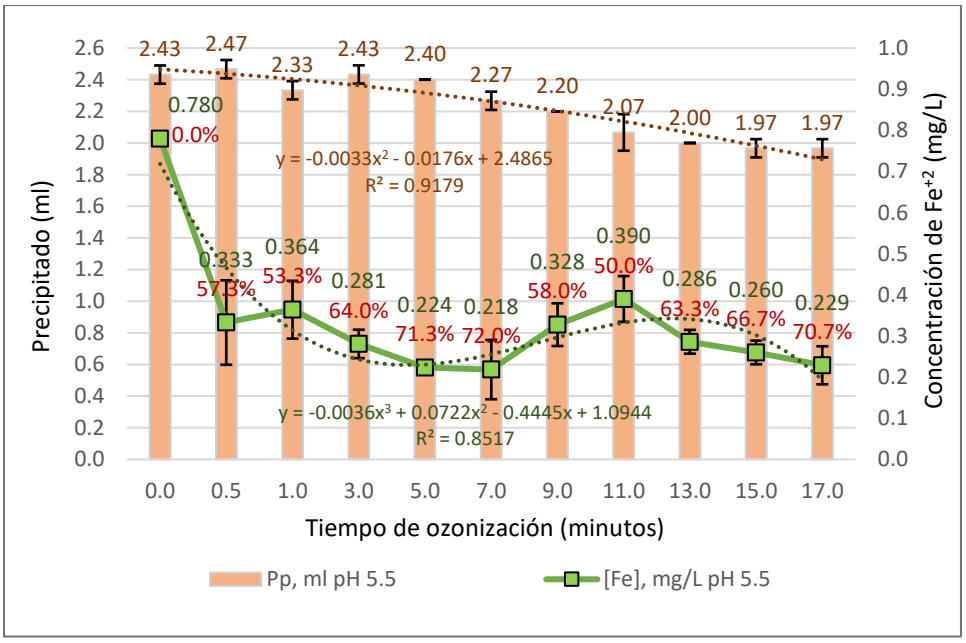


Figura 18. Influencia del tiempo de ozonización en la disminución de hierro ferroso y formación de precipitado del DAM pH 5.5.

La figura también muestra resultados de la concentración de Fe^{+2} y su eficiencia de remoción. Se observa que a los 0 minutos se tuvo una concentración de 0.78 mg/L, a partir del primer minuto se observa una disminución progresiva de la concentración de Fe^{+2} hasta alcanzar una concentración mínima de 0.218 mg/L con una eficiencia del 72.00% y una desviación estándar de 0.10 a los 7 minutos, y a los 17 minutos se posee una concentración de 0.229 con una eficiencia de remoción de Fe^{+2} del 70.7%. Los datos se ajustan a una regresión polinómica de segundo orden con un coeficiente de determinación (R^2) del 91.8%.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

4.5. Resultados del aislamiento, propagación y evaluación de la capacidad oxidante de las bacterias oxidadoras de hierro a pH 3 y 4

Una vez muestreadas las Bacterias Oxidadoras de Hierro de tres zonas que presentaron Drenajes Ácidos de Roca y Mina (Pastoruri, Mesapata y Campanayoc), se procedió a realizar el aislamiento en (i) frascos con 0.3 L de Medio 9K Mod, semisólido y (ii) Aquarium-Fe con 5 L de Medio 9K Mod., semisólido; y, una vez que presentaron su crecimiento logarítmico se realizó el repique en (iii) frascos con 0.2 L de Medio 9K Mod., semisólido y al momento de presentar su crecimiento logarítmico se guardaron en tubos tapa rosca de 13x100 con 0.003 L de Medio 9K Mod., sólido.

Una vez aisladas las BOFe se evaluó su dinámica de crecimiento en frascos con 0.3 L de Medio 9K Mod., sólido, a diferentes concentraciones de sulfato ferroso (solución A). Además, se evaluaron los comportamientos de las BOFe en condiciones de aerobiosis y microaerofilia, en función de la concentración de Fe^{+2}, en el sistema Aquarium-Fe.

4.5.1. Aislamiento y propagación de las BOFe

4.5.1.1. Dinámica del crecimiento de las BOFe en frascos con 0.3 L de Medio 9K Mod., semisólido

Se tomó como referencia la tabla 9, detallada en la metodología para la valorización del crecimiento bacteriano. Se poseen los siguientes resultados:

4.5.1.1.1. Muestras provenientes de Pastoruri

En la tabla 12 se observa la dinámica de crecimiento bacteriano de los 14 puntos provenientes de Pastoruri en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4. Al día 33 el crecimiento del punto P01 al P09 es de alto a notable, sin embargo, a partir del punto P10 al P14 no existe crecimiento de las BOFe, a excepción del punto P11 a pH 4 que presenta un crecimiento en fase inicial.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Tabla 12. Dinámica de crecimiento delas BOFe de Pastoruri en 33 días.

Puntos de muestreo	Código de cultivo	Día					
		1	9	12	19	23	33
P01	P01_pH3	(-)	(-)	(-)	(+2)	(+3)	(+4)
	P01_pH4	(-)	(-)	(-)	(+2)	(+3)	(+4)
P02	P02_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-/+)	(-/+)
	P02_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
P03	P03_pH3	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(+/-)	(+2)
	P03_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(-/+)	(+/-)	(+2)
P04	P04_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(+2)	(+3)
	P04_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(+2)	(+2)	(+3)
P05	P05_pH3	(-)	(-)	(-/+)	(+2)	(+2)	(+3)
	P05_pH4	(-)	(-)	(+/-)	(+)	(+2)	(+3)
P06	P06_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+2)
	P06_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(+/-)	(+2)	(+3)
P07	P07_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(+2)
	P07_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(+3)
P08	P08_pH3	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(+3)	(+4)
	P08_pH4	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(+3)	(+4)
P09	P09_pH3	(-)	(-)	(+/-)	(+)	(+2)	(+3)
	P09_pH4	(-)	(+/-)	(+)	(+)	(+2)	(+3)
P10	P10_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	P10_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
P11	P11_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	P11_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(+/-)	(+/-)	(+)
P12	P12_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	P12_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
P13	P13_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	P13_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
P14	P14_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	P14_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

En la figura 19 se muestra que el crecimiento de las BOFe se da en la mayoría de los puntos Pastoruri y empiezan a crecer a partir del día 12, alcanzando su fase logarítmica del día 15 al día 23, tiempo recomendado para realizar los repiques para las pruebas de eficiencia de remoción de Fe^{+2} y para su almacenamiento.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

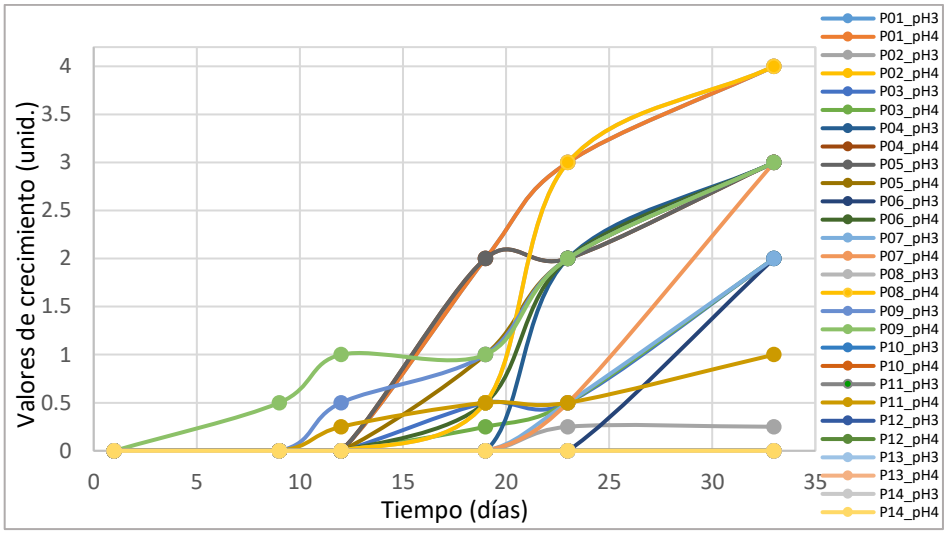


Figura 19. Crecimiento de las BOFe provenientes de Pastoruri.

4.5.1.1.2. Muestras provenientes de Mesapata

En la tabla 13 se observa la dinámica de crecimiento de los 5 puntos provenientes de Mesapata en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4. Los resultados muestran que al día 33 existe crecimiento notable y/o alto en los puntos M05 (F) y M01 a pH 3 y 4; y, en los puntos M02 y M03 solo existe un crecimiento alto a pH 3, mientras que a pH 4 hay un crecimiento bajo y nulo, respectivamente. Por otro lado, en el punto M04 existe poco crecimiento a pH 3 y 4.

Tabla 13. Dinámica de crecimiento de las BOFe de Mesapata en 33 días.

Puntos de muestreo	Código de cultivo	Día					
		1	9	12	19	23	33
M01	M01_pH3	(-)	(-)	(+/-)	(+)	(+2)	(+3)
	M01_pH4	(-)	(-)	(+)	(+2)	(+3)	(+4)
M02	M02_pH3	(-)	(-)	(-)	(+/-)	(+2)	(+3)
	M02_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M03	M03_pH3	(-)	(-)	(-)	(-/+)	(-/+)	(+3)
	M03_pH4	(-)	(-)	(-)	(-/+)	(-/+)	(-/+)
M04	M04_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-/+)	(-/+)
	M04_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-/+)	(-/+)
M05 (F)	M05 (F)_pH3	(-)	(-)	(-/+)	(+2)	(+3)	(+4)
	M05 (F)_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(+2)	(+3)	(+4)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

En la figura 20 se observa que al igual que en las muestras provenientes de Pastoruri, en Mesapata el crecimiento de las BOFe es a partir del día 12, alcanzando su fase logarítmica del día 15 al día 23. Tiempo en el que se realizó los repiques.

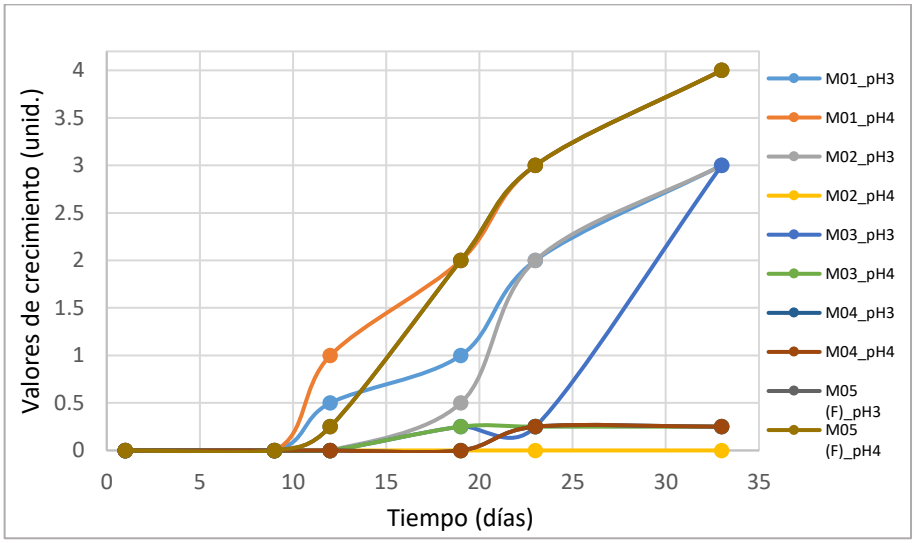


Figura 20. Crecimiento de las BOFe provenientes de Mesapata.

4.5.1.1.3. Muestras provenientes de Campanayoc

En la tabla 14 se observa la dinámica de crecimiento del punto proveniente de Campanayoc, en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4. Los resultados muestran que al día 33 existe crecimiento medio en el cultivo C01 a pH 4 y crecimiento nulo en el cultivo C01 a pH 3.

Tabla 14. Dinámica de crecimiento de las BOFe de Campanayoc en 33 días

Punto de muestreo	Código de cultivo	Día					
		1	9	12	19	23	33
C01	C01 _pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C01 _pH4	(-)	(-)	(+/-)	(+/-)	(+)	(+2)

En la figura 21 se observa que el crecimiento de las BOFe es a partir del día 9, alcanzando su fase logarítmica del día12 al día 23.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

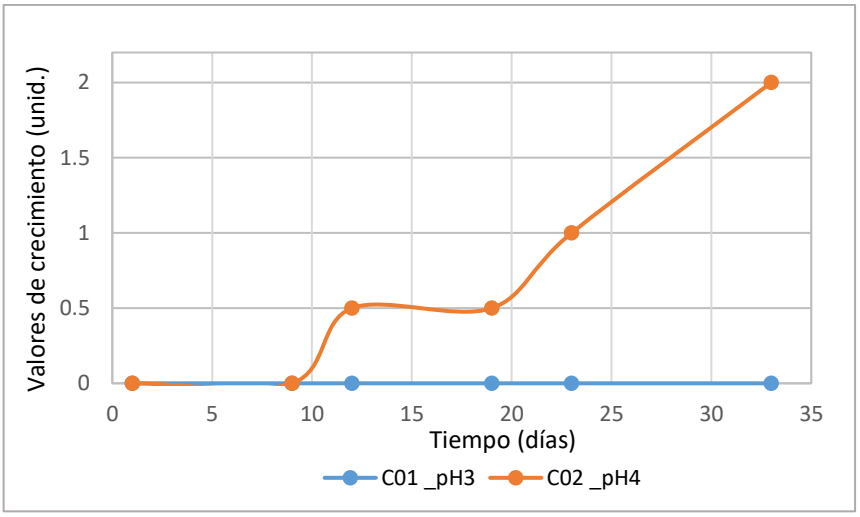


Figura 21. Crecimiento de las BOFe provenientes de Campanayoc.

4.5.1.2. Dinámica del crecimiento de los consorcios bacterianos de hierro repicados en Aquarium-Fe con 5 L de Medio 9K Mod., semisólido.

En la tabla 15 se observa la dinámica de crecimiento del consorcio de BOFe proveniente de Pastoruri, Mesapata y Campanayoc, en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4. Los resultados muestran que al día 33 existe crecimiento notable en el cultivo Aqu_ pH 3 y crecimiento alto en el cultivo Aqu_pH 4.

Tabla 15. Dinámica de crecimiento del consorcio de las BOFe en 33 días

Punto de muestreo	Código de cultivo	Día					
		1	9	12	19	23	33
Pastoruri, Mesapata y Campanayoc.	Aqu _pH3	(-)	(-)	(+/-)	(+2)	(+3)	(+4)
	Aqu _pH4	(-)	(-)	(+/-)	(+2)	(+3)	(+3)

En la figura 22 se observa que el crecimiento de las BOFe es a partir del día 9, alcanzando su fase logarítmica de crecimiento del día 12 al día 23, tiempo en el que se recomienda hacer los repiques para las pruebas y para su almacenamiento.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

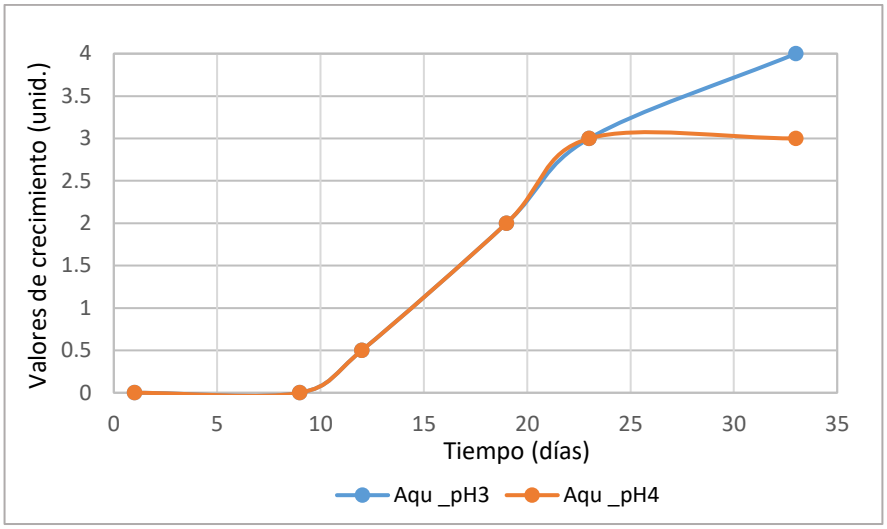


Figura 22. Crecimiento de consorcio de BOFe en Aquarium-Fe, provenientes de Pastoruri, Mesapata y Campanayoc.

4.5.1.3. Dinámica del crecimiento de los consorcios bacterianos de hierro repicados en frascos con 0.2 L de Medio 9K Mod., semisólido.

Durante la fase logarítmica de crecimiento de las BOFe se realizó el repique en frascos con 0.2 L de Medio 9K Mod., semisólido, al momento de incubar se puso a los frascos con el medio en forma inclinada con un ángulo aproximado de 45° (pico de flauta). La valorización del crecimiento bacteriano se realizó en base a la tabla 9.

4.5.1.3.1. Muestras repicadas provenientes de Pastoruri

En la tabla 16 se observa la dinámica de crecimiento de las BOFe proveniente de Pastoruri en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4. Los resultados muestran que al día 16 existe crecimiento alto en la mayoría de los cultivos pero en los cultivos P02 y P11 no hubo crecimiento a pH 3 y 4, así como en el cultivo P03 a pH 3.

Tabla 16. Dinámica de crecimiento de las BOFe de repique de Pastoruri en 16 días.

Puntos de muestreo	Código de cultivo (repique)	Día			
		1	5	10	16
P01	P01b_pH3	(-)	(-)	(-)	(+2)
	P01b_pH4	(-)	(-/+)	(+)	(+3)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P02	P02b_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)
P03	P03b_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)
	P03b_pH4	(-)	(-/+)	(-/+)	(+3)
P04	P04b_pH3	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
	P04b_pH4	(-)	(+/-)	(+/-)	(+2)
P05	P05b_pH3	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
	P05b_pH4	(-)	(+/-)	(+/-)	(+3)
P06	P06b_pH3	(-)	(-)	(+)	(+3)
	P06b_pH4	(-)	(-)	(+/-)	(+3)
P07	P07b_pH3	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
	P07b_pH4	(-)	(-/+)	(+/-)	(+3)
P08	P08b_pH3	(-)	(-/+)	(+/-)	(+3)
	P08b_pH4	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
P09	P09b_pH3	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
	P09b_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(-/+)
P011	P11b_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)

En la figura 23 se observa que el crecimiento de las BOFe en la mayoría de los cultivos empieza a hacerse visible a partir del quinto día, alcanzando su fase logarítmica del día 8 al día 16, tiempo en el que se recomienda hacer los repiques para las pruebas y para su almacenamiento.

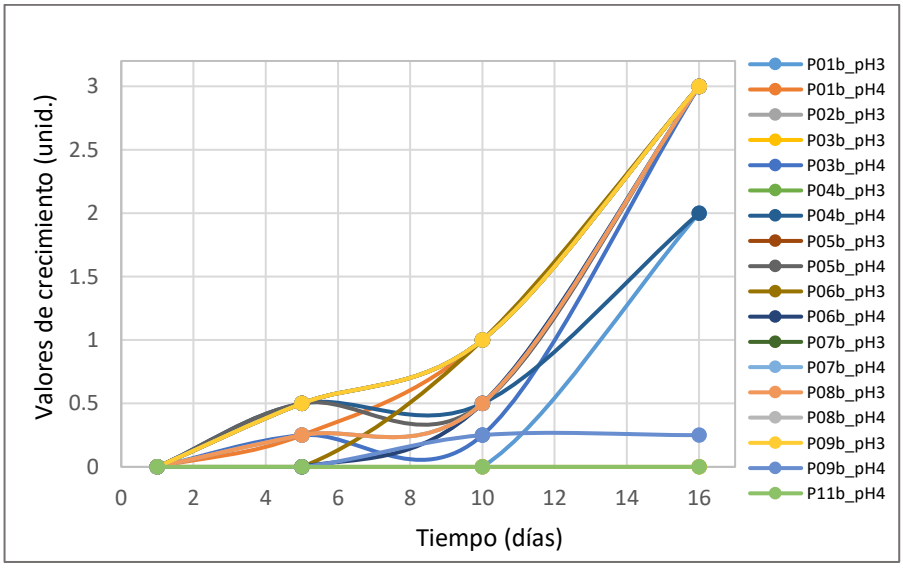


Figura 23. Crecimiento de las BOFe repicadas de Pastoruri.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

4.5.1.3.2. Muestras repicadas provenientes de Mesapata

En la tabla 17 podemos observar la dinámica de crecimiento de las BOFe de repique proveniente de Mesapata en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4. Los resultados muestran que al día 16 existe crecimiento en todos los cultivos, siendo de crecimiento alto en su mayoría.

Tabla 17. Dinámica de crecimiento de las BOFe de repique de Mesapata en 16 días.

Puntos de muestreo	Código de cultivo (repique)	Día			
		1	5	10	16
M01	M01b_pH3	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
	M01b_pH4	(-)	(-/+)	(+)	(+3)
M02	M02b_pH4	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
M03	M03b_pH3	(-)	(-)	(-)	(+)
	M03b_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(+/-)
M04	M04b_pH3	(-)	(-)	(-/+)	(+)
	M04b_pH4	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
M05 (F)	M05(F)b_pH3	(-)	(+/-)	(+)	(+3)
	M05(F)b_pH4	(-)	(-/+)	(+)	(+3)

Al igual que el crecimiento de Pastoruri. En la figura 24 nos muestra que el crecimiento de las BOFe de repique de Mesapata se evidencia a partir del quinto día, alcanzando su fase logarítmica del día 8 al día 16.

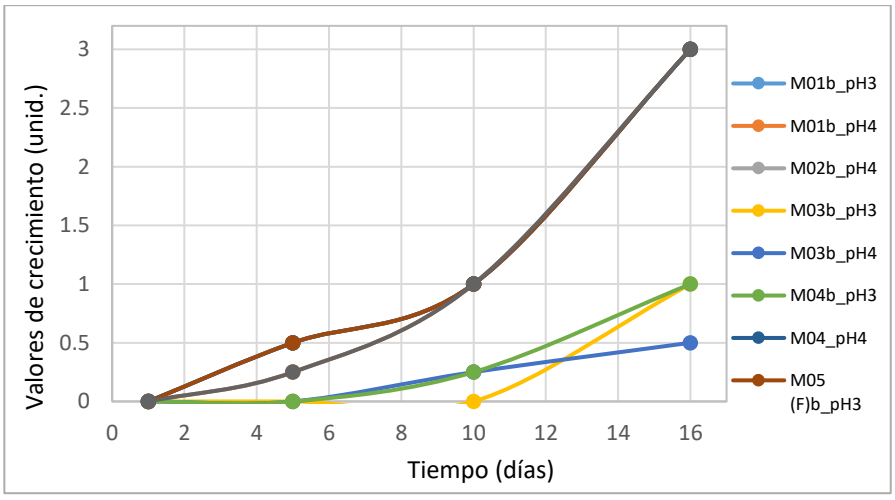


Figura 24. Crecimiento de las BOFe repicadas de Mesapata.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

4.5.1.3.3. Muestras repicadas provenientes de Campanayoc

En la tabla 18 se observa la dinámica de crecimiento de las BOFe de repique proveniente de Campanayoc en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4. Los resultados muestran que al día 16 existe crecimiento alto de las BOFe.

Tabla 18. Dinámica de crecimiento de las BOFe de repique de Campanayoc en 16 días.

Punto de muestreo	Código de cultivo (repique)	Día			
		1	5	10	16
C01	C01 _pH4	(-)	(+/-)	(+)	(+3)

Al igual que el crecimiento de Pastoruri y Mesapata. En la figura 25 muestra que el crecimiento de las BOFe de repique de Campanayoc se da a partir del quinto día, alcanzando su fase logarítmica del día 8 al día 16.

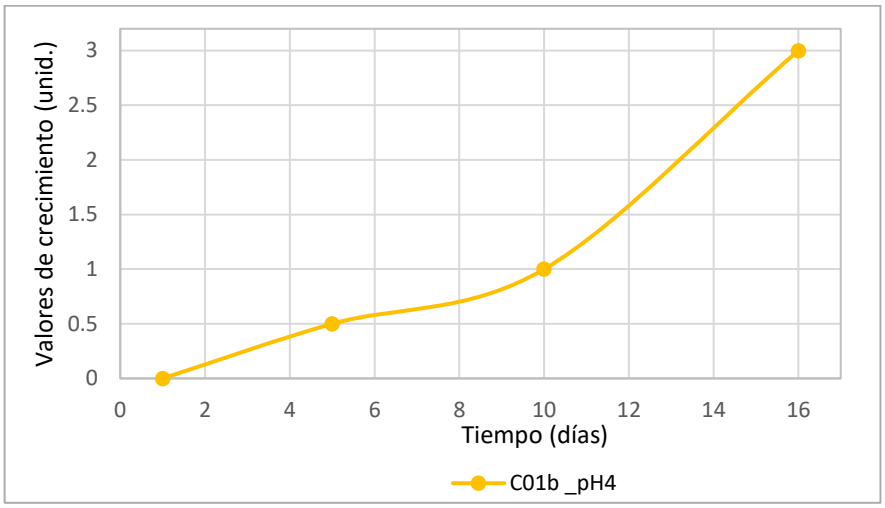


Figura 25. Crecimiento de las BOFe repicadas de Campanayoc.

4.5.1.4. Conservación de cepas de Pastoruri, Mesapata, Campanayoc y consorcio

Se tienen cepas aisladas de las BOFe: 8 de Pastoruri, 6 de Mesapata, 1 de Campanayoc y 2 del Consorcio Pastoruri, Mesapata y Campanayoc, que hace un total de 17. Están

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

conservadas en tubos de 13x100 mm con 0.003 L de Medio 9K Modificado, sólido.

Tabla 19. Cantidad de cepas aisladas de BOFe en Medio 9K Mod., sólido.

Lugares de muestreo	Código de cepas aisladas de BOFe
Pastoruri	P01b_pH3/P01b_pH4
	P03b_pH4
	P04b_pH3/P04b_pH4
	P05b_pH3/P05b_pH4
	P06b_pH3/P06b_pH4
	P07b_pH3/P07b_pH4
	P08b_pH3/P08b_pH4
	P09b_pH3/P09b_pH4
Mesapata	M01b_pH3/M01b_pH4
	M02b_pH3/M02b_pH4
	M03b_pH3/M03b_pH4
	M04b_pH3/M04b_pH4
	M05(F)b_pH3/M05(F)b_pH4
	M05(F)_pH4
Campanayoc	C01b _pH4
Consorcio (Pastoruri, Mesapata y Campanayoc)	Aq_pH3
	Aq-green _pH3
Total, cultivos	**17**

4.5.2. Evaluación de la capacidad oxidante de los consorcios bacterianos de hierro a pH 3 y pH 4

Una vez aisladas y propagadas las BOFe se evaluó su dinámica de crecimiento en frascos con 0.3 L de Medio 9K Modificado sólido, a diferentes concentraciones de sulfato ferroso (solución A), para ello se tomó el consorcio bacteriano a Aq_pH3.

4.5.2.1. Dinámica de crecimiento de BOFe en Medio 9K Modificado a diferentes concentraciones de sulfato ferroso ($FeSO_4$)

En la tabla 20, los resultados muestran que al día 19 hubo crecimiento en todos los cultivos. Además, se observa que por debajo de una concentración de 5 g/L de sulfato ferroso en el medio, se da poco y muy poco crecimiento de las BOFe, mientras

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

que valores mayores e iguales a 5 g/L permite un crecimiento bacteriano de medio a alto. Así mismo, hay una ligera preferencia por el medio a pH 3.

Tabla 20. Crecimiento de consorcios de BOFe a diferentes concentraciones de $FeSO_4$ a pH 3 y pH 4.

Puntos de muestreo	Código de tratamiento ([Fe] g/L)	Día				
		1	4	8	13	19
Fe-Aquarium con consorcio de inóculo (Pastoruri, Mesapata y Campanayoc) a pH3	0.25_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-/+)
	0.25_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(+/-)
	0.5_pH3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-/+)
	0.5_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-/+)
	1.0_pH3	(-)	(-)	(-)	(-/+)	(+/-)
	1.0_pH4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-/+)
	5.0_pH3	(-)	(-)	(-/+)	(+)	(+2)
	5.0_pH4	(-)	(-)	(-/+)	(+)	(+1.9)
	10.0_pH3	(-)	(-)	(-/+)	(+)	(+2.3)
	10.0_pH4	(-)	(-)	(+/-)	(+)	(+2.1)
	20.0_pH3	(-)	(-)	(+/-)	(+)	(+3.0)
	20.0_pH4	(-)	(-)	(+/-)	(+)	(+2.5)

Se puede observar en la figura 26 que a partir del octavo día empieza a crecer las BOFe, alcanzando su fase de crecimiento logarítmico entre los días 10 al 19.

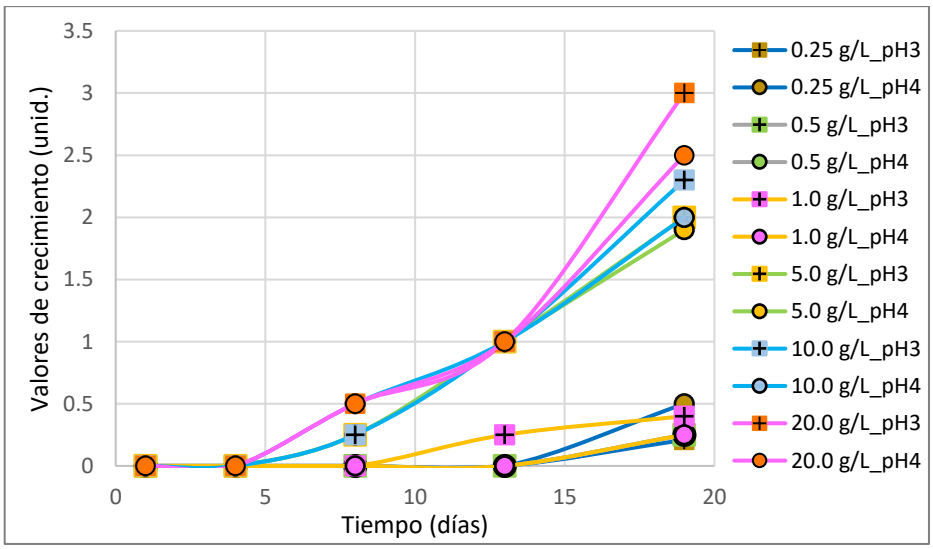


Figura 26. Crecimiento de las BOFe a diferentes concentraciones de $FeSO_4$ a pH 3 y 4.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

4.5.2.2. Comportamiento de las BOFe en condiciones de aerobiosis y microaerofilia, en función a la concentración de Fe^{+2} (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L), en el sistema Aquarium-Fe.

En todos los tratamientos el primer día de instalado el DAM (100 mg/L) por duplicado, se prendió velas a una de ellas para mantener el sistema en condiciones de microaerofilia y a la otra no, para mantenerla en condiciones de aerobiosis.

Así mismo, en las dos primeras semanas de inoculado el consorcio de BOFe no se presenció cambio en la concentración de Fe^{+2}, después de este tiempo se le añadió medio amonio (1.7%) en función a la cantidad indicada en el protocolo del Medio 9K Modificado para el adecuado crecimiento de las BOFe.

4.5.2.2.1. Aquarium-Fe con DAM (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L de Fe^{+2}) en condiciones de aerobiosis

En la figura 27, se observa que a partir de dos semanas de instalado los sistemas Aquarium-Fe, la concentración de Fe^{+2} va disminuyendo en el tiempo.

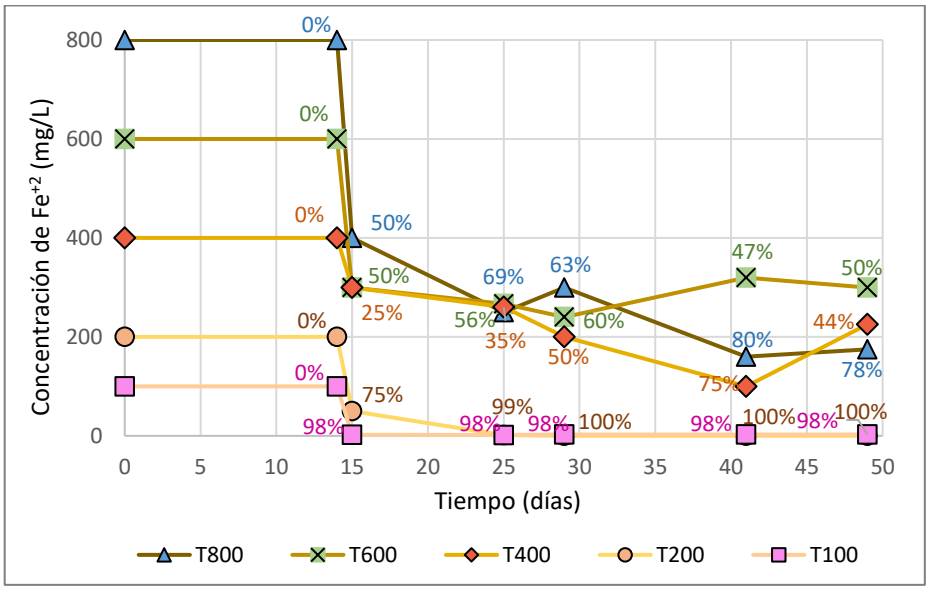


Figura 27. Sistemas Aquarium-Fe en condiciones de aerobiosis.

El tratamiento T100 (100 mg/L de Fe), tuvo una eficiencia de remoción de Fe^{+2} inicial del 98%, el cual se mantuvo hasta el día

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

49, durante el tratamiento se observó el crecimiento óptimo de algas verdes (*cholorophyta*) y el pH inicial que fue de 3 se elevó hasta 7.9. En el tratamiento T200 (200 mg/L de Fe^{+2}), se observa una remoción de Fe^{+2} inicial del 75%, al día 25 la remoción de Fe^{+2} es del 99%, manteniendo ese valor hasta el día 49, también se dio el crecimiento de hongos y algas verdes (*cholorophyta*); el pH inicial de 3 se elevó a 5.

En el tratamiento T400 (400 mg/L de Fe^{+2}), se observa que al día 15 la eficiencia de remoción de Fe^{+2} fue del 25% y al día 41 la eficiencia llegó hasta el 75%, sin embargo al día 49 la eficiencia de remoción bajó al 44%, además se observó el crecimiento de algas verdes (*cholorophyta*), hongos y BOFe; el pH inicial de 3 aumentó a 4. Por otro lado, tanto para el tratamiento T600 (200 mg/L de Fe^{+2}) y T800 (800 mg/L de Fe^{+2}), se observa una eficiencia de remoción de Fe^{+2} del 50%, al día 41 el T800 muestra una eficiencia de remoción de hierro del 80% y el T600 posee 47%, sin embargo al día 49 la eficiencia bajó ligeramente. Se observó menor crecimiento de *cholorophyta* y hongos en T600 y ninguno en T800, pero las BOFe tuvieron mayor crecimiento en T800. En ambos tratamientos el pH inicial de 2.6 se mantiene en el tiempo.

4.5.2.2.2. Aquarium-Fe con DAM (100, 200, 400, 600 y 800 mg/L de Fe^{+2}) en condiciones de microaerofilia

En la figura 28 se observa que a partir de dos semanas de instalado los sistemas Aquarium-Fe, la concentración de hierro ferroso va disminuyendo en el tiempo.

El tratamiento T100 (100 mg/L de Fe^{+2}), tuvo una eficiencia de remoción de Fe^{+2} inicial del 98%, el cual se mantuvo hasta el día 49, durante el tratamiento se observó el crecimiento óptimo de algas verdes (*cholorophyta*) y el pH inicial de 3 se elevó hasta 8. En el tratamiento T200 (200 mg/L de Fe), se observa una remoción de Fe^{+2} inicial del 75%, al día 25 se observa una remoción de Fe^{+2} del 99%, el cual se mantiene hasta el día 49,

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

también se observó el crecimiento de hongos y algas verdes (*cholorophyta*); el pH inicial de 3 se elevó a 5.5.

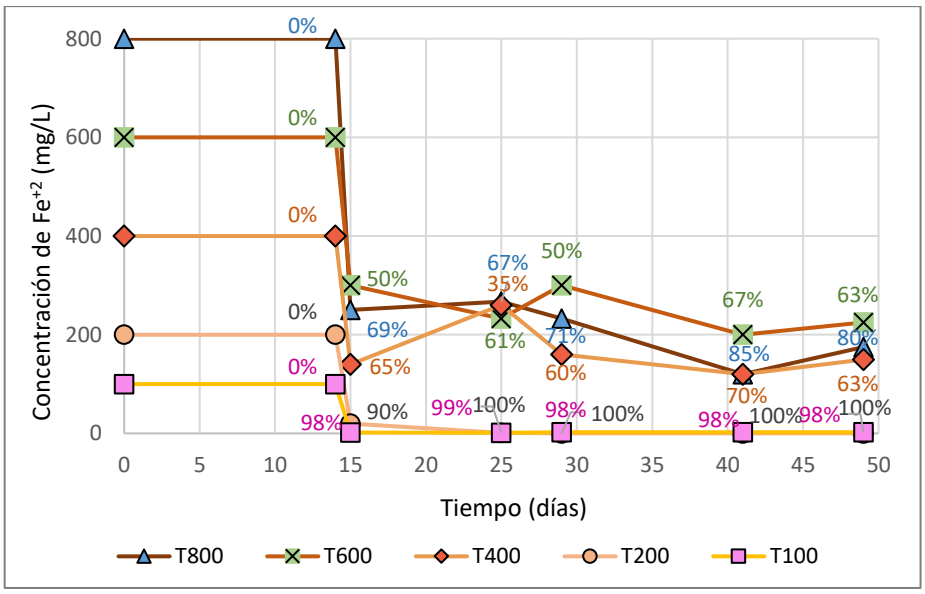


Figura 28. Sistemas Aquarium-Fe en condiciones de microaerofilia.

En el tratamiento T400 (400 mg/L de Fe^{+2}), se observa que al día 15 la eficiencia de remoción de Fe^{+2} fue del 65% y al día 41 llegó hasta el 70%, sin embargo al día 49 la eficiencia de remoción bajó al 63%, además en el sistema se observó crecimiento de algas verdes (*cholorophyta*), hongos y BOFe; y, el pH inicial de 3 aumentó a 4. Por otra parte, el tratamiento T600 (600 mg/L de Fe^{+2}) tuvo una eficiencia de remoción de Fe^{+2} del 50% al día 15, al día 41 se tuvo una eficiencia del 67%, en cambio el T800 (600 mg/L de Fe^{+2}) tuvo una eficiencia de remoción de Fe^{+2} del 69% y al día 41 fue de 85%, sin embargo tanto para T600 y T800 al día 49 la eficiencia disminuyó a 63% y 80%, respectivamente. Además, se observó menor crecimiento de *cholorophyta* y hongos en T600 y ninguno en T800, pero las BOFe crecieron bastante bien. En ambos tratamientos el pH inicial de 2.6 se mantuvo en el tiempo.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

4.5.2.3. Dinámica de crecimiento de las BOFe en los Aquarium-Fe con DAM a diferentes concentraciones de Fe^{+2}.

En la figura 29 los resultados muestran que al día 49 no hubo crecimiento en el T100 y hubo crecimiento bajo en T200. Además, se observa que hay una relación directamente proporcional entre el crecimiento de las BOFe y concentraciones elevadas de Fe^{+2}, puesto que a una concentraciones de 800 mg/L y 600 mg/L se tuvo crecimientos notables y altos, respectivamente. Mientras que a valores de 400 mg/L los crecimientos fueron medios. Así mismo los sistemas Aquarium-Fe en condiciones de microarofilia presentaron mayor crecimiento bacteriano que en condiciones de aerobiosis.

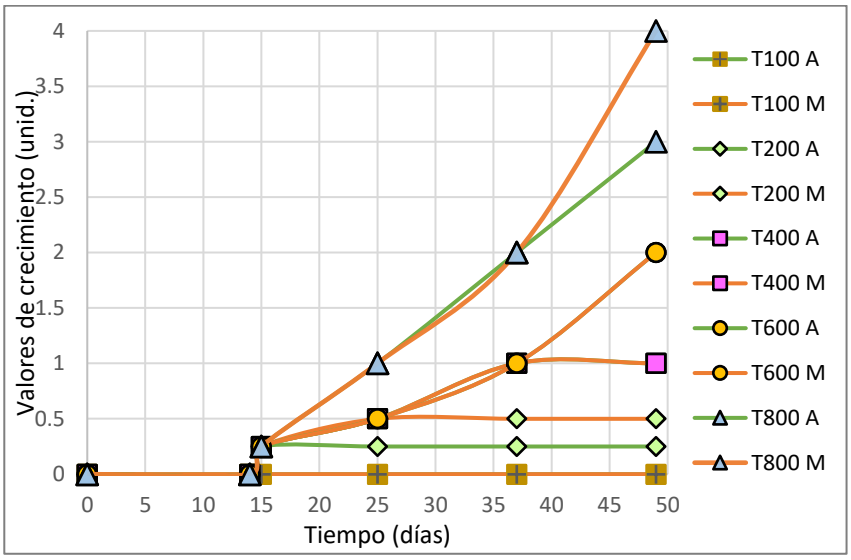


Figura 29. Crecimiento de las BOFe en los Aquarium-Fe con DAM a diferentes concentraciones de Fe^{+2} y en condiciones de aerobiosis y microaerofilia.

4.5.2.4. Dinámica de crecimiento de las BOFe provenientes de los sistemas Aquarium-Fe, en Medio 9K Mod., semisólido.

Una vez que se estabilizaron los Aquarium-Fe, se tomaron muestras de las BOFe en Medio 9K Mod., semisólido. En la figura 30 los resultados muestran que al día 19 existe una relación directamente proporcional entre el crecimiento bacteriano y los BOFe provenientes de sistemas Aquarium-Fe con mayor concentración de Fe^{+2}, puesto que a valores por encima de 400 mg/L. se muestran crecimientos notables a altos y valores por

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

debajo de 400 mg/L, muestran crecimientos bajos y nulos. Por otra parte los BOFe provenientes de los sistemas en condiciones de microaerofilia poseen un ligero crecimiento mayor.

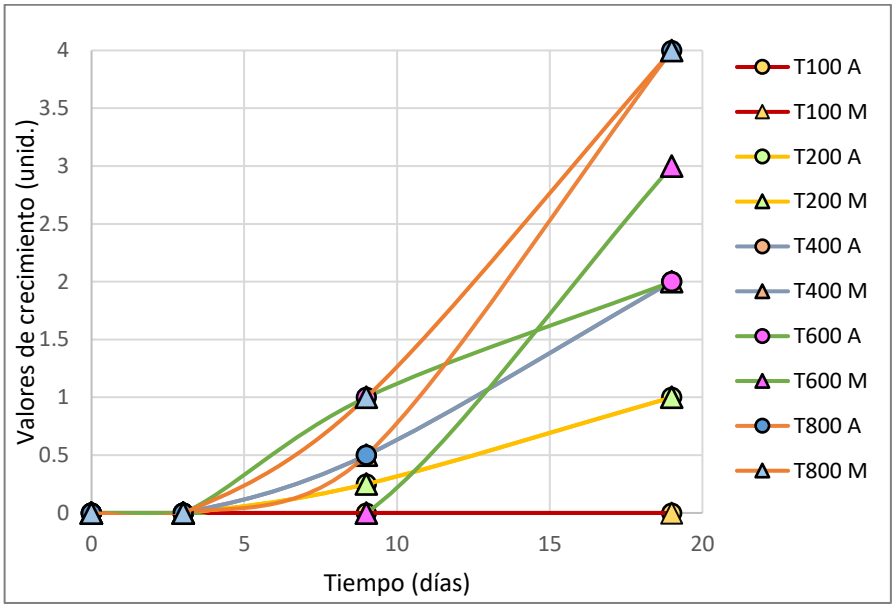


Figura 30. Crecimiento de las BOFe provenientes de los Aquarium-Fe, en Medio 9K Mod., semisólido

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

CAPITULO V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. pH óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

Los resultados obtenidos de la modificación del pH del DAM con NaOH (0.1N, 1N, 10N) para la remoción de hierro, mostraron que existe una relación directamente proporcional entre el pH y la precipitación de Fe^{+2}, ya que, después de 24 horas la precipitación comenzó a partir de un pH final de 2.50 y a pH mayores de 4.52 se presentó una mayor formación de precipitado, puesto que al añadir una sustancia alcalina para elevar los niveles de pH este forma hidróxidos metálicos insolubles y causa su precipitación (Skousen et al., 1998). Algunos de los hidróxidos metálicos que podrían haberse formado son el hidróxido férrico ($Fe(OH)_3$, el arseniato férrico simple ($FeAsO_4$) e), o arseniato férrico básico ($FeAsO_4 \cdot xFe(OH)_3$), dependiendo de las relaciones molares As/Fe (Lawrence & Higgs, 1999), también se formarían precipitados de aluminio en un rango de pH de 4.0 a 5.5 (Balintova & Petrilakova, 2011) y de acuerdo a Sheremata y Kuyucak (1996), citado en Balintova y Petrilakova (2011), precipitados de zinc en un rango de pH entre 5.5 y 7.0. Además, en los resultados se observa fluctuaciones de volumen de precipitado a pH más alcalinos, ello puede deberse a que ciertos hidróxidos como el $Al(OH)_3$ se vuelven a disolver a soluciones más alcalinas (Crittenden & Montgomery, 2012).

Los resultados también demuestran que la alcalinización del pH es inversamente proporcional a la concentración de Fe^{+2}, y a valores superiores de pH 4.52 se presentaron concentraciones de Fe^{+2} por debajo de 2 mg/L alcanzando una eficiencia de remoción de Fe^{+2} de hasta 99.9%. Crittenden y Montgomery (2012), mencionan que el Fe^{+2} precipita a partir de un pH 4.5. Por otro lado, estudios realizados por Balintova y Petrilakova (2011) muestran que la precipitación del Fe^{+2} empieza a pH 3.5 y a un pH de 4.05 se llega a una eficiencia de remoción del 97.16%. Así mismo Wei et al. (2005) obtuvo una eficiencia de remoción del 98.6% en un rango

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

de pH entre 3.5 y 4.0, usando NaOH como base para modificar el pH. Montesinos (2019), optó por neutralizar el drenaje ácido hasta pH 6.0 para retirar las fases sólidas del Fe y Al formadas, porque a pH más alcalinos estos resolubilizarían.

Los parámetros fisicoquímicos (pH, EC, TDS), no presentaron cambios muy perceptibles antes y durante la modificación del pH, aunque el pH se vio acidificada en el tiempo, esto podría deberse al consumo del NaOH (0.1N, 1N, 10N) y a la producción de acidez por la oxidación del S presente en el DAM (Crittenden & Montgomery, 2012; Aduvire, 2006). En los casos de EC y TDS llegaron a poseer valores superiores a 3999 uS/cm y 2000 ppm; respectivamente, durante todo el tratamiento, esto pudo deberse a las cantidades elevadas de otros metales presentes (As, Zn, Mn, AL, etc.) que no llegaron a precipitar.

De acuerdo a los a los resultados obtenidos en la investigación, el pH óptimo para la remoción de hierro varía entre 4.52 y 5.61, poseyendo eficiencias de remoción de hierro de 94.6% y 99.9%; respectivamente; además, dentro de ese rango se formó menos cantidad de precipitado y se consumió menor cantidad de NaOH que a tratamientos más alcalinos.

5.2. Tiempo de oxigenación (O_2) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

De acuerdo a los resultados de la inyección de oxígeno (1 L/min) para la remoción de hierro soluble del DAM se tiene que; la oxigenación al DAM original (pH 2.32) no modifico los parámetros fisicoquímicos (pH, EC y TDS), tampoco produjo formación de precipitados; en consecuencia, no hubo remoción de Fe^{+2} y mucho menos eficiencia de remoción de Fe^{+2}. Esto pasó debido a que la eficacia de la inyección de oxígeno para oxidar Fe^{+2} es dependiente del pH; ya que, la oxidación inorgánica es lenta por debajo de aproximadamente 5; de acuerdo a ello, para la remoción de Fe^{+2} por oxigenación usualmente se combina con un tratamiento químico que permita neutralizar el drenaje ácido (Skousen et al., 1998).

De los resultados a DAM pH 4.0 se determinó que el tiempo óptimo de inyección de oxígeno se encuentran entre la 0.5 y 1 hora; puesto que, a esos tiempos se poseen las eficiencias más altas de remoción de Fe^{+2}, siendo 22.92% y 29.17%, respectivamente, después de la primera hora, la eficiencia disminuye progresivamente. En base a ello, se observa que a mayor tiempo de contacto del oxígeno con el DAM, el Fe resolubiliza, esto puede deberse a que el oxígeno

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

inyectado oxidó al S remanente y este fue formando acidez permitiendo que el Fe precipitado se vuelva nuevamente soluble (Aduvire, 2006).

Los resultados del DAM pH 5.5 determinaron que el tiempo óptimo de inyección de oxígeno se encuentra entre la 1.0 y 1.5 horas, debido a que estos tiempos poseen las más altas eficiencias de remoción de Fe^{+2}, siendo 65.0% y 80.8%, respectivamente, luego de ese tiempo la eficiencia disminuyó progresivamente. Fuentes (2013) tuvo como resultado que la mayor eficiencia de la oxidación de hierro ferroso en drenaje ácido a pH 7.3 se dio en la segunda hora de aireación, y después de este tiempo esta se volvió lenta. En su trabajo usó caudales de 9.2 (L/min) con una remoción del 66.72% y caudal de 3.7 (L/min) con una remoción del 51.14% a las dos horas de aireación, después de ese tiempo la eficiencia disminuyó. Se debe tener en cuenta que en la aireación se posee menos porcentaje de oxígeno que en la oxigenación directa, y en algunos casos solo la aireación es suficiente cuando el drenaje está cercano al pH alcalino (Skousen et al., 1998), posiblemente por ello los tiempos óptimos obtenidos en la investigación son menores que los obtenidos por Fuentes (2013).

Por otra parte, tanto a DAM pH 4.0 como a DAM pH 5.5, los precipitados disminuyen respecto a las 0 horas, Hou et al. (2020) menciona que algunos precipitados metálicos formados previamente en el DAM ($Al(OH)_3$) pueden llegar a resolubilizarse, de modo que disminuye el volumen de precipitado formado. Además, los parámetros fisicoquímico medidos como el pH, EC y TDS, no presentaron cambios muy perceptibles antes y durante la inyección de oxígeno, aunque el pH se vio acidificada en el tiempo, esto puede deberse al consumo del neutralizante químico (NaOH) añadido en el DAM (Crittenden & Montgomery, 2012) y a la generación del ácido. En caso de EC y TDS llegaron a poseer valores superiores a 3999 uS/cm y 2000 ppm, respectivamente, durante todo el tratamiento, esto pudo deberse a las cantidades elevadas de otros metales presentes en el DAM que no llegaron a precipitar (ANEXO 3: Informe de ensayo N° 160760 - 2022 S.A.G.).

En base a los resultados obtenidos de la oxigenación del DAM, se observa en términos generales, una menor eficiencia de remoción de Fe^{+2} a pH 4.0 (22.92% y 29.17%) que a pH 5.5 (65.0% y 80.8%), puesto que la oxidación inorgánica es lenta por debajo de aproximadamente pH 5 (Skousen et al., 1998), y a valores de pH más alcalinos el oxígeno disuelto provoca mayor oxidación del Fe^{+2} (Crittenden & Montgomery, 2012). Comparando ambos resultados, la sinergia entre el pH y tiempo

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

de oxigenación, el óptimo para la remoción de Fe^{+2} se encuentra entre la 1 y 1.5 horas con un pH final de 5.5.

5.3. Tiempo de ozonización (O_3) óptimo para la remoción de Fe^{+2} del DAM

De acuerdo a los resultados de la inyección de ozono (2.15 L/min) para la remoción de Fe^{+2}. La ozonización del DAM original (pH 2.35) no produjo la variación de los parámetros fisicoquímicos (pH, EC y TDS), tampoco la formación de precipitados ni disminución en la concentración de Fe^{+2} y mucho menos eficiencias de remoción de Fe^{+2}. El ozono es un oxidante químico muy potente y es recomendado para la remoción rápida de metales disueltos como el Fe^{+2}, Mn^{+2}, S^{-2}, NH_3, etc, (Rodríguez Vidal, 2003; Ricaurte, 2006). Sin embargo, en la investigación se demostró que el ozono es dependiente del pH; puesto que, a pHs muy ácidos no llega a precipitar al Fe^{+2}; entonces, el tratamiento debe estar acompañado de una alcalinización del drenaje ácido.

Los resultados del DAM pH 4.0 determinaron que el tiempo óptimo de inyección de ozono se encuentra entre 3.0 y 5.0 minutos, puesto que, esos tiempos de contacto poseen las eficiencias más altas de remoción de Fe^{+2}, siendo 28.0 % y 36.0%, respectivamente. A partir de los 5.0 minutos la eficiencia disminuye progresivamente, su causa se debería a la oxidación del S por el ozono (Rodríguez Vidal, 2003), dando como resultado la formación de acidez por el ácido sulfúrico generado, el cual promueve la resolubilización del Fe^{+3} formado (Crittenden & Montgomery, 2012).

Para el caso del DAM pH 5.5 los resultados mostraron que la mayor eficiencia de remoción de Fe^{+2} se da entre los 5 y 7 minutos, con 71.3 % y 72.0%; respectivamente, a partir de allí la eficiencia va disminuyendo progresivamente, debido a que el ozono es un oxidante potente y genera acidez por la oxidación de azufre remanente que puede llegar a formar ácido sulfúrico. Así mismo los tiempos óptimos son más cortos comparado con la oxigenación; porque, el ozono es muy volátil y poco soluble en el agua por lo que se lo utiliza en pequeños periodos de tiempo en minutos y en el caso del Fe^{+2}, Mn^{+2} y compuestos de As, la oxidación ocurre mucho más rápido (Ricaurte 2006).

Así mismo, tanto a DAM pH 4.0 como a DAM pH 5.5, los precipitados disminuyeron respecto a las 0 horas. Se observó, que a pesar de que bajó la precipitación también bajó la concentración de Fe^{+2}, ya que en el DAM no solo se encuentran el Fe sino también metales como el As, Mn, Zn, Al, etc. (ANEXO 3:

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Informe de ensayo N° 160760 - 2022 S.A.G.), estos metales pudieron precipitar al principio en forma de hidróxidos y después resolubilizaron a medida que se inyectaba el ozono. (Crittenden & Montgomery, 2012). Por otra parte y de manera similar que en la inyección de oxígeno, los parámetros fisicoquímico medidos como el pH, EC, TDS, no presentaron cambios muy perceptibles antes y durante la inyección de oxígeno, aunque el pH se vio acidificada en el tiempo, esto puede deberse al consumo del NaOH (1N, 10N) añadido en el DAM y a la formación de acidez(Crittenden & Montgomery, 2012).

En base a los resultados obtenidos de la ozonización del DAM, se observa en términos generales que existe una menor eficiencia de remoción de Fe^{+2} a pH 4.0 (28.0 % y 36.0%) que a pH 5.5 (71.3 % y 72.0%), esto puede deberse a que la descomposición del ozono en el agua está afectada por el pH inicial de la solución, debido a que se van formando radicales OH cuando el ozono se descompone a valores altos de pH y estos radicales tienen un alto poder oxidante (De Souza et al., 2010). Comparando ambos resultados, la sinergia entre el pH y tiempos de ozonización óptimos para la remoción de Fe^{+2} se da entre las 5.0 y 7.0 minutos con un pH final de 5.50.

5.4. Aislamiento, propagación y evaluación de la capacidad oxidante de las bacterias oxidadoras de hierro a pH 3 y 4

5.4.1. Aislamiento y propagación de las BOFe

Las BOFe provenientes de Pastoruri sembradas en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4, mostraron en su mayoría crecimiento alto en los 9 primeros puntos y sobre todo las tomadas de los TIFs. Las zonas de muestreo presentaron drenajes ácidos con mayor concentración de Fe^{+2} (16-35 mg/L) y pH ácidos (2.96-5.57). Por otra parte, desde el punto 10 al 14 las BOFe no presentaron crecimiento alguno, las muestras tomadas de estos puntos fueron sedimentos de humedales naturales y presentaron menor concentración de Fe^{+2} (0.2-4mg/L) y pH menos ácido (5.78 - 6.21). De manera similar Sheng et al. (2017) recolectó las BOFe de sedimentos y TIFs de drenajes con concentraciones de Fe^{+2} entre 92.3 y 114 mg/L y pH entre 2.89 y 3.37, las bacterias recolectadas tuvieron muy buen crecimiento en los biorreactores y presentaron altas tasas de oxidación en condiciones de pH bajo y altas concentraciones de Fe^{+2}.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Las BOFe provenientes de Mesapata sembradas en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4 mostraron un crecimiento alto en los 5 puntos de muestreo, las muestras tomadas fueron sedimentos, TIFs y precipitados de hierro; las zonas de muestreo presentaron drenajes con una concentración de 800 mg/L de Fe^{+2} y 2.56 de pH. De acuerdo a Aziz et al. (2020) las BOFe crecen en grupos o esteras grandes y existen una gran diversidad de ellas, cada una con cierta afinidad al hierro ferroso, temperatura y pH óptimo (Sandström & Mattsson, 2001); y, Blight y Ralph (2008) menciona que las BOFe tienden a crecer mejor en ambientes con mayor Fe^{+2}.

Las BOFe provenientes de Campanayoc sembradas en Medio 9K Mod., mostraron crecimiento alto solo a pH 4. Las muestras tomadas fueron precipitados de hierro y se encontraron en drenajes con altas concentraciones de Fe^{+2} y a un pH de 4.45; por lo tanto, al sembrarse en un pH similar al encontrado tuvo más oportunidades de crecer (Perez, 2016). Por otra parte el crecimiento del consorcio de BOFe proveniente de Pastoruri, Mesapata y Campanayoc, en Medio 9K Mod., a pH 3 y 4, tuvieron un crecimiento notable a pH 3 y alto a pH 4, debido a que un consorcio (cultivo mixto) tiene más posibilidades de un crecimiento óptimo (Rowe & Johnson, 2008) y más aun si se encuentran a pHs muy ácidos (mayor concentración de Fe^{+2}) (Sheng et al., 2017).

El crecimiento bacteriano de los puntos muestreados (Pastoruri, Mesapata, Campanayoc y consorcios) en los frascos con 0.3 L de Medio 9K Mod., se evidenciaron a partir del día 12, alcanzando su fase logarítmica de crecimiento del día 15 al día 23, este tiempo es similar al obtenido por Perez (2016) durante el aislamiento de las BOFe, ella observó el crecimiento bacteriano entre los días 14 y 25. Para el caso de los repiques (0.2 L de Medio 9K Mod.) se observó un crecimiento en menor tiempo, a partir del día 5, alcanzando su fase logarítmica del día 8 al 16, esto podría explicarse por la capacidad de las bacterias a superar la fase de adaptación o fase Lag, donde su metabolismo se llegó a adaptar a las nuevas condiciones ambientales del Medio 9K Modificado; por lo que, crecieron en menor tiempo (Perez, 2016).

Las cepas de las BOFe conservadas a pH 3 y 4 fueron: 8 de Pastoruri, 6 de Mesapata, 1 de Campanayoc y 2 del consorcio Pastoruri, Mesapata y Campanayoc, haciendo un total de 17. Las bacterias conservadas que

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

podrían estar presentes son los *Acidithiobacillus ferroxidans,* debido a que oxidan el Fe^{+2} a pH ≤ 3.5 y en la interfaz anóxica-oxica (microaerofílica) (Liang et al., 1993). Otras bacterias que puede estar presentes son del genero *Leptospitillum*, que son consideradas aerobias estrictas y crecen en un rango de 1.5 a 4 de pH (Hallberg, 2003, citado en Arias et al., 2012, p. 60). En general existen una diversidad considerable de BOFe, cada uno con diferentes afinidades por el hierro ferroso, temperatura y pH óptimo, etc.(Sandström & Mattsson, 2001); además, la vía de oxidación microbiana de Fe^{+2} aún no se ha identificado para todos los oxidantes de hierro (Bonnefoy & Holmes, 2012; Ilbert & Bonnefoy, 2013).

Así mismo, Rowe y Johnson (2008), mencionan que se ha llegado a descubrir una nueva cepa bacteriana aislada del *Ferrovum,* el cual tuvo una de las tasas de oxidación más altas en comparación con el *At. ferrooxidans*, bajo condiciones similares. Por lo tanto, nuevas bacterias oxidantes del hierro podrían tener un mayor potencial para la remediación del DAM que el conocido *At. ferrooxidans*, de acuerdo a ello se tendría en cuenta que en las cepas conservadas en la investigación podría haber microorganismos más eficientes que las BOFe conocidas.

5.4.2. Evaluación de la capacidad oxidante de los consorcios bacterianos de hierro a pH 3 y pH 4

Los resultados de la dinámica de crecimiento de BOFe (consorcio) en Medio 9K Mod., a diferentes concentraciones de sulfato ferroso ($FeSO_4$) mostraron que por debajo de una concentración de 5 g/L de $FeSO_4$ en el medio, se da poco y muy poco crecimiento de las BOFe, mientras que a valores mayores e iguales a 5 g/L permitieron un crecimiento bacteriano de medio a alto. Quatrini et al. (2007), Blight y Ralph (2008) y Gyllenberg (1971) exponen que los medios de cultivo para los procariotas acidofílicos necesitan contener preferentemente sales de sulfato ferroso; es decir, altas concentraciones de Fe^{+2}. Así mismo, Blight y Ralph (2008), mencionaron que la concentración variable del $FeSO_4$, impacta en el crecimiento e inhibición de las BOFe; por lo que, se debería tener en cuenta la importancia de conocer los efectos limitantes de los nutrientes para el tratamiento biótico de drenajes ácidos (Klein et al., 2013; Sandström & Mattsson, 2001)**.** Cabe mencionar, que las bacterias sembradas a diferentes concentraciones de $FeSO_4$

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

crecieron a partir del día 8, alcanzando su fase de crecimiento logarítmico entre los día 10 y 19; puesto que, las bacterias podrían haber llegado a adaptarse al Medio 9K Mod., (Perez, 2016). Por otro lado las BOFe tuvieron mayor crecimiento en Medio 9K Mod., a pH 3 que a pH 4; dado que, en el consorcio inoculado predominaron las bacterias acidófilas a pH 3.

De acuerdo a los resultados del comportamiento de las BOFe en los sistemas Aquarium-Fe con DAM a concentraciones de 100, 200, 400, 600 y 800 mg/L de Fe^{+2} y en condiciones de aerobiosis y microaerofilia, se observaron que a partir de los 15 días de instalado el sistema el Fe^{+2} empezó a disminuir. Cabe recordar, que en cada sistema Aquarium-Fe, se inocularon 0.2 L de consorcio de BOFe (Pastoruri, Mesapata y Campanayoc); porque, Rowe y Johnson, (2008), indicaron que los cultivos mixtos poseen más oportunidades de remoción de Fe^{+2} que los cultivos puros; además, se añadieron 0.425 L de medio amonio (1.7%); debido a que el nitrógeno es un nutriente importante para el crecimiento de las BOFe y debe estar en forma de amonio (Blight & Ralph, 2008, Gyllenberg, 1971; Tuovinen et al., 1979).

Para el caso de los Aquarium-Fe con DAM a concentraciones de 100 mg/L y 200 mg/L de Fe^{+2}, se observaron que llegaron a poseer remociones muy altas de Fe^{+2} de hasta el 99.9% al día 49, sin embargo, a pesar de haberse inoculado las BOFe la reducción de Fe^{+2} podría no haberse dado por oxidación de las BOFe; puesto que, el pH final terminó siendo de 7.9 y 5 para aerobiosis y 8 y 5.5 para microaerofilia, respectivamente, éstas condiciones de pH no propician la oxidación biótica sino la abiótica, debido a que a pH superior a 4.5 el Fe^{+2} se oxida a Fe^{+3} (Crittenden & Montgomery, 2012). El pH se podría haber elevado por añadir el medio amonio 1.7% a los sistemas diluidos del DAM. Por otro lado, durante los 49 días de evaluación del sistema se observaron el crecimiento de hongos y algas verdes (*cholorophyta*), mas no se formaron biopelículas de BOFe. Para comprobar esta teoría se tomaron muestras de los Aquarium (100 mg/L y 200 mg/L) y se sembraron en Medio 9K Mod., los resultados mostraron que no hubo crecimiento de las BOFe obtenidas de T100 y solo hubo crecimiento medio obtenidas de T200. Esto puede explicarse que al estar las BOFe en medios con alto contenido de Fe^{+2} (Medio 9K Mod.), y al inocularlas en medios poco favorables, podrían llegan a perecer, por lo que antes de inocularlas en estos sistemas se recomendaría

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

realizar un acondicionamiento progresivo de ellas a condiciones bajas de Fe^{+2} (Blight & Ralph, 2008).

Para el caso de los sistemas Aquarium-Fe con DAM a 400 mg/L y 600 mg/L de Fe^{+2}, llegaron a tener eficiencias muy altas de remoción de Fe^{+2}. Al día 49 el T400 en condiciones de aerobiosis llegó a tener 44% de eficiencia de remoción de Fe^{+2} y en condiciones de microaerofilia a 63%. Para el caso de T600, a condiciones de aerobiosis llegó hasta un 50% de remoción de Fe^{+2} y en condiciones de microaerofilia a 63%. En ambos casos se observaron que existen mayor eficiencias de remoción de Fe^{+2} en condiciones de microaerofilia (con vela), puesto que la oxidación del hierro ferroso por BOFe (por ejemplo, *Acidithiobacillus ferroxidans*) ocurre en la interfaz anóxica-oxica (microaerofílica) (Liang et al., 1993). Además, Stumm y Morgan (1981) mencionan que el CO_2 es un nutriente esencial para las BOFe y que llega a ser un compuesto limitante para su crecimiento. Por otra parte, durante los 49 días el pH de los sistemas T400 varió de 3 a 4 y para los T600 no varió (2.56), lo que propició condiciones óptimas de desarrollo de las BOFe (Marín, 2019). En el tiempo de evaluación de los sistemas Aquarium-Fe, se observaron el crecimiento de hongos y algas verdes (*cholorophyta*) pero en menor cantidad que en los T100 y T200, además, se formaron biopelículas de BOFe y flóculos de hierro. Por otra parte, los resultados de las muestras sembradas de cada sistema Aquarium-Fe (400 mg/L y 600 mg/L) en Medio 9K Mod., mostraron un crecimiento alto al día 19, corroborando la presencia de BOFe en los sistemas.

Para el caso de los sistemas Aquarium-Fe con DAM a 800 mg/L de Fe^{+2}. Al día 49 se observaron que en condiciones de aerobiosis llegó a un 78 % de remoción de Fe^{+2} y en condiciones de microaerofilia llegó a un 80%, aquí se ve influencia del CO_2 administrado. El pH inicial de 2.56 se encuentra invariable durante los 49 días, brindando condiciones óptimas de crecimiento bacteriano (Marín, 2019). El crecimiento de las BOFe en los sistemas Aquarium-Fe durante los días fue muy perceptible (formación de biopelículas), por otra parte no se observó crecimiento de hongos ni de algas verdes *cholorophyta,* como sí se había visto a concentraciones menores. Por otro lado, los resultados de las muestras sembradas de los sistemas Aquarium-Fe, mostraron un crecimiento notable a los 19 días, corroborando que las BOFe, crecieron en el sistema. Las investigaciones de Sheng et al. (2017)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

mostraron que la máxima remoción de Fe^{+2} superaba el 70% y ocurrieron en un rango de pH entre 2.9 y 3.3. Así mismo, los resultados apuntaron como una alternativa óptima a los biorreactores enriquecidos con microbios acidófilos que oxidan Fe^{+2} para el tratamiento del DAM.

5.5. Determinación de la eficiencia de la sinergia del pH, oxígeno, ozono y las bacterias oxidadoras de hierro en la remoción de Fe^{+2}

De acuerdo a los resultados obtenidos, los tratamientos abióticos (pH, oxigenación y ozonización) están en función del pH del DAM a tratar; puesto que, a pH iniciales inferiores de 3.0 no se produjo la oxidación de Fe^{+2} por oxigenación ni por ozonización. A pH finales mayores de 4.0 si se produjeron la oxidación de Fe^{+2}, pero con eficiencias de remoción no tan altas, a medida que el pH es más neutro o alcalino, mayor es la eficiencia de remoción por oxigenación y ozonización (De Souza et al., 2010; Skousen et al., 1998). De esta manera, existe una acción conjunta (sinergia) del pH con el O_2 y O_3 para la remoción de Fe^{+2} del DAM.

Para el caso del tratamiento abiótico con las BOFe, se observó que las bacterias crecen mejor en ambientes ácidos y en concentraciones altas de Fe^{+2}; por lo que, existe una sinergia de las BOFe con el pH ácido, debido a que a pHs más ácidos mayor es la concentración de Fe^{+2}. No habría sinergia entre la las BOFe con el oxígeno inyectado, debido a que las BOFe son microaerofilicos; crecen en la parte anóxica-óxica en el drenaje con contenido de oxígeno disuelto de menos de 10% (Liang et al., 1993), además en lugar de O_2 necesitan más al CO_2 gaseoso (Stumm & Morgan, 1981). Por otra parte, la sinergia entre las BOFe y el ozono inyectado, no es posible; puesto que el ozono al tener un alto poder oxidante y al ser usado como desinfectante podría llegar a matar a las BOFe (como *At. ferrooxidans* y *Ferrovum myxofaciens)* (Ricaurte, 2006).

Es posible optimizar la remoción de hierro (Fe^{+2}) del DAM del PAM de Mesapata con tratamientos abióticos (pH, O_2 y O_3) y tratamientos bióticos (BOFe), teniendo en cuenta la sinergia con el pH. El tratamiento más óptimo entre todas ellas se debe de elegir en función a los altos costos de la demanda de químicos e instalaciones requeridas para el proceso, mano de obra que menudo se extiende durante décadas (Johnson & Hallberg, 2005; Skousen et al., 2000 ; Skousen et al., 2019). En base a todos los resultados, el tratamiento biótico (BOFe) llegaría a ser un método muy prometedor para ser aplicado *in situ* (Sheng et al., 2017).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

CAPITULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- La formación de precipitado es directamente proporcional a la variación del pH y la concentración de Fe^{+2} y a la eficiencia de remoción de Fe^{+2} son inversamente proporcional a la variación del pH. El pH óptimo para la remoción de hierro ferroso varía entre 4.52 y 5.61, poseyendo eficiencias de remoción de hierro de 94.6% y 99.9%, respectivamente; y, dentro de ese rango hubo menor consumo de NaOH que a tratamientos más alcalinos.

- La oxigenación (1 L/min) y ozonización (2.15 L/min) al DAM original (pH 2.32-2.35) no modificaron los parámetros fisicoquímicos (pH, EC y TDS) ni produjeron formaciones de precipitados; tampoco removieron el Fe^{+2} y no hubieron eficiencias de remoción de Fe^{+2}, por lo que la eficacia de la inyección de oxígeno y ozono para oxidar Fe^{+2} son dependientes del pH, haciendo necesario la alcalinización del DAM antes de la inyección de oxígeno y ozono. El tiempo óptimo de inyección de oxígeno para la remoción de Fe^{+2}se encuentra entre la 1.0 y 1.5 horas a pH final de 5.5, poseyendo eficiencias de remoción de Fe^{+2} de 65.0% y 80.8%, respectivamente. El tiempo óptimo de inyección de ozono se encuentra entre los 5.0 y 11.0 minutos a pH final de 5.5, con eficiencias de remoción de Fe^{+2} de 71.3% y 72.0%, respectivamente.

- Las BOFe provenientes de los puntos de muestreo (TIFs, sedimentos y lodos) que contienen drenajes ácidos con concentraciones mayores de 16 mg/L de Fe^{+2} y pH ácidos (2.56 - 5.57), presentaron crecimiento en el Medio 9K Mod., a pH 3 y 4, mientras las obtenidas en puntos con drenajes ácidos con menor concentración de Fe^{+2} (0.2-4mg/L) y pH menos ácido (5.78 - 6.21) no presentaron crecimiento. Se conservaron 17 cepas de BOFe en el Medio 9K

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Mod., sólido, tanto a pH 3 como a pH 4, siendo 8 de Pastoruri, 6 de Mesapata, 1 de Campanayoc y 2 del Consorcio Pastoruri, Mesapata y Campanayoc.

- La inoculación de consorcio de BOFe a diferentes concentraciones de sulfato ferroso ($FeSO_4$) muestran que por debajo de una concentración de 5 g/L de $FeSO_4$ en el medio se da poco y muy poco crecimiento de las BOFe, mientras que valores mayores e iguales a 5 g/L permite un crecimiento bacteriano de medio a alto, por lo que las BOFe tienden a crecer mejor en ambientes con mayor Fe^{+2}. Las BOFe deben tener condiciones óptimas que favorezcan su crecimiento, como concentraciones altas de Fe^{+2}, nitrógeno en forma de amonio y carbono en forma de CO_2. Los sistemas Aquarium-Fe a pH ácidos (2.56-4) y DAM con 400 mg/L, 600 mg/L y 800 mg/L de Fe^{+2}, mostraron en condiciones de aerobiosis eficiencias de remoción de Fe^{+2} de 44%, 50% y 78%, y en condiciones de microaerofilia las eficiencias de remoción fueron de 63%, 63% y 80%, respectivamente. Siendo mayor la remoción de Fe^{+2} en condiciones de microaerofilia, medios ácidos (pH 2.56-4) y altas concentraciones de Fe^{+2}.

- Es posible optimizar la remoción de Fe^{+2} del DAM del PAM de Mesapata con tratamientos sinérgicos de los factores abióticos (pH, O_2 y O_3) y bióticos (BOFe), teniendo en cuenta la concentración de hierro y pH.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

6.2. Recomendaciones

- Realizar el uso de las BOFe como primer paso para la remediación de DAM, seguido de la neutralización (NaOH) y por último la inyección de oxígeno u ozono.

- Realizar las caracterizaciones genéticas y fisiológicas de las BOFe conservadas en el cepario (Pastoruri, Mesapata, Campanayoc y consorcio) para el análisis de posibles nuevas bacterias con mayor poder oxidante de Fe^{+2}.

- Recuperar el Fe^{+2} oxidado por las BOFe (schwertmannita) para pigmentos, revestimientos y/o catalizadores; y, si precipitan otros metales en suficiente cantidad pueden aprovecharse para la industria y comercio.

- Probar fuentes de amonio a partir de orina, que permitan mejorar tanto el pH y la fuente de nitrógeno de las BOFe, para el tratamiento de DAM y DAR.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aduvire, O. (2006). Drenaje Ácido de Mina: Generación y Tratamiento. In *Instituto Geológico y Minero de España, Dirección de Recursos Minerales y Geoambiente*.

ANA: (Autoridad Nacional del Agua). (2016). Protocolo nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales. In *Ministerio de Agricultura y Riego* (p. 92).

APHA, A. W. (1992). *Métodos Normalizados para el Análisis de Agua y Aguas Residuales*. Editorial Díaz de Santos, S.A.

Arias, V., Rodríguez, C., Ramírez, P., Nonones, E., Salazar, D., Gil, J., Paredes, J., & Jamanca, G. (2012). Aislamiento de bacterias acidófilas a partir del drenaje ácido proveniente de las inmediaciones a las unidades mineras de Julcani y Recuperada, Huancavelica. *Instituto de Investigación (RIIGEO), FIGMMG-UNMSM*, *15*(30), 59–66.

Aziz, H. A., Tajarudin, H. A., Wei, T. H. L., & Alazaiza, M. Y. D. (2020). Iron and manganese removal from groundwater using limestone filter with iron-oxidized bacteria. *International Journal of Environmental Science and Technology*. https://doi.org/10.1007/s13762-020-02681-5

Balintova, M., & Petrilakova, A. (2011). Study of pH influence on selective precipitation of heavy metals from acid mine drainage. *Chemical Engineering Transactions*, *25*(January), 345–350. https://doi.org/10.3303/CET1125058

Banks, D., Younger, P. L., Arnesen, R. T., Iversen, E. R., & Banks, S. B. (1997). Mine-water chemistry: the good, the bad and the ugly. *Environmental Geology*, *32*(3), 157–174.

Barham, R. J. (1997). Schwertmannite: A unique mineral, contains a replaceable ligand, transforms to jarosites, hematites, and/or basic iron sulfate. *Journal of Materials Research*, *12*(10), 2751–2758. https://doi.org/10.1557/JMR.1997.0366

Barron, J., & Lueking, D. R. (1990). Growth and maintenance of Thiobacillus ferrooxidans cells. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*(9), 2801–2806. https://doi.org/10.1128/aem.56.9.2801-2806.1990

Bender, D., Botham, K., Weil, P., Kennelly, P., Murray, R., & Rodwell, V. (2013). *HARPER. Bioquimica ilustrada* (29th ed.). McGraw-Hill.

Berrospi, L. (2019). *Remoción de metales pesados presentes en las aguas ácidas de la laguna Yanamate mediante la aplicación de la dolomita como agente remediante a escala experimental-2019*. Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión.

Blight, K. R., & Ralph, D. E. (2008). Aluminium sulphate and potassium nitrate effects on batch culture of iron oxidising bacteria. *Hydrometallurgy*, *92*(3–4), 130–134. https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2008.02.010

Blowes, D. W., Ptacek, C. J., Jambor, J. L., & Weisene, C. J. (2003). The Geochemistry of Acid Mine Drainage. *Treatise on Geochemistry*, *9*, 149–204. https://doi.org/10.1016/B0-08-043751-6/09137-4

Bonnefoy, V., & Holmes, D. S. (2012). Genomic insights into microbial iron oxidation and iron uptake strategies in extremely acidic environments. *Environmental Microbiology*, *14*(7), 1597–1611. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02626.x

Bouatra, S., Aziat, F., Mandal, R., Guo, A. C., Wilson, M. R., Knox, C., Bjorndahl, T. C., Krishnamurthy, R., Saleem, F., Liu, P., Dame, Z. T., Poelzer, J., Huynh, J., Yallou, F.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

S., Psychogios, N., Dong, E., Bogumil, R., Roehring, C., & Wishart, D. S. (2013). The Human Urine Metabolome. *PLoS ONE*, *8*(9). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073076

Bracho, M., Callejón, A., Hernández, A. C., & Morales, F. (2012). Evaluación de la cinética de precipitación del hierro y manganeso disueltos en aguas subterránea utilizando aire o hipoclorito de sodio como oxidante. In *Fundación de Investigación y Desarrollo de la Universidad Simón Bolívar* (p. 10).

Burbano, L., & Sánchez, L. D. (2003). Remoción de hierro y manganseo por oxidación-filtración para agua potable. In *Seminario Internacional: Visión Integral en el Mejoramiento de la Calidad del Agua.* https://www.m-culture.go.th/mculture_th/download/king9/Glossary_about_HM_King_Bhumibol_Adulyadej's_Funeral.pdf

Caviedes Rubio, D. I., Muñoz Calderón, R. A., Perdomo Gualtero, A., Rodríguez Acosta, D., & Sandoval Rojas, I. J. (2015). Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales. Una Revisión. *Ingeniería y Región*, *13*(1), 73–90. https://doi.org/10.25054/22161325.710

Chandra, A. P., & Gerson, A. R. (2010). The mechanisms of pyrite oxidation and leaching: A fundamental perspective. *Surface Science Reports*, *65*(9), 293–315. https://doi.org/10.1016/j.surfrep.2010.08.003

Crittenden, J. C., & Montgomery, W. H. (2012). Coagulation and Flocculation. *MWH's Water Treatment : Principles and Design.*, 541–640. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52734-9.50012-8

De Souza, S., Bonilla, K., & De Souza, A. (2010). Removal of COD and color from hydrolyzed textile azo dye by combined ozonation and biological treatment. *Journal of Hazardous Materials*, *179*(1–3), 35–42. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.02.053

Ehrlich, H. L. (2002). *Geomicrobiology* (Cuarta ed). Taylor y Francis.

Ford, K. L. (2003). Passive treatment systems for acid mine drainage. *National Science & Technology Center*.

Fresenius, C. R. (1846). *Compendio de análisis química cualitativa o tratado de las operaciones químicas, de los reactivos y de su modo de obrar con los cuerpos más esparcidos, acompañado de un procedimiento sistemático de análisis aplicada a los cuerpos más generalmente empleado*. Imp. de Pedro Fullá.

Fuentes, A. (2013). *Estudio experimental de la oxidación de hierro en aguas subterráneas de abastecimiento a través de aireación*. Universidad del Bío-Bío.

Gyllenberg, H. G. (1971). *Effect of Mineral Nutrients and Organic Substances on the Development of*. *XIII*, 517–527.

Hallberg, K. B. (2010). New perspectives in acid mine drainage microbiology. *Hydrometallurgy*, *104*(3–4), 448–453. https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2009.12.013

Hedrich, S., Schlömann, M., & Johnson, D. B. (2011). The iron-oxidizing proteobacteria. *Microbiology*, *157*(6), 1551–1564. https://doi.org/https://doi.org/10.1099/mic.0.045344-0

Heinzel, E., Hedrich, S., Janneck, E., Glombitza, F., Seifert, J., & Schlömann, M. (2009). Bacterial diversity in a mine water treatment plant. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(3), 858–861. https://doi.org/10.1128/AEM.01045-08

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Hou, D., Zhang, P., Wei, D., Zhang, J., Yan, B., Cao, L., Zhou, Y., & Luo, L. (2020). Simultaneous removal of iron and manganese from acid mine drainage by acclimated bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, *396*(April), 122631. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122631

Huang, Y., Jiang, J., Ma, L., Wang, Y., Liang, M., Zhang, Z., & Li, L. (2020). Iron foam combined ozonation for enhanced treatment of pharmaceutical wastewater. *Environmental Research*, *183*(December 2019), 109205. https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109205

Hustwit, C. C., Ackman, T. E., & Erickson, P. E. (1992). The role of oxygen transfer in acid mine drainage (AMD) treatment. *Water Environment Research*, *64*(6), 817–823. https://doi.org/10.2175/wer.64.6.10

Ilbert, M., & Bonnefoy, V. (2013). Insight into the evolution of the iron oxidation pathways. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, *1827*(2), 161–175. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2012.10.001

International Network for Acid Prevention (INAP). (2014). *Global acid rock drainage guide (GARD Guide)*. 471. http://www.gardguide.com

Ismail, I. M., Fawzy, A. S., Abdel-Monem, N. M., Mahmoud, M. H., & El-Halwany, M. A. (2012). Combined coagulation flocculation pre treatment unit for municipal wastewater. *Journal of Advanced Research*, *3*, 331–336. https://doi.org/10.1016/j.jare.2011.10.004

Janneck, E., Arnold, I., Koch, T., Meyer, J., Burghardt, D., & Ehinger, S. (2010). Microbial synthesis of schwertmannite from lignite mine water and its utilization for removal of arsenic from mine waters and for production of iron pigments. *Wolkersdorfer C, Freund (Eds) Proceedings IMWA 2010 "'Mine Water and Innovative Thinking"', Sydney, Canada.*, *September*, 131–134. https://doi.org/10.13140/2.1.4353.9201

Jiménez, B. E. (2001). *La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada* (Grupo Noriega (ed.)). LIMUSA S.A.

Johnson, D. B. (1995). Selective solid media for isolating and enumerating acidophilic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, *23*(2), 205–218. https://doi.org/10.1016/0167-7012(95)00015-D

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

Johnson, D. Barrie. (2003). Chemical and Microbiological Characteristics of Mineral Spoils and Drainage Waters at Abandoned Coal and Metal Mines. *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*, *3*(1), 47–66. https://doi.org/10.1023/A:1022107520836

Johnson, D.B. (2007). Physiology and ecology of acidophilic microorganisms. In *Physiology and biochemistry of extremophiles*.

Juárez, M., Cerdán, M., & Sánchez-Sánchez, A. (2015). *Hierro en el sistema suelo-planta*. Universidad de Alicante.

Kelly, D. P. (1978). *Bioenergetics of chemolithotrophic bacteria* (A. T. Bull & P. M. Meadow (eds.)). Companion to Microbiology; Selected Topics for Further Discussion.

Kirby, C. S., Thomas, H., Southam, G., & Donald, R. (1999). Relative contributions of abiotic and biological factors in Fe(II) oxidation in mine drainage. *Applied Geochemistry*, *14*, 511–530.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Klein, R., Tischler, J. S., Mühling, M., & Schlömann, M. (2013). Bioremediation of Mine Water. *Geobiotechnology I*. https://doi.org/10.1007/10_2013_265

Larson, L. N., Sánchez-España, J., Kaley, B., Sheng, Y., Bibby, K., & Burgos, W. D. (2014). Thermodynamic controls on the kinetics of microbial low-pH Fe(II) oxidation. *Environ Sci Technol*, *48*, 9246–9254. https://doi.org/10.1021/es501322d

Lawrence, R. W., & Higgs, T. W. (1999). Removing and stabilizing As in acid mine water. *Jom*, *51*(9), 27–29. https://doi.org/10.1007/s11837-999-0154-z

LCA: Laboratorio de Calidad Ambiental de la UNASAM. (2016). *Informe de ensayo AG160550*.

Liang, L., Mcnabb, J. A., Paulk, J. M., Gu, B. H., & Mccarthy, J. . . (1993). Kinetics of Fe(II) oxygenation at low partial pressure of oxygen in the presence of natural organic matter. *Environ Sci Technol*, *27*(9), 1864–1870. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/es00046a014

López Pamo, E., Aduvire, O., & Barettino, D. (2002). Tratamientos pasivos de drenajes ácidos de mina: Estado actual y perspectivas de futuro. *Boletin Geologico y Minero*, *113*(1), 3–21.

Luetters, S., & Hanert, H. H. (1989). The ultrastructure of chemolithoautotrophic Gallionella ferruginea and Thiobacillus ferrooxidans as revealed by chemical fixation and freeze-etching. *Archives of Microbiology*, *151*(3), 245–251.

Marín, R. (2019). *Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos: Tratamiento y control de calidad de aguas* (Segunda). Díaz de Santos.

MINEM: Ministerio de Energía y Minas - República del Perú. (2021). *Inventario de Pasivos Ambientales Mineros. R.M. N° 200-2021-MINEM/DM* (p. 515).

Mohamed, T. M., Mohamed, M. A., Mohamed, S. A., & Fahmy, A. S. (1999). Purification of urease from water melon seeds for clinical diagnostic kits. *Bioresource Technology*, *68*(3), 215–223. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00157-1

Montesinos, M. (2017). *Caracterización de efluentes de mina para elección de la alternativa óptima de tratamiento*. Pontificia Universidad Católica del Perú.

Moreno, Y., & Vizconde, J. (2006). *Bioacumulación de metales pesados en la leche de ganado vacuno en el área de influencia del pasivo ambiental Chahuapampa Utucuyacu-Cátac*. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo.

Navarro-Aviñó, J. P., Aguilar Alonso, I., & López-Moya, J. R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, *16*(2), 10–25. https://doi.org/10.7818/re.2014.16-2.00

Olías Álvarez, M., Nieto Líñán, J. M., Miguel Sarmiento, A., & Ruiz Cánovas, C. (2010). La contaminacion minera de los Ríos Tinto Y Odiel. In *Facultad de Ciencias Experimentales Universidad de Huelva*. https://doi.org/10.13140/2.1.2101.5369

Palomino, J. (2021). *Propuesta Fondecyt. Cód 044-2021-FONDECYT* (p. 21).

Perez, N. (2016). *Aislamiento y determinación de bacterias biooxidante del género Acidithiobacillus y Leptospirillum presentes en las aguas residuales de las unidades mineras de Recuay - Huaraz* [Universidad Ricardo Palma]. http://cybertesis.urp.edu.pe/bitstream/urp/846/1/Perez_nm.pdf

Pinedo, A., & Tananta, D. (2019). *Evaluación del hiero férrico (Fe+3) en el agua para consumo humano y su influencia en la salud de la población del Asentamiento*

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Humano Jerusalén distrito de Callería, Región Ucayali. [Universidad Nacional de Ucayali]. http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4069/000006TPSE.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Quatrini, E., Watkin, E. L. J., & Johnson, D. B. (2007). Biomolecular and cultivation tools. *Fundación Ciencia & Vida, Santiago*, 1–8.

RAE: Real Academia Española. (2020). *Dosis*. http://dle.rae.es

RAE: Real Academia Española. (2022). *Sinergia*. https://dle.rae.es/sinergia

Regenspurg, S., & Peiffer, S. (2005). Arsenate and chromate incorporation in schwertmannite. *Applied Geochemistry*, *20*(6), 1226–1239. https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2004.12.002

Restrepo, I., Sánchez, L. D., Galvis, A., Rojas, J., & Sanabria, I. J. (2007). *Avances en investigación y desarrollo en agua y saneamiento para el cumplimiento de las metas del milenio* (Universidad la Valle (ed.); Primera ed). https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=vpFqgpfHBmYC&oi=fnd&pg=PA288&dq=entre+300+y+600+mL+por+cada+kilogramo+de+peso+corporal,+galvin+1996&ots=M3-Vpf6-xE&sig=riCbVOscler_tyq3a46J-aZ35iE#v=onepage&q=marin&f=false

Ricaurte, L. (2006). Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, *VII*(10), 1–16. https://www.redalyc.org/pdf/636/63617167005.pdf

Ritchie, A. I. M. (1994). Sulfide oxidation mechanisms: controls and rates of oxygen transport. In J. L. Jambor, D. W. Blowes, & I. M. Ritchie (Eds.), *The Environmental Geochemistry of Sulfide Mine-wastes* (Vol. 22). Mineralogical Association of Canada.

Rodríguez, K., Agudelo, R., & Caicedo, M. (2021). Tratamiento de aguas residuales producidas en el proceso de remojo en curtiembres empleando ozono y hierro como catalizador. *Revista ION*, *34*(2), 105–113. https://doi.org/10.18273/revion.v34n2-2021010

Rodríguez Vidal, F. J. (2003). *Procesos de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización*. Editorial Díaz de Santos, S.A.

Romero, A., Medina, R., & Flores, S. (2012). Estudio de los metales pesados en el relave abandonado de Ticapampa. *Revista Del Instituto De Investigación De La Facultad De Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica Y Geográfica*, *11*(22), 13–16. https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/390

Rowe, O. F., & Johnson, D. B. (2008). Comparison of ferric iron generation by different species of acidophilic bacteria immobilized in packed-bed reactors. *Systematic and Applied Microbiology*, *31*(1), 68–77. https://doi.org/10.1016/j.syapm.2007.09.001

Sánchez, J., Santofimia, E., & López, E. (2007). Iron terraces in acid mine drainage systems: A discussion about the organic and inorganic factors involved in their formation through observations from the Tintillo acidic river (Riotinto mine, Huelva, Spain). *Geosphere*, *3*(3), 133–151. https://doi.org/10.1130/GES00069.1

Sandström, A., & Mattsson, E. (2001). Bacterial ferrous iron oxidation of acid mine drainage as pre-treatment for subsequent metal recovery. *International Journal of Mineral Processing*, *62*(1–4), 309–320. https://doi.org/10.1016/S0301-7516(00)00062-4

Science ASSIST (Australian School science information support for teachers and technicians). (2014). *Standard operating procedure: Preparing sodium hydroxide*

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

solutions (p. 3).

Seeger, M., & Jerez, C. A. (1993). Response of Thiobacillus ferrooxidans to phosphate limitation. *FEMS Microbiology Reviews*, *11*(1–3), 37–41. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00264.x

Sheng, Y., Kaley, B., Bibby, K., Grettenberger, C., Macalady, J. L., Wang, G., & Burgos, W. D. (2017). Bioreactors for low-pH iron(II) oxidation remove considerable amounts of total iron. *Royal Society of Chemistry*, *57*. https://doi.org/10.1039/c7ra03717a

Shim, M. J., Choi, B. Y., Lee, G., Hwang, Y. H., Yang, J.-S., O'Loughlin, E. J., & Kwon, M. J. (2015). Water quality changes in acid mine drainage streams in Gangneung, Korea, 10years after treatment with limestone. *Journal of Geochemical Exploration*, *159*, 234–242.

Shuster, J., Rea, M. A., Etschmann, B., Brugger, J., & Reith, F. (2018). Terraced iron formations: Biogeochemical processes contributing to microbial biomineralization and microfossil preservation. *Geosciences (Switzerland)*, *8*(12). https://doi.org/10.3390/geosciences8120480

Silverman, M. P., & Lundgren, D. G. (1959). Studies on the chemoautotrophic iron bacterium Ferrobacillus ferrooxidans. I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. *Journal of Bacteriology*.

Simate, G. S., & Ndlovu, S. (2014). Acid mine drainage: Challenges and opportunities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *2*(3), 1785–1803. https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.07.021

Singer, P. C., & Stumm, W. (1970). Acidic mine drainage: the rate-determining step. *Science*, *167*, 1121–1123.

Skousen, J. G., Ziemkiewicz, P. F., & McDonald, L. M. (2019). Acid mine drainage formation, control and treatment: Approaches and strategies. *Extractive Industries and Society*, *6*(1), 241–249. https://doi.org/10.1016/j.exis.2018.09.008

Skousen, J., Sexstone, A., & Ziemkiewicz, P. . (2000). *Acid mine drainage control and treatment* (R. I. Barnhisel, R. Darmody, & W. Daniels (eds.)). Reclamation of drastically disturbed lands. American Society of Agronomy.Crop Science Society of America.

Skousen, J, Rose, A., Geidel, G., Foreman, J., Evans, R., & Hellier, W. (1998). *A handbook of technologies for avoidance and remediation of acid mine drainage*. The National Mine Land Reclamation Center.

Skousen, Jeff, & Ziemkiewicz, P. (2005). Performance of 116 passive treatment systems for acid mine drainagft. *National Meeting of the American Society of Mining and Reclamation*, *2*, 1100–1133. https://doi.org/10.21000/JASMR05011100

Stumm, W., & Morgan, J. J. (1981). *Aquatic Chemistry: An Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Waters*.

Tischler, J. S., Wiacek, C., Janneck, E., & Schlömann, M. (2013). Microbial abundance in the schwertmannite formed in a mine water treatment plant. *Mine Water and the Environment*, *32*(4), 258–265. https://doi.org/10.1007/s10230-013-0250-8

Tuovinen, O. H., Panda, F. A., & Tsuchiya, H. M. (1979). Nitrogen requirement of iron-oxidizing thiobacilli for acidic ferric sulfate regeneration. *Applied and Environmental Microbiology*, *37*(5), 954–958. https://doi.org/10.1128/aem.37.5.954-958.1979

Tuya, E., Castillo, H., Manrique, J., & Rodríguez, R. (2012). Educación ambiental para

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

fortalecer las capacidades locales de la comunidad campesina de Catac frente al cambio climático. *Aporte Santiaguino*. http://revistas.unasam.edu.pe/index.php/Aporte_Santiaguino/article/view/554/522

UNASAM: Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. (2004). *Expediente técnico: Biorremediación de Drenajes Ácidos de Mina mediante el sistema de humedales en la Planta Concentradora de Mesapata* (p. 32).

Valcárcel, M. (2009). Rural clásico, nueva ruralidad y enfoque territorial: el caso peruano. In G. y Toro (Ed.), *Educación Rural Andina, capacidades tecnológicas y desafíos territoriales*.

Velásquez, M. (1918). *Notas acerca de la Urea*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Villarreal, E., & Rodríguez, I. (2009). *Informe geoeconómico de la región Ancash*. https://hdl.handle.net/20.500.12544/1950

Walton, K. C., & Johnson, D. B. (1992). Microbiological and chemical characteristics of an acidic stream draining a disused copper mine. *Environmental Pollution*, *76*(2), 169–175. https://doi.org/10.1016/0269-7491(92)90105-J

Wei, X., Viadero, R. C., & Buzby, K. M. (2005). Recovery of iron and aluminum from acid mine drainage by selective precipitation. *Environmental Engineering Science*, *22*(6), 745–755. https://doi.org/10.1089/ees.2005.22.745

Zhang, Z., Bi, X., Li, X., Zhao, Q., & Chen, H. (2018). Schwertmannite: occurrence, properties, synthesis and application in environmental remediation. *RSC Advances*, *8*(59), 33583–33599. https://doi.org/10.1039/C8RA06025H

Zimmer, A., Brito Rodriguez, M. K., Alegre Oropeza, C. J., Sánchez Leon, J. W., & Recharte Bullard, J. (2018). Implementación de Dos Sistemas de Biorremediación como Estrategia para la Prevención y Mitigación de los Efectos del Drenaje Ácido de Roca en la Cordillera Blanca, Perú. *Revista de Glaciares y Ecosistemas de Montaña*. https://doi.org/https://doi.org/10.36580/rgem.i4.57-76

Zimmer, M. (2000). Molecular mechanics evaluation of the proposed mechanisms for the degradation of urea by urease. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, *17*(5), 787–797. https://doi.org/10.1080/07391102.2000.10506568

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXOS

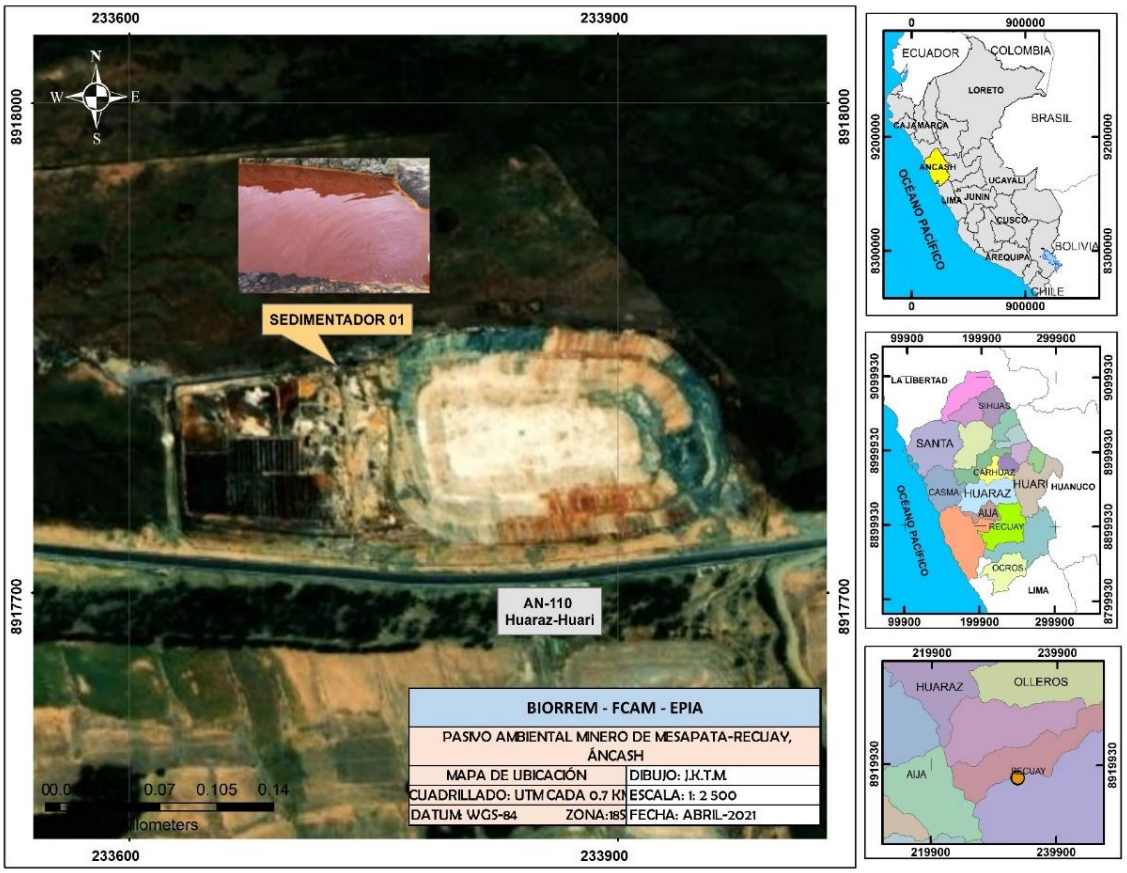
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 1

UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El Pasivo Ambiental Minero de Mesapata se encuentra en el departamento de Áncash, provincia de Recuay y distrito de Cátac, exactamente en la parte baja de un bofedal y en la margen izquierda del río Yanayacu, con un área de 3 ha y una altura promedio de 22 m, a una elevación de 3552 msnm.

Constituye un relave polimetálico de flotación de minerales sulfurados de Pb, Ag, Zn y Cu (UNASAM, 2004). Estos depósitos de relave generan continuamente Drenajes Ácidos de Mina (DAM) originados por la presencia de minerales sulfurados, como la pirita (FeS_2), que en aerobiosis, agua y presencia de microorganismos desestabilizan su estructura mediante reacciones de oxidación (Johnson, 2003).



Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 2.

ACCESIBILIDAD AL PAM DE MESAPATA

Accesibilidad al Pasivo Ambiental Minero de Mesapata.

Origen	Destino	Longitud	Tiempo	Tipo de vía	Forma de desplazamiento
Huaraz	Cátac	38.2 Km	50 min	pista	Automóvil, camioneta, etc.
Cátac	Pasivo Ambiental Minero de Mesapata	3.2 Km	5 min	pista	Automóvil, camioneta, etc

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 3

INFORMES DE ENSAYOS

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

INFORME DE ENSAYO Nº 160760-2022
CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL	: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO
DOMICILIO LEGAL	: AV. CENTENARIO NRO. 200 INDEPENDENCIA - ANCASH - HUARAZ
SOLICITADO POR	: JENNIFER TRUJILLO
REFERENCIA	: PROYECTO BIODAM - UNASAM
PROCEDENCIA	: MESAPATA, CÁTAC, RECUAY, ÁNCASH
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS	: 2022-02-15
FECHA(S) DE ANÁLISIS	: 2022-02-15 AL 2022-02-18
FECHA(S) DE MUESTREO	: 2022-02-11
MUESTREADO POR	: EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA	: LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
METALES TOTALES: Aluminio, Antimonio, Arsénico, Bario, Boro, Berilio, Cadmio, Calcio, Cerio, Cromo, Cobalto, Cobre, Hierro, Plomo, Litio, Magnesio, Manganeso, Mercurio, Molibdeno, Niquel, Fósforo, Potasio, Selenio, Silice(SiO_2), Plata, Sodio, Estroncio, Talio, Estaño, Titanio, Vanadio, Zinc.	EPA Method 200.7, Rev.4.4. EMMC Version / 1994. Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry.	---	mg/L
METALES DISUELTOS: Aluminio, Antimonio, Arsénico, Bario, Boro, Berilio, Cadmio, Calcio, Cerio, Cromo, Cobalto, Cobre, Hierro, Plomo, Litio, Magnesio, Manganeso, Mercurio, Molibdeno, Niquel, Fósforo, Potasio, Selenio, Silice(SiO_2), Plata, Sodio, Estroncio, Talio, Estaño, Titanio, Vanadio, Zinc.	EPA Method 200.7, Rev.4.4. EMMC Version / 1994. Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry.	---	mg/L

L.C.: Límite de cuantificación.

Quím. Beibeth Fajardo León
C.Q.P. N° 648
JEFE DE EMISIÓN DE INFORMES
SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C

EXPERTS WORKING FOR YOU

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego serán eliminadas. • Para corroborar la AUTENTICIDAD del presente informe comunicarse al correo laboratorio@sagperu.com. • Cualquier modificación no autorizada, fraude o falsificación del contenido o de la apariencia de este documento es ilegal y los culpables pueden ser procesados de acuerdo a ley.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

INFORME DE ENSAYO Nº 160760-2022
CON VALOR OFICIAL

II. RESULTADOS:

Producto declarado			Agua Superficial - DAM
Matriz analizada			Agua Natural
Fecha de muestreo			2022-02-11
Hora de inicio de muestreo (h)			12:04
Condiciones de la muestra			Refrigerada/ Preservada
Código del Cliente			BDA-01
Código del Laboratorio			22020539
Ensayos	L.D.M.	Unidades	Resultados
Metales totales (Lectura por Dilución)			
Plata (Ag)	0.0006	mg/L	<0.0006
Aluminio (Al)	0.014	mg/L	62.889
Arsénico (As)	0.0017	mg/L	245.4128
Boro (B)	0.002	mg/L	<0.002
Bario (Ba)	0.0023	mg/L	0.0266
Berilio (Be)	0.00021	mg/L	0.00482
Calcio (Ca)	0.024	mg/L	204.553
Cadmio (Cd)	0.0003	mg/L	0.5450
Cerio (Ce)	0.003	mg/L	0.303
Cobalto (Co)	0.0005	mg/L	0.3886
Cromo (Cr)	0.0005	mg/L	0.0669
Cobre (Cu)	0.0007	mg/L	7.6216
Hierro (Fe)	0.0024	mg/L	870.4700
Mercurio (Hg)	0.001	mg/L	<0.001
Potasio (K)	0.04	mg/L	4.81
Litio (Li)	0.003	mg/L	0.160
Magnesio (Mg)	0.04	mg/L	60.08
Manganeso (Mn)	0.0008	mg/L	95.7250
Molibdeno (Mo)	0.0014	mg/L	0.0114
Sodio (Na)	0.04	mg/L	9.96
Níquel (Ni)	0.0006	mg/L	0.0666
Fósforo (P)	0.003	mg/L	2.060
Plomo (Pb)	0.0008	mg/L	3.7901
Antimonio (Sb)	0.0022	mg/L	0.1835
Selenio (Se)	0.004	mg/L	<0.004
Silice (SiO_2)	0.017	mg/L	44.838
Estaño (Sn)	0.001	mg/L	0.015
Estroncio (Sr)	0.0007	mg/L	1.4834
Titanio (Ti)	0.0003	mg/L	0.0878
Talio (Tl)	0.004	mg/L	0.047
Vanadio (V)	0.0005	mg/L	0.0176
Zinc (Zn)	0.0023	mg/L	83.8165

L.D.M.: límite de detección del método.

EXPERTS WORKING FOR YOU

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego serán eliminadas. • Para corroborar la AUTENTICIDAD del presente informe comunicarse al correo laboratorio@sagperu.com. • Cualquier modificación no autorizada, fraude o falsificación del contenido o de la apariencia de este documento es ilegal y los culpables pueden ser procesados de acuerdo a ley.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

INFORME DE ENSAYO Nº 160760-2022
CON VALOR OFICIAL

II. RESULTADOS:

Producto declarado			Agua Superficial - DAM
Matriz analizada			Agua Natural
Fecha de muestreo			2022-02-11
Hora de inicio de muestreo (h)			12:04
Condiciones de la muestra			Refrigerada/ Preservada
Código del Cliente			BDA-01
Código del Laboratorio			22020539
Ensayos	L.D.M.	Unidades	Resultados
Metales Disueltos (Lectura por Dilución)			
Plata (Ag)	0.0006	mg/L	<0.0006
Aluminio (Al)	0.014	mg/L	60.267
Arsénico (As)	0.0017	mg/L	104.9703
Boro (B)	0.002	mg/L	<0.002
Bario (Ba)	0.0023	mg/L	0.0257
Berilio (Be)	0.00021	mg/L	0.00466
Calcio (Ca)	0.024	mg/L	197.573
Cadmio (Cd)	0.0003	mg/L	0.5104
Cerio (Ce)	0.003	mg/L	0.255
Cobalto (Co)	0.0005	mg/L	0.3817
Cromo (Cr)	0.0005	mg/L	0.0624
Cobre (Cu)	0.0007	mg/L	7.4115
Hierro (Fe)	0.0024	mg/L	683.4700
Mercurio (Hg)	0.001	mg/L	<0.001
Potasio (K)	0.04	mg/L	4.62
Litio (Li)	0.003	mg/L	0.153
Magnesio (Mg)	0.04	mg/L	58.44
Manganeso (Mn)	0.0008	mg/L	93.6075
Molibdeno (Mo)	0.0014	mg/L	<0.0014
Sodio (Na)	0.04	mg/L	9.56
Níquel (Ni)	0.0006	mg/L	0.0662
Fósforo (P)	0.003	mg/L	0.877
Plomo (Pb)	0.0008	mg/L	2.7521
Antimonio (Sb)	0.0022	mg/L	0.0554
Selenio (Se)	0.004	mg/L	<0.004
Silice (SiO_2)	0.017	mg/L	44.062
Estaño (Sn)	0.001	mg/L	0.009
Estroncio (Sr)	0.0007	mg/L	1.4185
Titanio (Ti)	0.0003	mg/L	0.0304
Talio (Tl)	0.004	mg/L	0.047
Vanadio (V)	0.0005	mg/L	0.0064
Zinc (Zn)	0.0023	mg/L	82.7790

L.D.M.: límite de detección del método.

Lima, 28 de Febrero del 2022.

EXPERTS
WORKING
FOR YOU

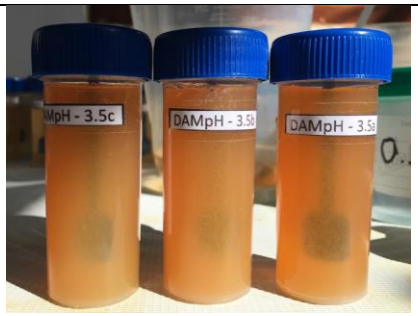
OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al período de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego serán eliminadas. • Para corroborar la AUTENTICIDAD del presente informe comunicarse al correo laboratorio@sagperu.com. • Cualquier modificación no autorizada, fraude o falsificación del contenido o de la apariencia de este documento es ilegal y los culpables pueden ser procesados de acuerdo a ley.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

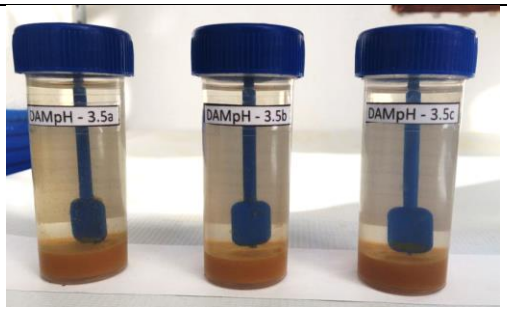
ANEXO 4

DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE pH PARA LA REMOCIÓN DE Fe^{+2} DEL DAM

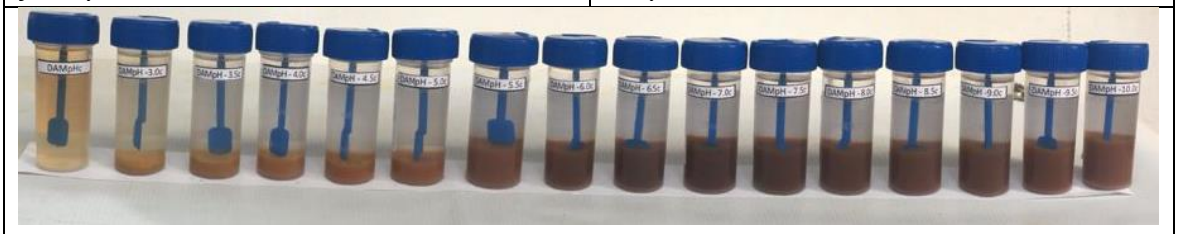
Materiales usados para la alcalinización progresiva (3.0; 3.5; 4.0; 4.5; 5.0; 5.5; 6.0; 6.5; 7.0; 7.5; 8.0; 8.5; 9.0; 9.5; 10.0) del DAM del PAM de Mesapata con NaOH (0.1 N; 1 N; 10 N).



Tratamientos a pH 3.5 (por triplicado) minutos después de añadido NaOH (0.1 N y 1 N).



Tratamientos a pH 3.5 (por triplicado) 24 horas después de añadido NaOH (0.1 N y 1 N).

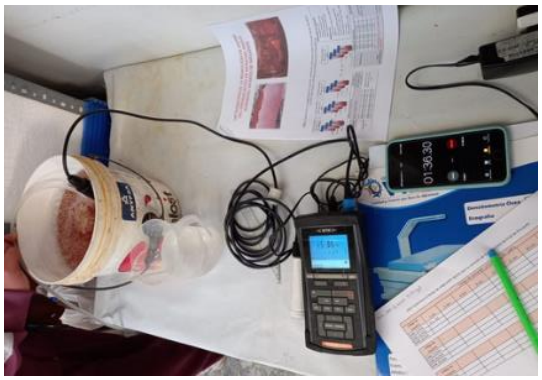
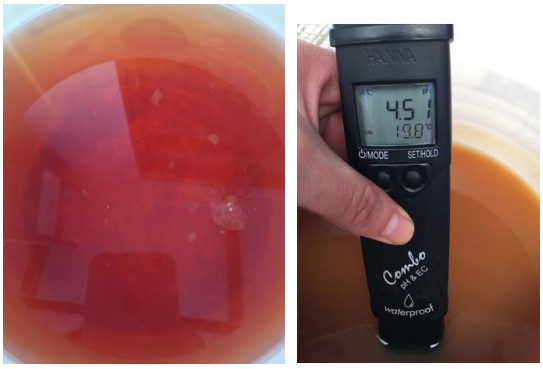
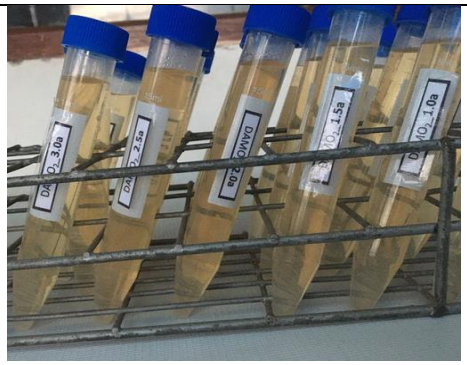
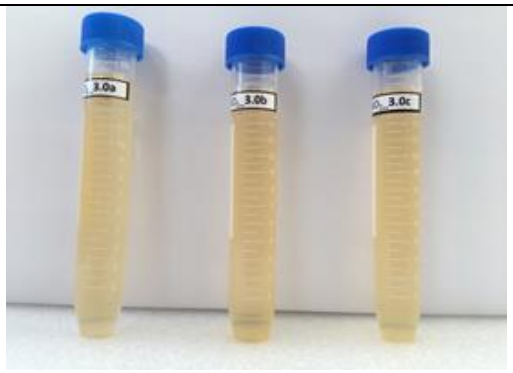
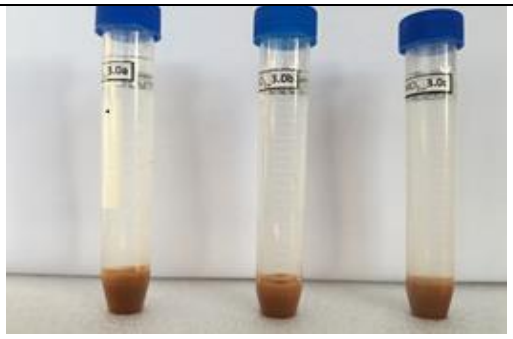
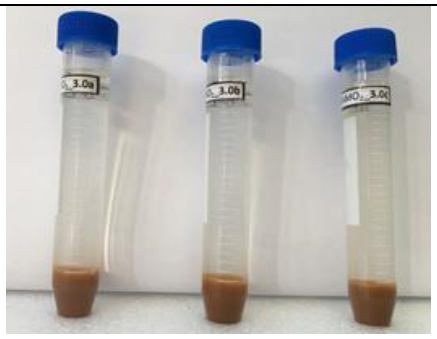


DAM original y grupos tratados después de 24 horas de añadido NaOH (0.1 N; 1 N;10 N).

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 5

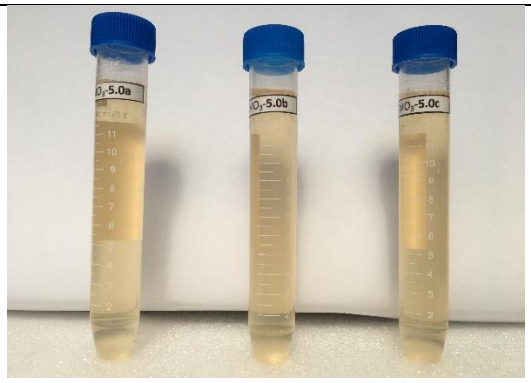
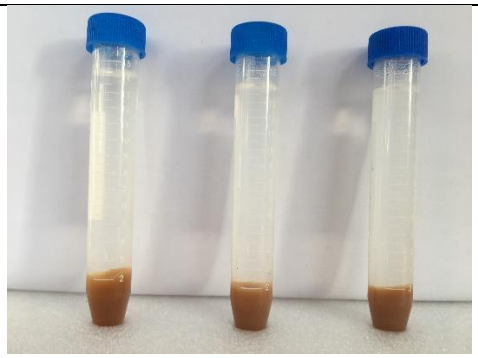
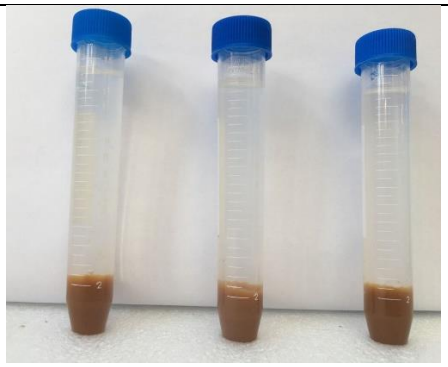
DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE OXIGENACIÓN PARA LA REMOCIÓN DE Fe^{+2} DAM

	
Medición de la saturación de oxígeno en el DAM del PAM de Mesapata con el Multiparámetro WTW Multi 3630 IDS.	Medición de los parámetros fisicoquímicos (pH, EC, TDS) antes de la inyección de oxígeno.
	
Pruebas realizadas con DAM original a diferentes tiempos de oxigenación en horas (0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0).	DAM original inyectado con oxígeno (1 L/min) por 3 horas (triplicado) y después 24 horas del tratamiento.
	
DAM pH 4.0 inyectado con oxígeno (1 L/min) por 3 horas (triplicado) y después 24 horas del tratamiento.	DAM pH 5.5 inyectado con oxígeno (1 L/min) por 3 horas (triplicado) y después 24 horas del tratamiento.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 6

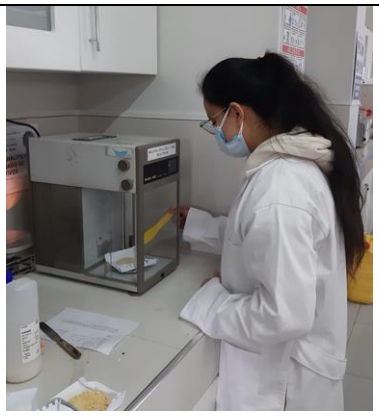
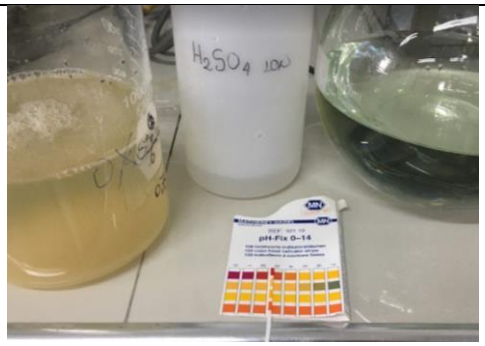
DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE OZONIZACIÓN PARA LA REMOCIÓN DE HIERRO DAM

Generador de ozono GO-500 JMD (flujo constante de 2.15 L/min).	Inyección de ozono al DAM pH 4.0 a diferentes tiempos de ozonización.
	
Pruebas realizadas con DAM original a diferentes tiempos de ozonización en minutos (0.5; 1.0; 3.0; 5.0; 7.0; 9.0; 11.0; 13.0; 15.0 y 17.0).	DAM original inyectado (2.15 L/min).con por 5 minutos (triplicado) y después 24 horas del tratamiento.
	
DAM pH 4.0 inyectado con ozono (2.15 L/min) por 5 minutos (triplicado) y después 24 horas del tratamiento.	DAM pH 5.5 inyectado con ozono (2.15 L/min).por 5 minutos (triplicado) y después 24 horas del tratamiento.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 7

PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO 9K MODIFICADO

	
Materiales (balones, probetas, etc) y reactivos (tabla 4) para la preparación del Medio 9K Mod.	Pesaje de los reactivos en una balanza analítica.
	
Acidificación de las soluciones A y B con H_2SO_4 10N.	Las soluciones A, B y C, antes de ser llevados al autoclave por 20 min a 121 °C.
Despues de la mezcla de las soluciones a 60°, se llena los frascos, tubos, placas.	Medio 9K Mod., semisólido, inoculado con las BOFe (Pastoruri, Mesapata, Campanayoc y consorcio)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 8

MEDIO AMONIO (AMONIO AL 1.7%) PREPARADO A PARTIR DE ORINA HIDROLIZADA CON UREASA DE SANDÍA

La orina es un líquido transparente, estéril y de color ámbar generado por los riñones. La orina contiene altas concentraciones de urea (del metabolismo de aminoácidos), sales inorgánicas, creatinina, ácidos orgánicos, amoniaco (Bouatra et al., 2013). De acuerdo a Velásquez (1918), la cantidad de urea eliminada por la orina durante todo el día está comprendida entre 1 y el 3% y 20 g a 30 g por litro de orina. El adulto mayor genera entre 1.5 y 2.0 litros de orina por día (Bouatra et al., 2013). La ureasa en una proteína especializada en la actividad catalítica de la hidrólisis de urea (M. Zimmer, 2000). Mohamed et al. (1999) obtuvo ureasa a partir de la sandía (*Citrullus vulgaris*), la ureasa también se puede obtener del frijol y soya.

Determinación:

De acuerdo a Silverman & Lundgren (1959), para 1 L de Medio 9K Modificado se requiere 0.828 g de nitrógeno en forma de amonio (NH_4). La urea (CH_4N_2O) posee amonio y una masa molar de 60 g y el amonio (NH_4^+) 18 g de acuerdo a ello se tiene:

60 g de urea contiene----------36 g de amonio

¿Cuánta urea? (X) ----------0.828 g de amonio

X= 1.38 g de urea

Entonces 1.38 g de urea (CH_4N_2O) contiene 0.828 g de amonio (NH_4^+), de acuerdo a la literatura se posee aproximadamente 20 g a 30 g de urea por litro de orina (Velásquez, 1918).

3 g de urea----------100 ml de orina

1.38 g de urea----------X ml de orina

X= 46 ml =50 ml/L de DAM

Preparación:

Se consiguieron pepas de una sandía mediana, se lavó y se licuó hasta obtener a una granulometría gruesa. Se consiguió 9 L de orina de una familia y se procedió a poner las pepas de sandía licuadas en la orina, se agitó y se esperó 18 horas hasta que se produjo el medio, además se midió el pH, EC y TDS siendo 9.5, >3999 uS/cm y > 2000 ppm, respectivamente. Una vez obtenido el medio se prosiguió a verter los 50 ml por litro de DAM al Aquarium-Fe. Se recomienda realizar más estudios al respecto.

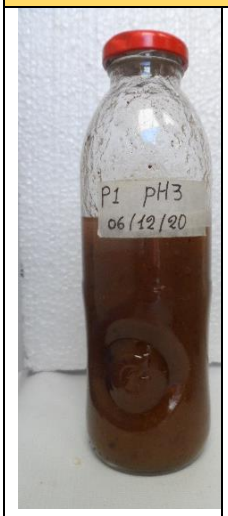
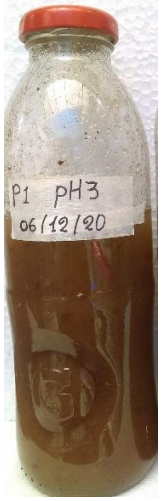
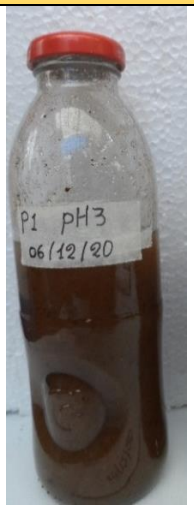
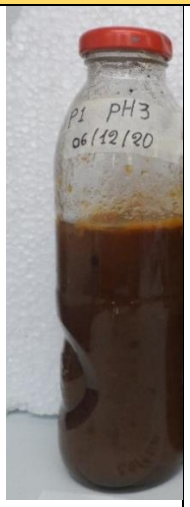
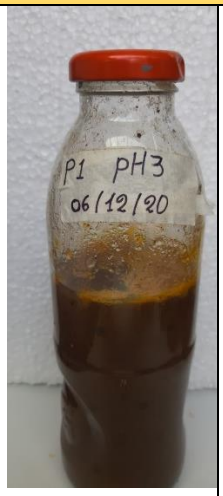
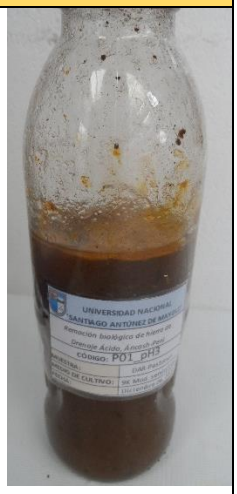
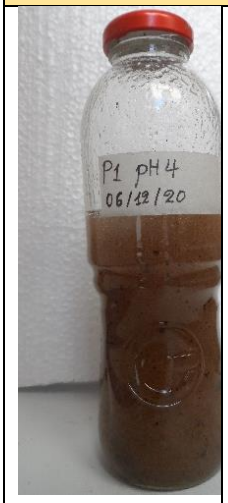
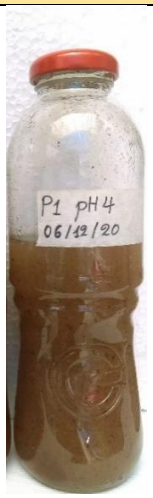
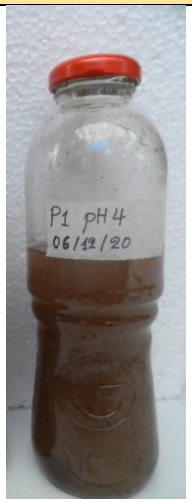
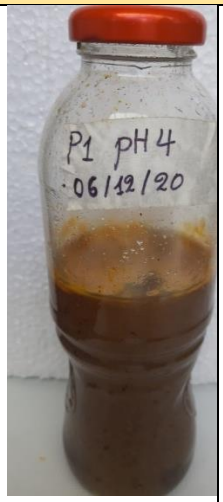
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 9

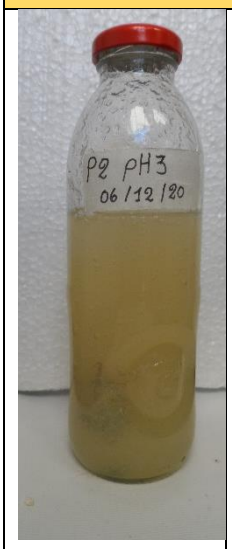
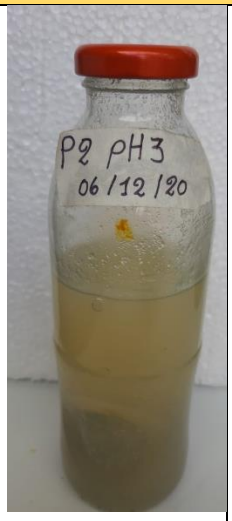
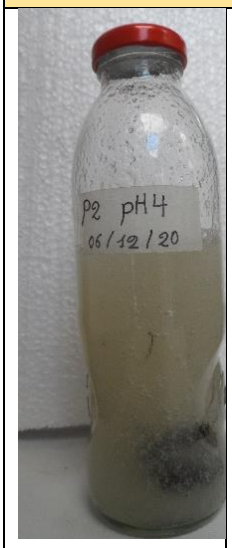
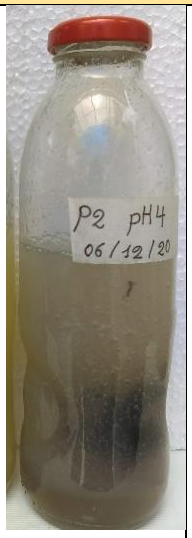
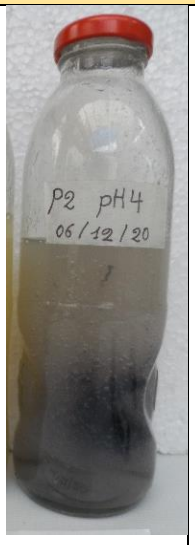
SIEMBRA DE LAS BOFe EN FRASCOS CON 300 ML DE MEDIO 9K MODIFICADO, A PH 3 Y 4 (PASTORURI, MESAPATA Y CAMPANAYOC)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

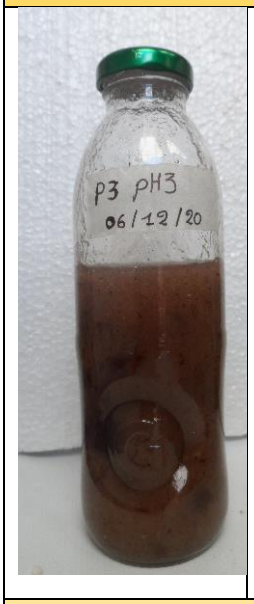
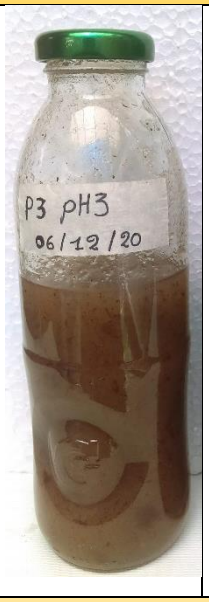
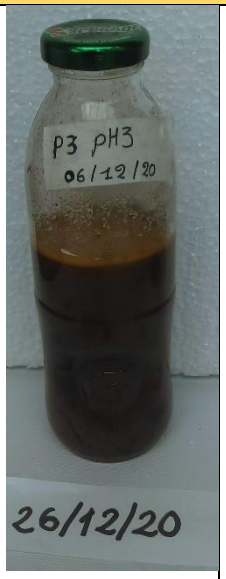
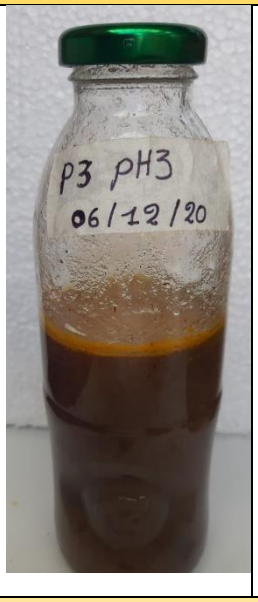
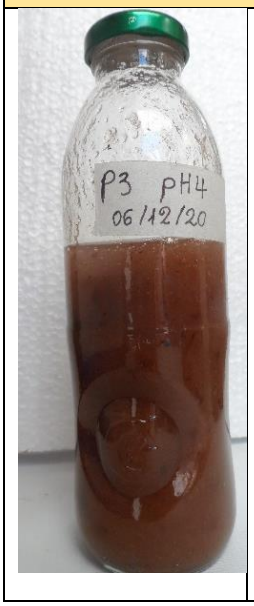
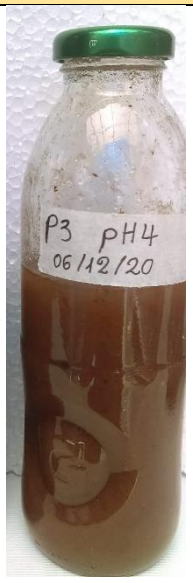
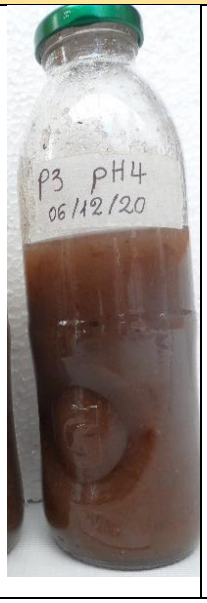
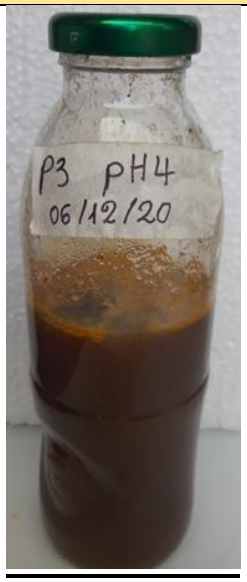
PASTORURI

P01-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

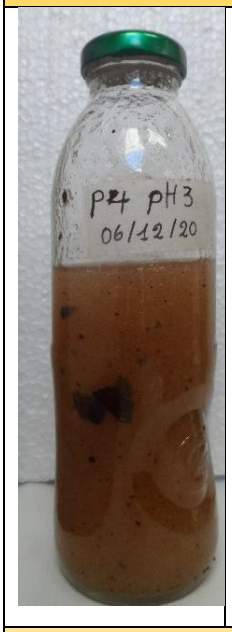
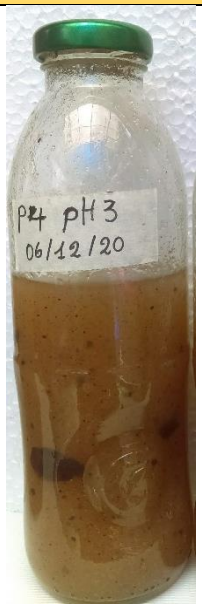
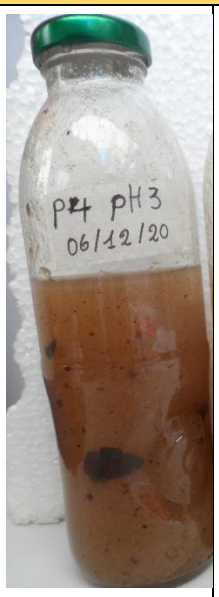
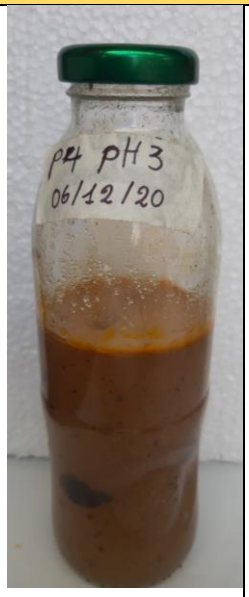
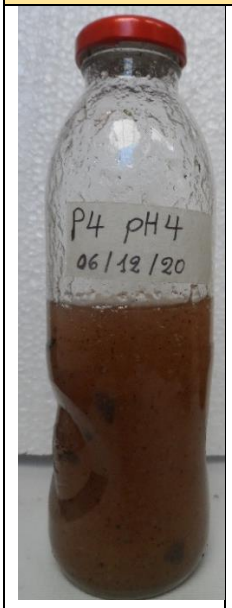
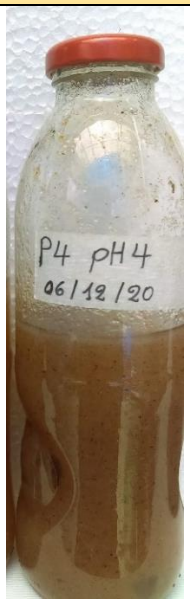
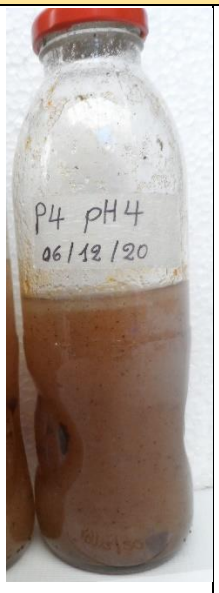
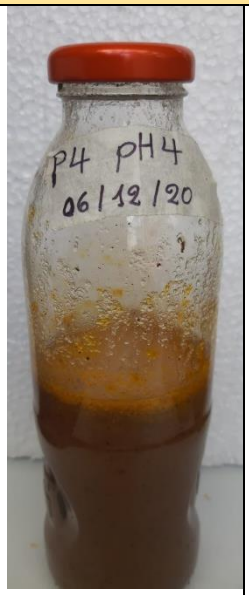
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P02-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

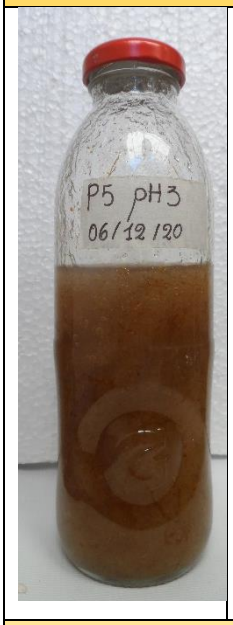
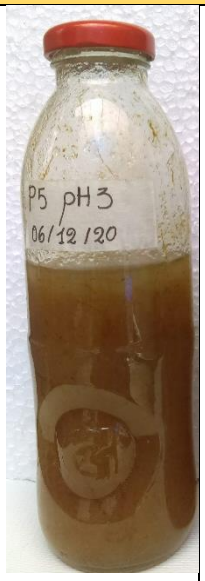
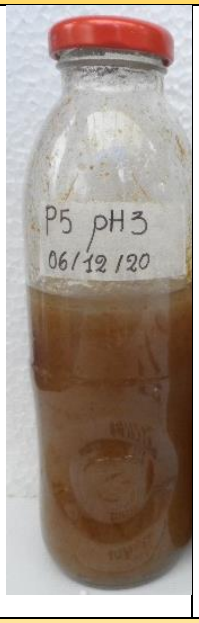
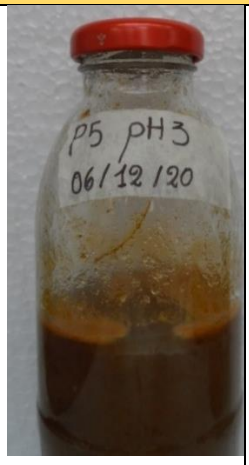
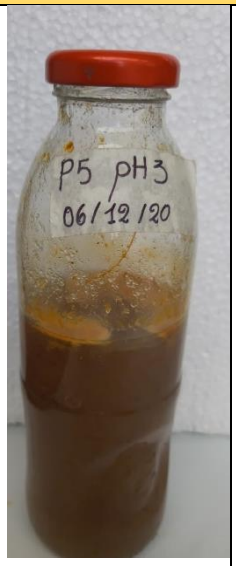
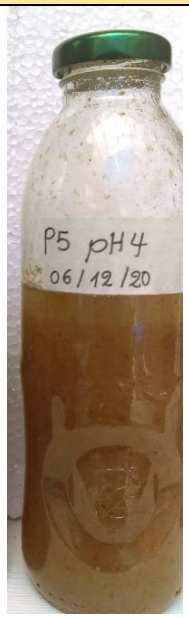
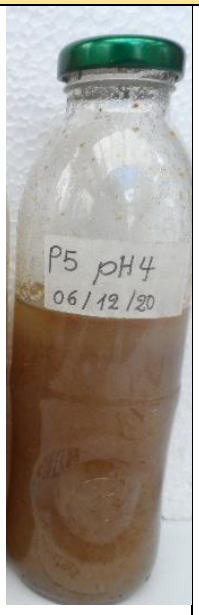
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P03-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

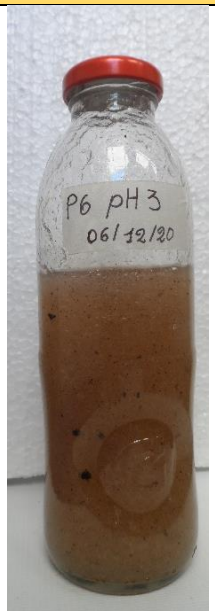
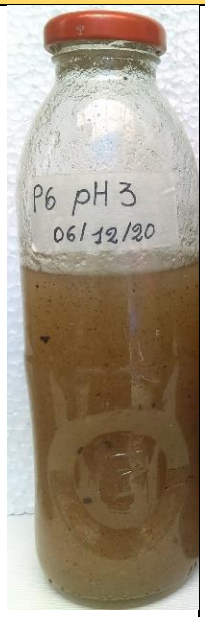
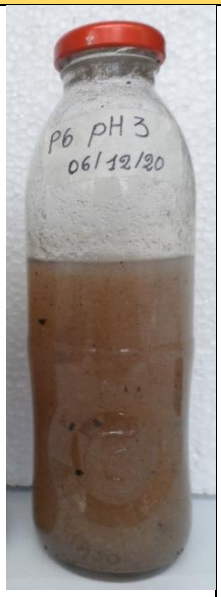
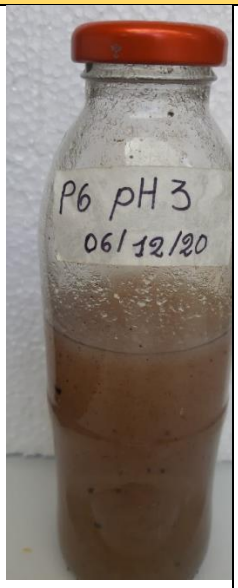
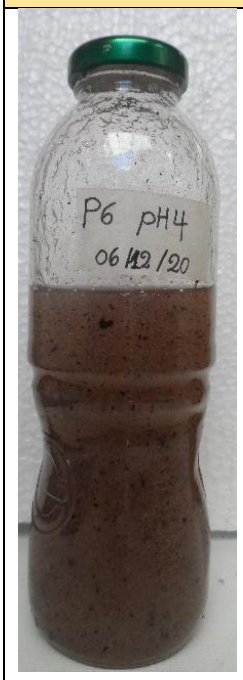
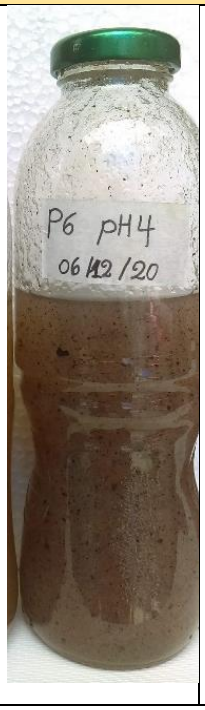
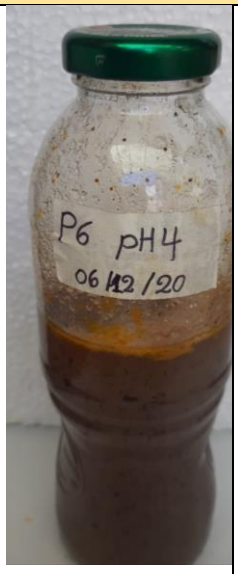
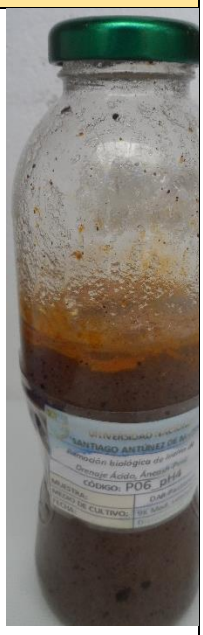
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P04-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

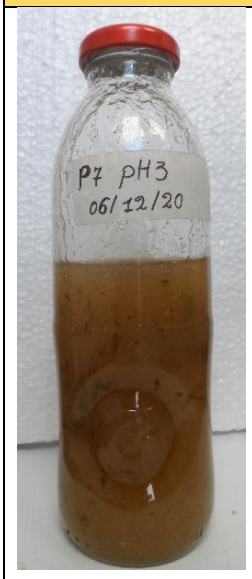
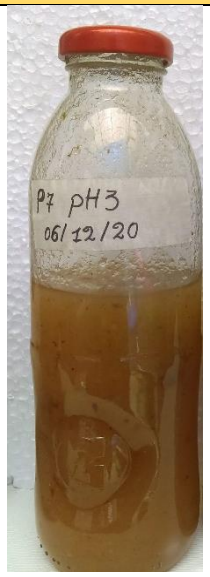
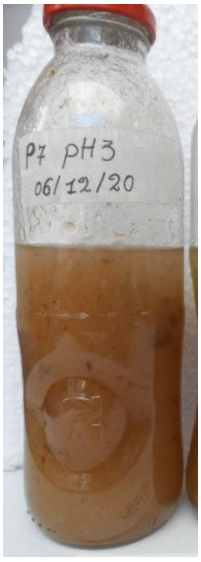
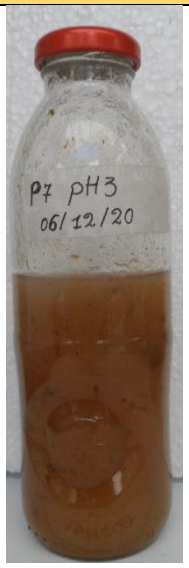
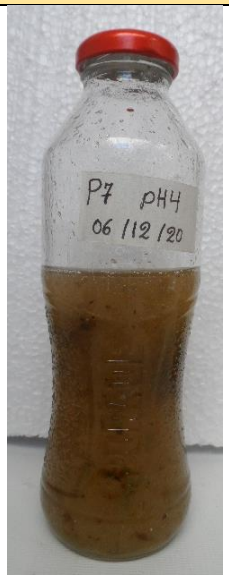
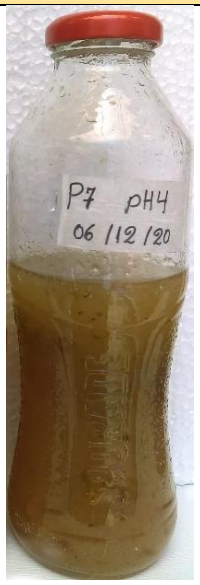
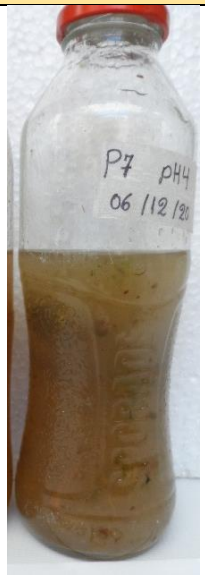
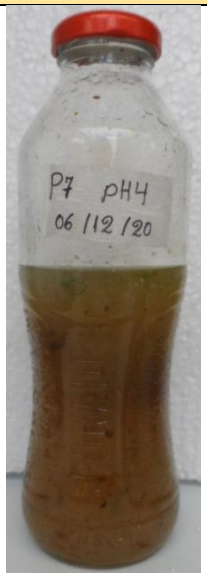
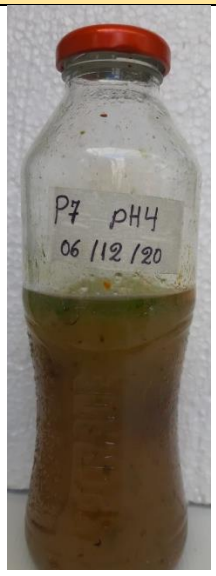
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P5-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

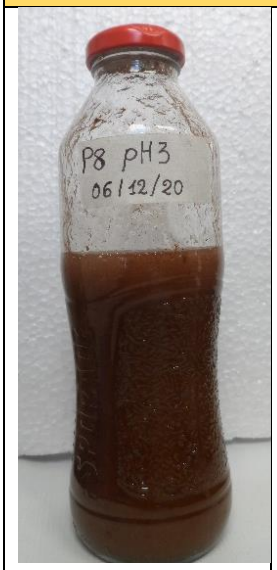
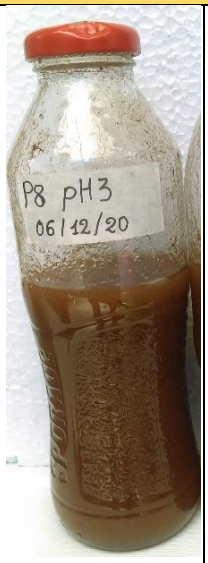
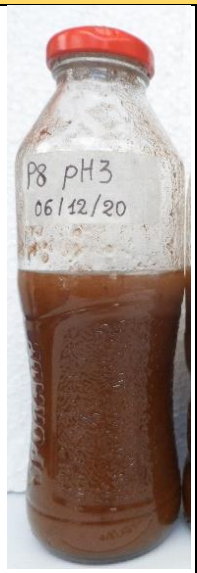
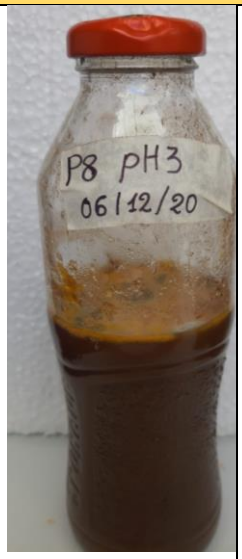
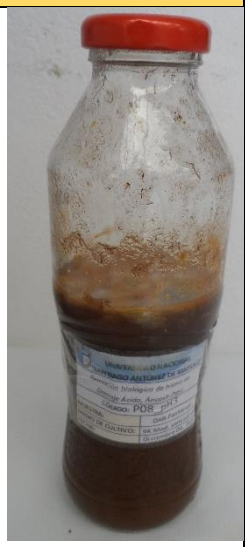
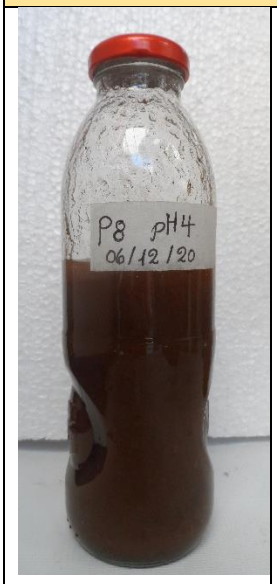
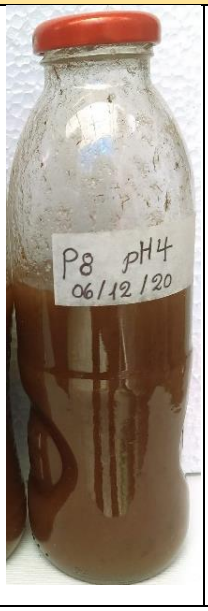
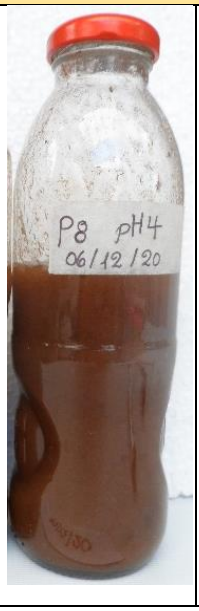
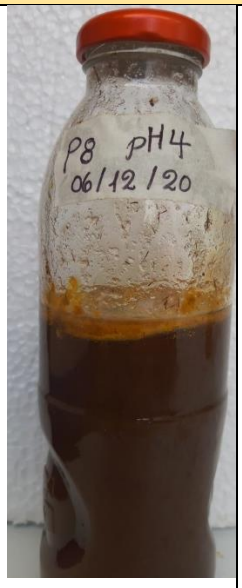
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P06-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

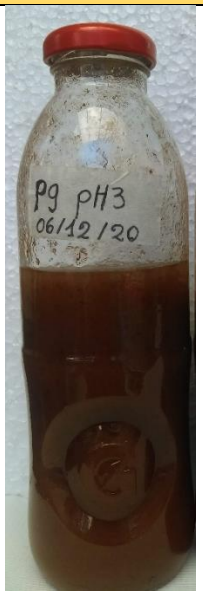
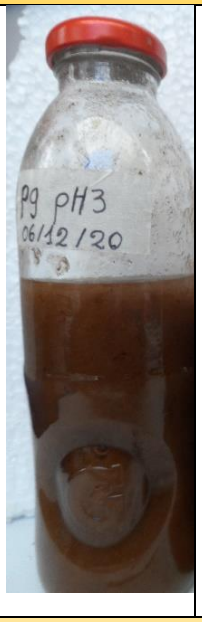
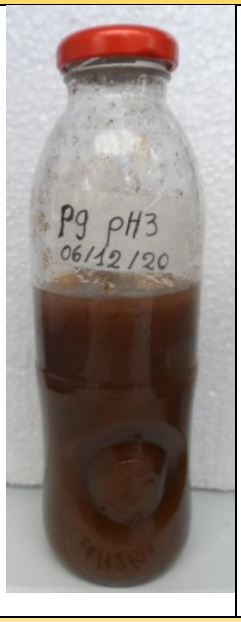
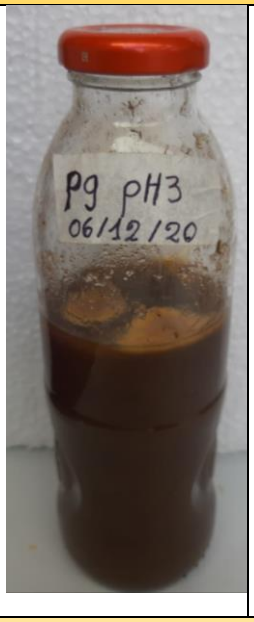
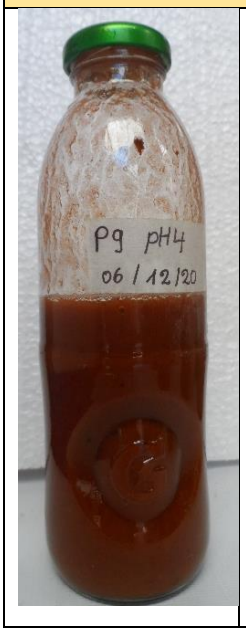
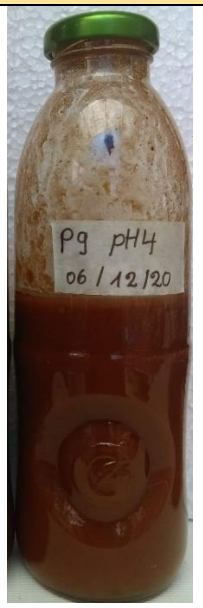
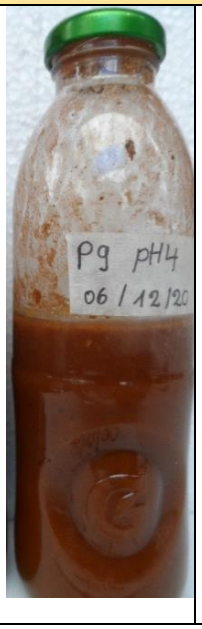
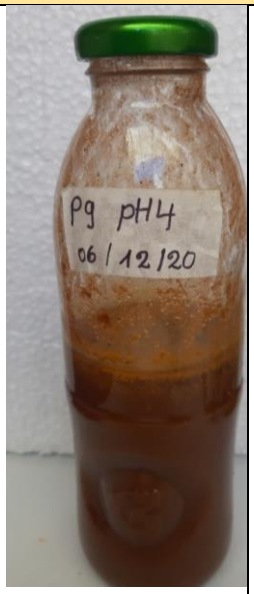
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P07-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

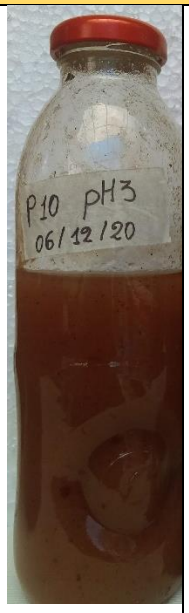
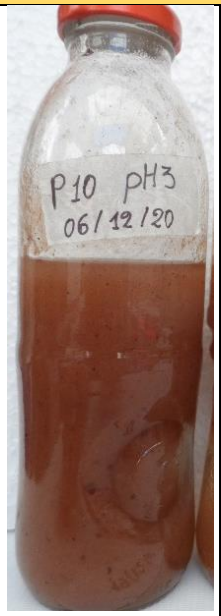
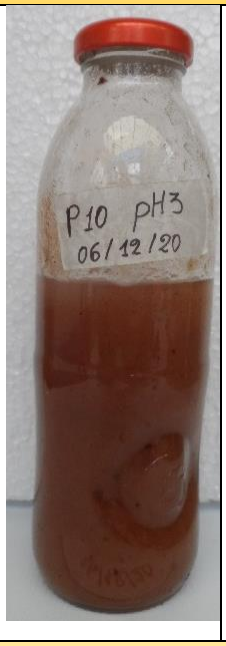
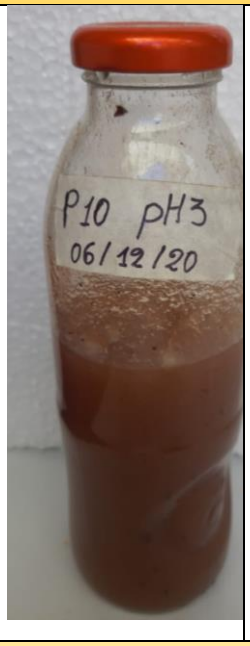
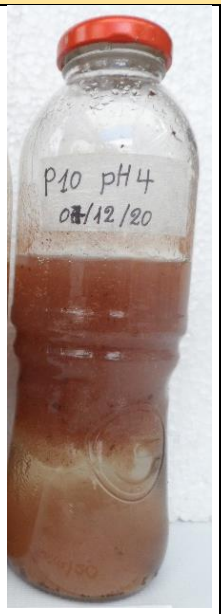
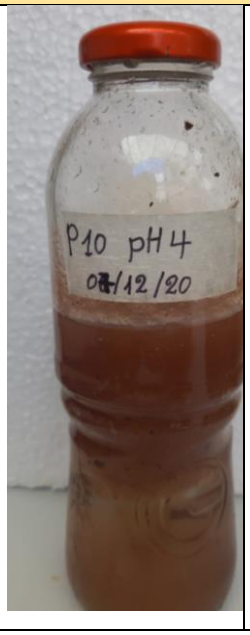
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P08-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

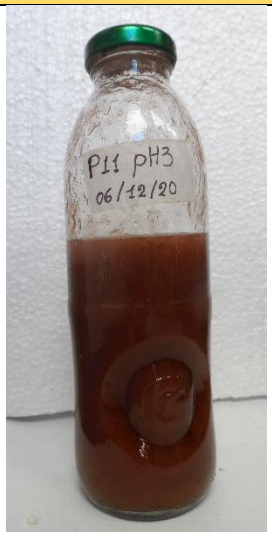
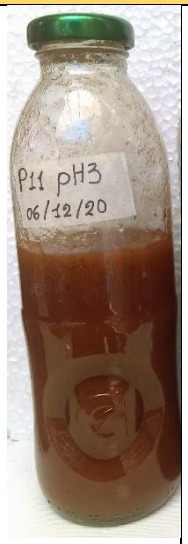
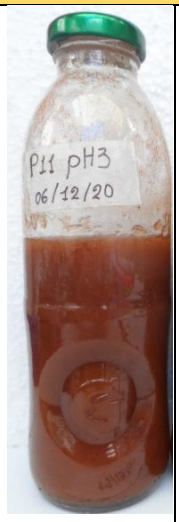
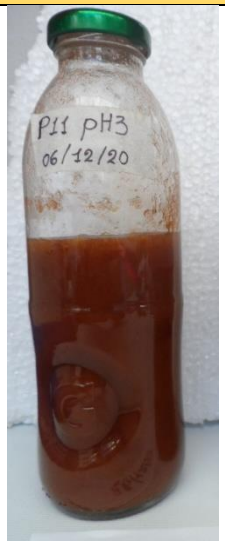
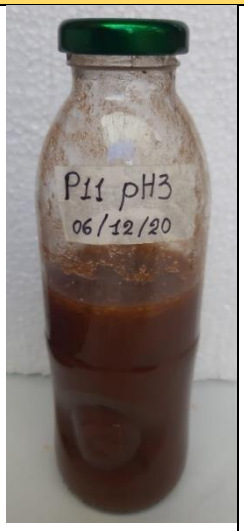
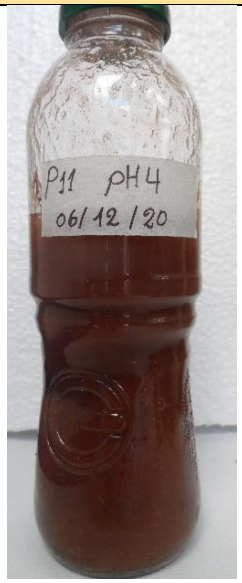
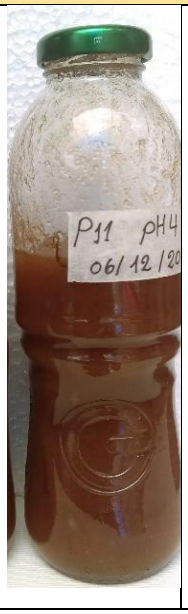
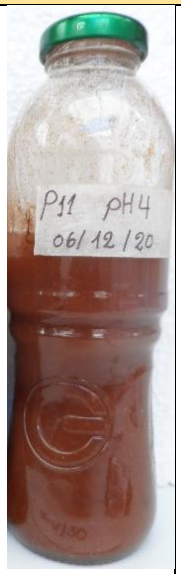
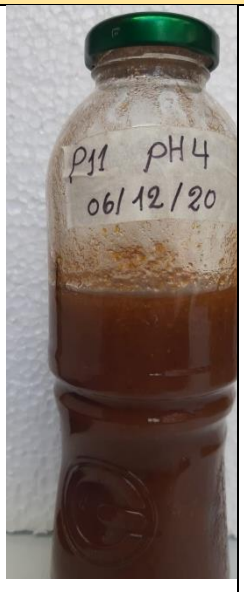
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P09-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

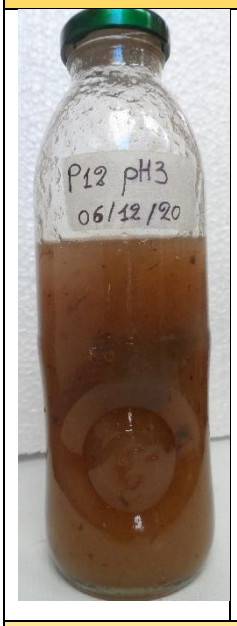
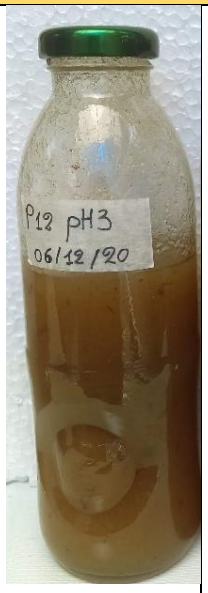
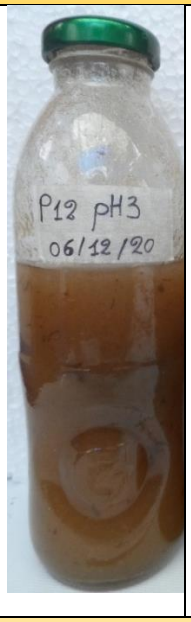
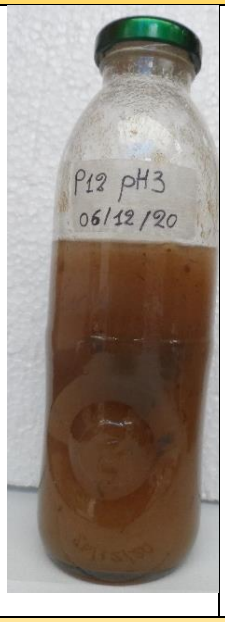
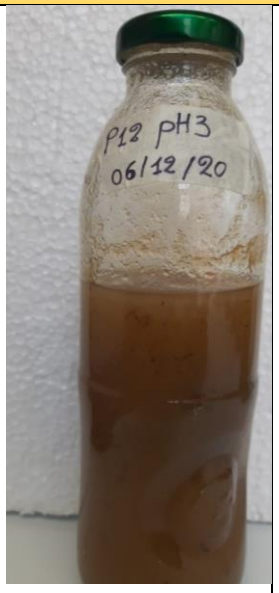
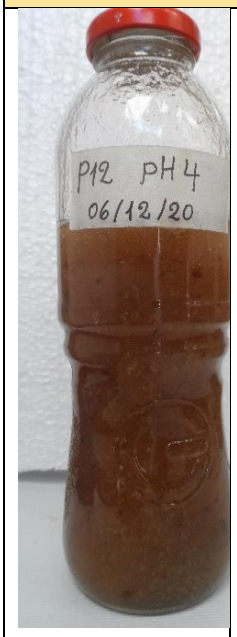
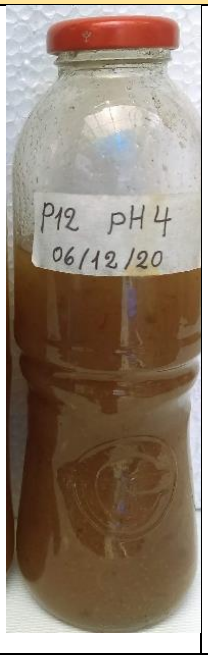
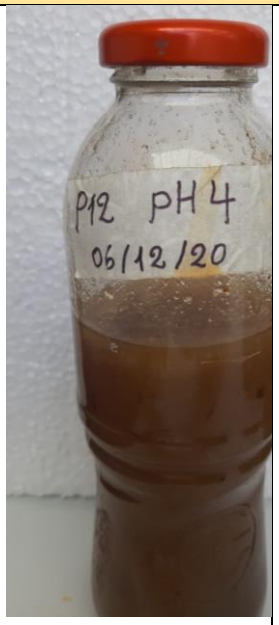
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P10-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

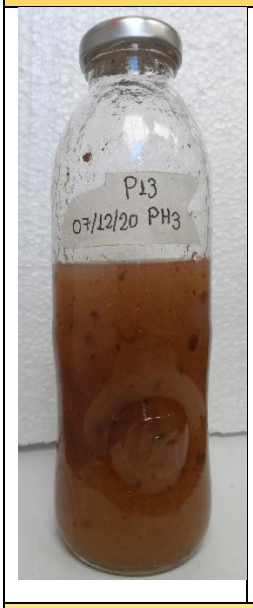
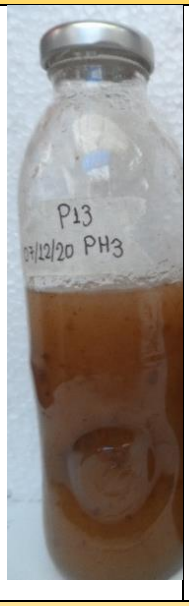
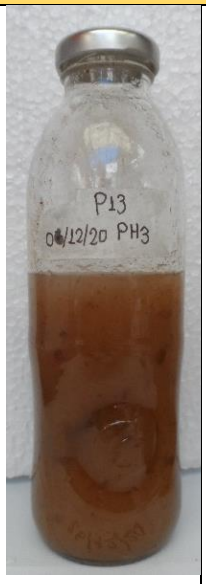
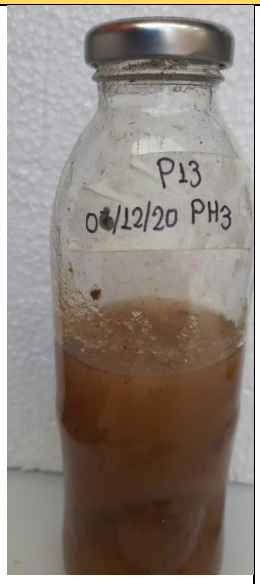
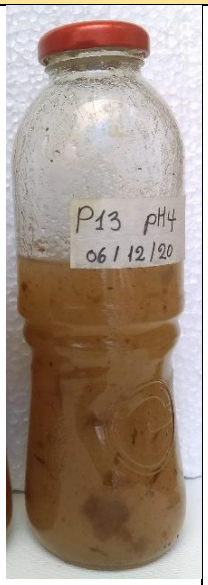
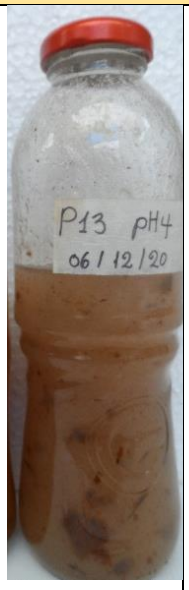
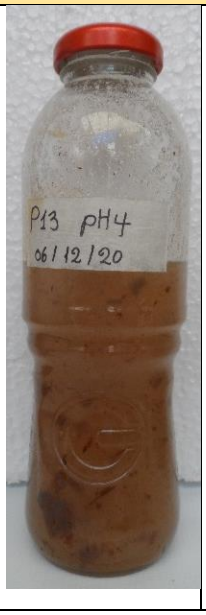
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P11-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

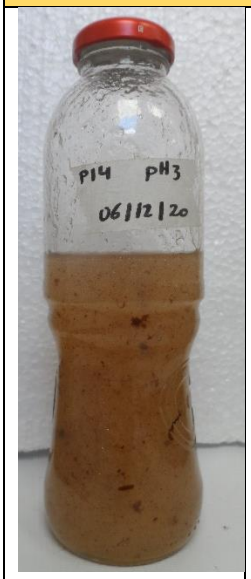
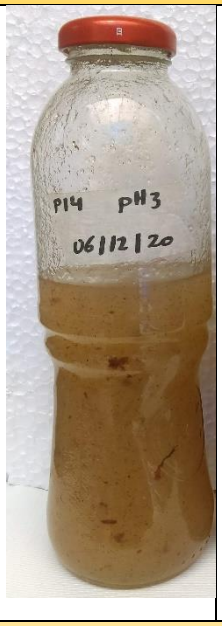
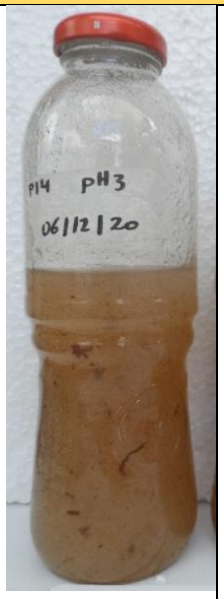
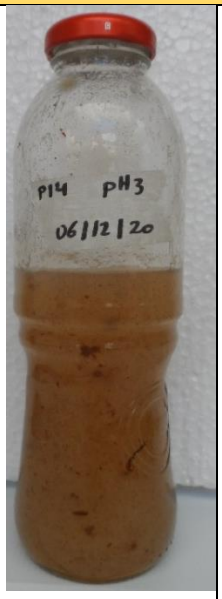
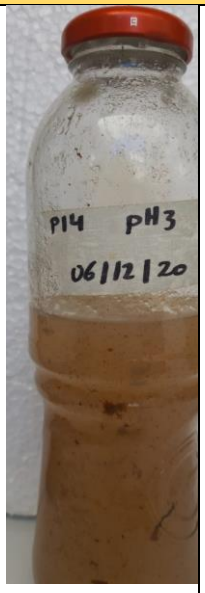
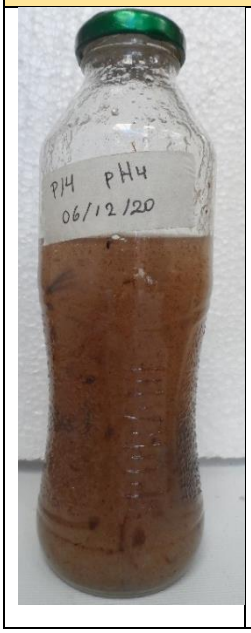
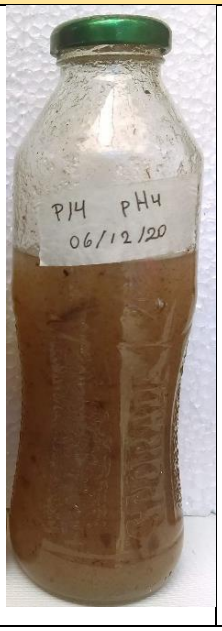
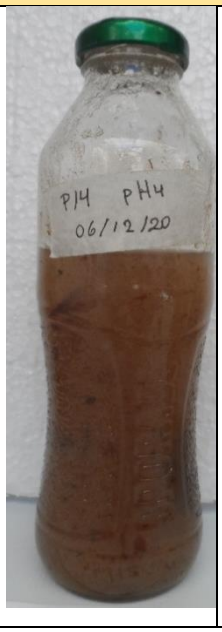
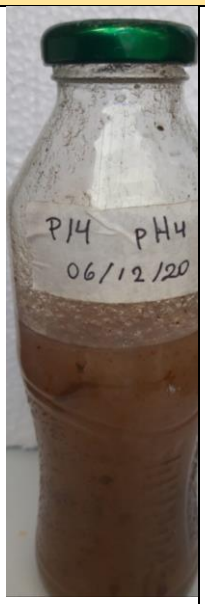
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

P12-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

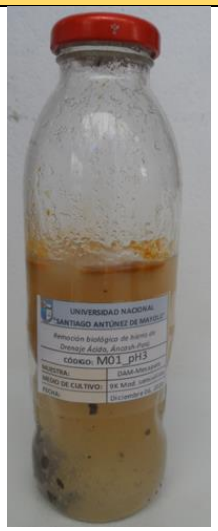
P13-Aislamiento en 9K Mod.					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

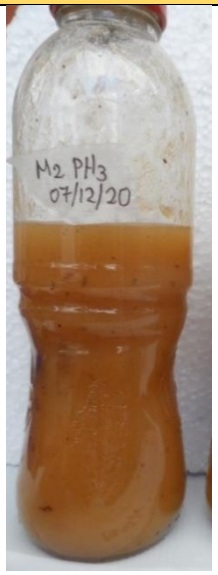
P14					
07/12/2020	16/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 9	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3					
					
pH 4					
					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

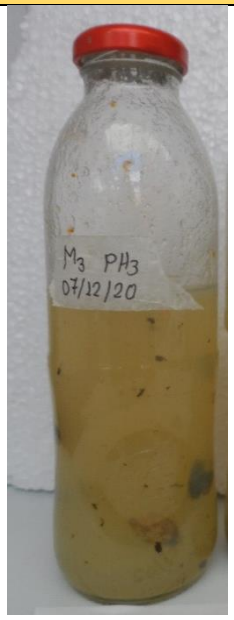
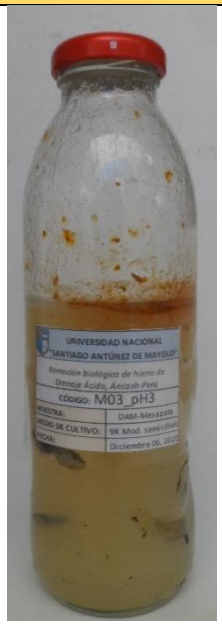
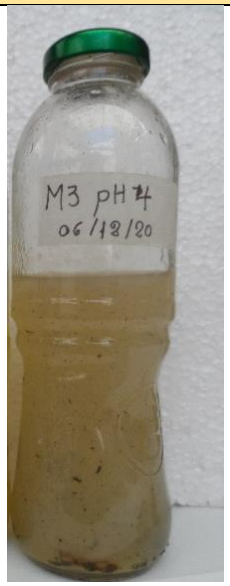
MESAPATA

M01-Aislamiento en 9K Mod.				
07/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3				
				
pH 4				

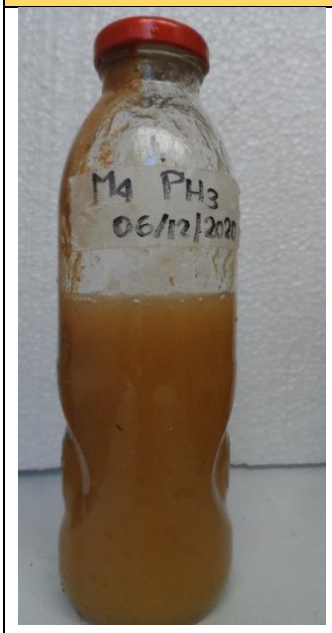
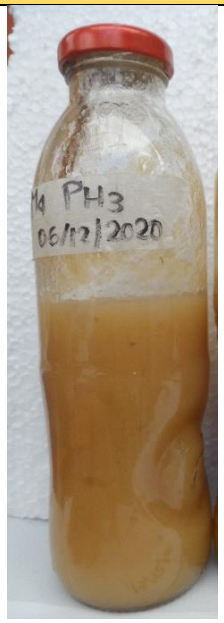
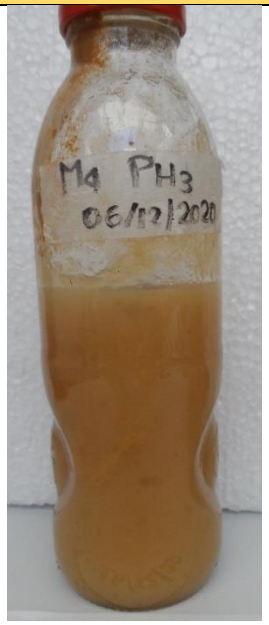
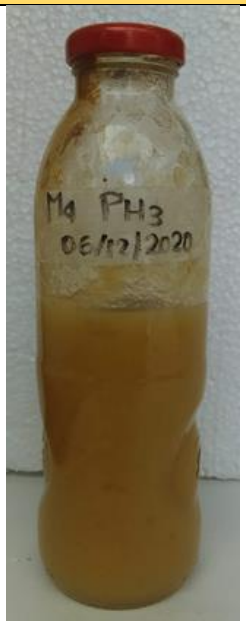
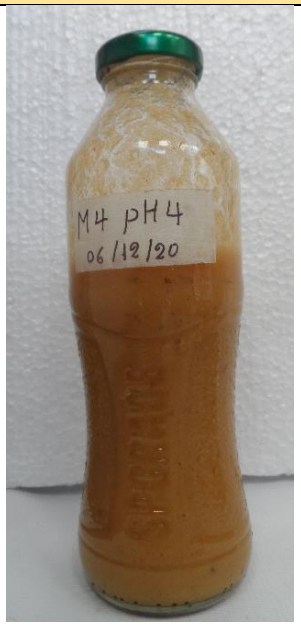
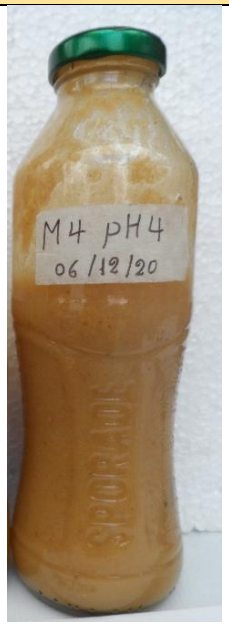
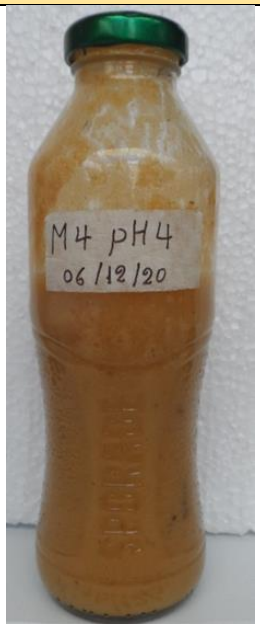
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

M02-Aislamiento en 9K Mod.				
07/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3				
				
pH 4				

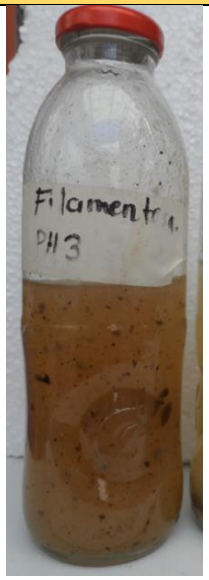
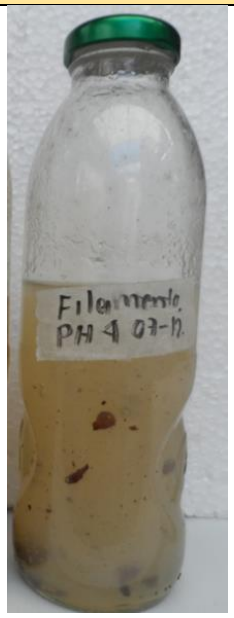
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

M03-Aislamiento en 9K Mod.				
07/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3				
				
pH 4				
				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

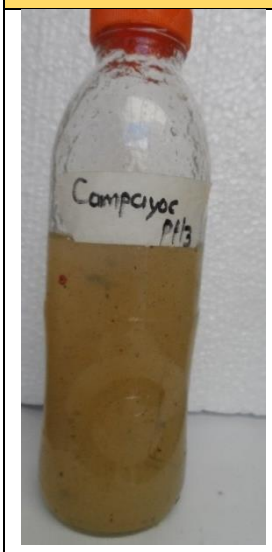
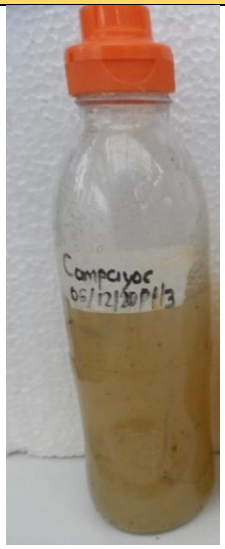
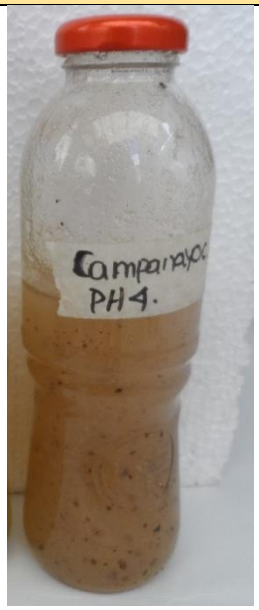
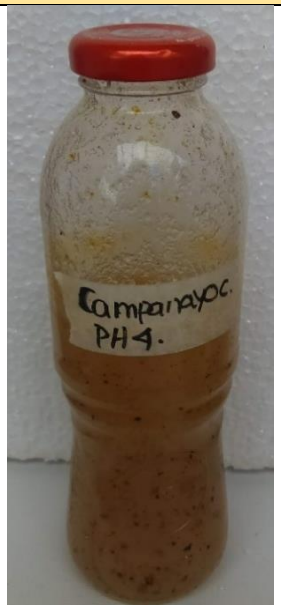
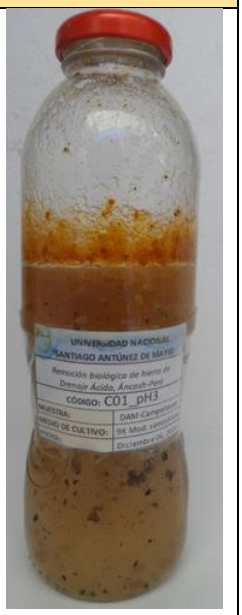
M04-Aislamiento en 9K Mod.				
07/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3				
				
pH 4				
				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

M05 (F) -Aislamiento en 9K Mod.				
07/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
Día 1	Día 12	Día 19	Día 23	Día 33
pH 3				
				
pH 4				
				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

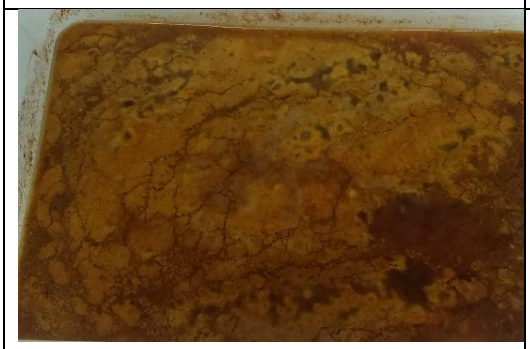
CAMPANAYOC

C01-Aislamiento en 9K Mod.				
07/12/2020	19/12/2020	26/12/2020	30/12/2020	09/01/2021
pH 3				
				
pH 4				
				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 10

SIEMBRA DE LAS BOFE EN 5L DE MEDIO 9K MODIFICADO A PH3 Y 4 EN LOS SISTEMA AQUARIUM-Fe

Consorcio de Pastoruri, Mesapata y Campanayoc	
6/12/20 - 08/01/20	
pH 3	pH 4
	

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 11

SIEMBRA DE LAS BOFE EN FRASCOS CON 200 ML DE MEDIO 9K MOD. A PH3 Y4 (PASTORURI, MESAPATA Y CAMPANAYOC)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

PASTORURI

Pastoruri 01- Resiembra en medio 9K Mod. (P01b) pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					

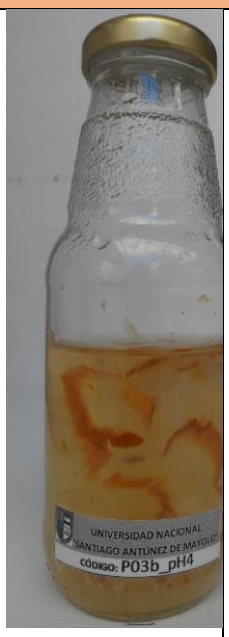
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

pH 4					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Pastoruri 02 - Resiembra en medio 9K Mod. (P02b)					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Pastoruri 03 -Resiembra en medio 9K Mod. (P03b) pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					
					

Pastoruri 04 Resiembra en medio 9K Mod. (P04b)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

Pastoruri 05 - Resiembra en medio 9K Mod. (P05b)

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

Pastoruri 06 - Resiembra en medio 9K Mod. (P06b) pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Pastoruri 07 - (Resiembra en medio 9K Mod. (P07b) pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Pastoruri 08 - Resiembra en medio 9K Mod. (P08b)					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH3					
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Pastoruri 09 - Resiembra en medio 9K Mod. (P09b) pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Pastoruri 11 - Resiembra en medio 9K Mod. (P11b) pH4					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

MESAPATA

Mesapata 01- Resiembra en medio 9K Mod. (M01b) pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

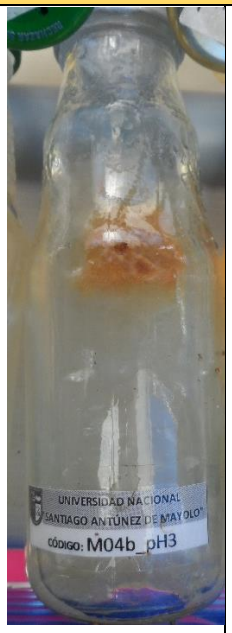
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Mesapata 02- Resiembra en medio 9K Mod. (M02b)					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
PH4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Mesapata 03- Resiembra en medio 9K Mod. (M03b)					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Mesapata 04 - Resiembra en medio 9K Mod. (M04b) pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
					
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Mesapata 05 - Resiembra en medio 9K Mod. (M05)b pH3					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 3					
pH 4					

CAMPANAYOC

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Campanayoc 01 - Resiembra en medio 9K Mod. (C01b)					
16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021	01/01/2021	06/02/2021	17/02/2021
Día 5	Día 10	Día 16	Día 21	Día 26	Día 37
pH 4					

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 12

CRECIMIENTO DE LAS BOFe A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE $FeSO_4$

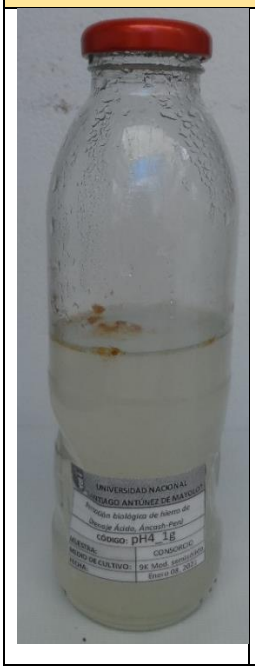
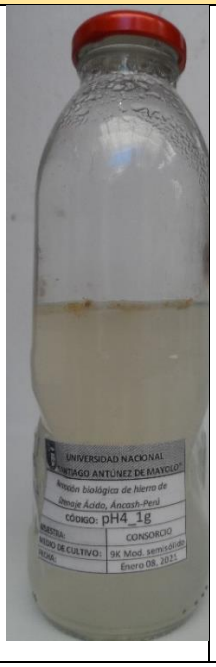
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Crecimiento de BOFe a 0.25 g/L de $FeSO_4$				
09/01/2021	**12/01/2021**	**16/01/2021**	21/01/2021	27/01/2021
Día 1	**Día 4**	**Día 8**	Día 13	Día 19
pH 3				
pH 4				

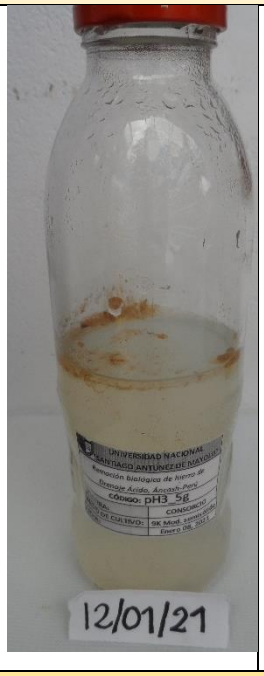
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Crecimiento de BOFe a 0.5 g/L de $FeSO_4$				
09/01/2021	12/01/2021	16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021
Día 1	Día 4	Día 8	Día 13	Día 19
pH 3				
pH 4				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Crecimiento de BOFe a 1 g/L de $FeSO_4$				
09/01/2021	12/01/2021	16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021
Día 1	Día 4	Día 8	Día 13	Día 19
pH 3				
pH 4				
				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Crecimiento de BOFe a 5 g/L de $FeSO_4$				
09/01/2021	12/01/2021	16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021
Día 1	Día 4	Día 8	Día 13	Día 19
pH 3				
				
pH 4				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Crecimiento de BOFe a 10 g/L de $FeSO_4$				
09/01/2021	12/01/2021	16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021
Día 1	Día 4	Día 8	Día 13	Día 19
pH 3				
pH 4				

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

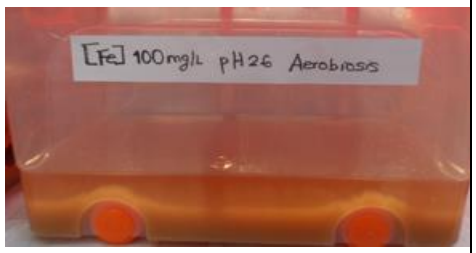
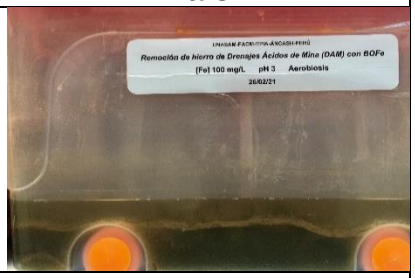
Crecimiento de BOFe a 20 g/L de $FeSO_4$				
09/01/2021	12/01/2021	16/01/2021	21/01/2021	27/01/2021
Día 1	Día 4	Día 8	Día 13	Día 19
pH 3				
pH 4				

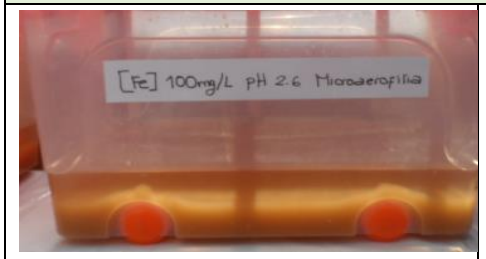
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 13

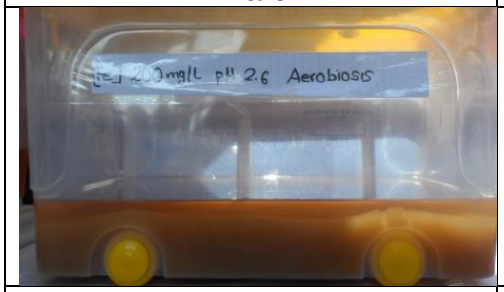
COMPORTAMIENTO DE LAS BOFE EN CONDICIONES DE AEROBIOSIS Y MICROAEROFILIA, EN FUNCIÓN A LA CONCENTRACIÓN DE FE^{+2} (100, 200, 400, 600 Y 800 MG/L), EN EL SISTEMA AQUARIUM-FE

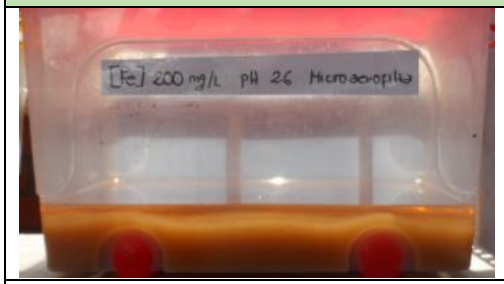
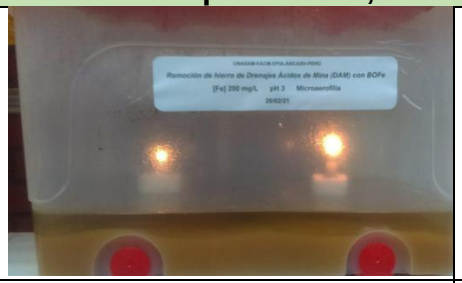
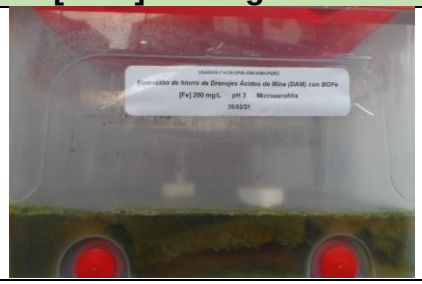
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 100 mg/L Aerobiosis			
22/02/2021	**09/03/2021**	**19/03/2021**	**30/04/31**
Día 0	**Día 15**	**Día 25**	**Día 37**
			
Tratamiento con DAM (100 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	Sistema mantenido en aerobiosis y se observa aparición de algas verdes y algunos hongos.	Generación de flogs con presencia de algas verdes, hongos y BOFe.	Mayor presencia de algas verdes, hongos y agua más cristalina.

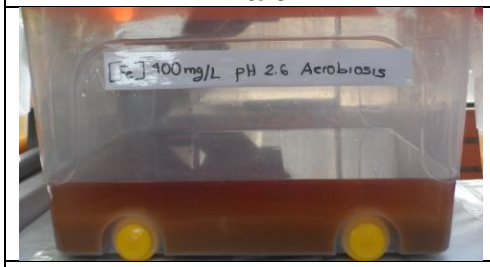
BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 100 mg/L Microaerofilia			
			
Tratamiento con DAM (100 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en microaerofilia y se observa la apararición de algas verdes y algunos hongos.	El sistema es similar al de aerobiosis con algas verdes, hongos y BOFe.	Mayor presencia de algas, hongos y agua más cristalina.

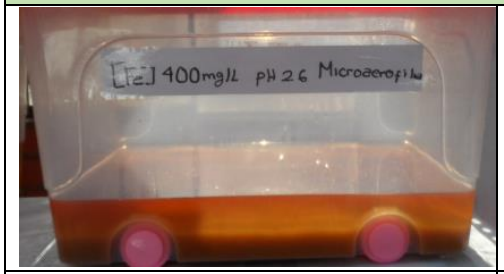
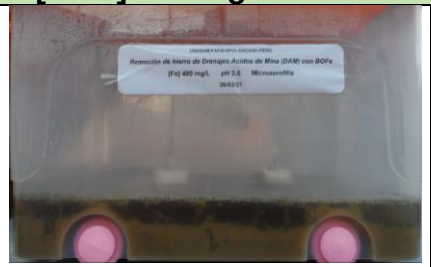
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 200 mg/L Aerobiosis			
22/02/2021	**09/03/2021**	**19/03/2021**	**30/04/31**
Día 0	**Día 15**	**Día 25**	**Día 37**
			
Tratamiento con DAM (200 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	Presencia de algunos hongos flotando en la superficie.	Presencia de algas verdes hongos, BOFe y precipitados de hierro.	Diseminación de algas verdes, hongos, precipitados de hierro y clarificación del DAM,

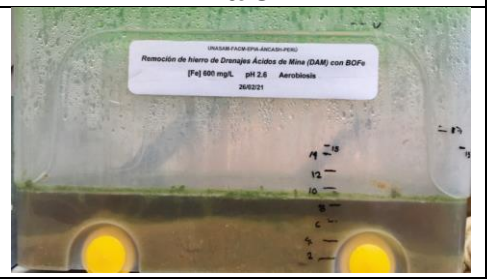
BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 200 mg/L Microaerofilia			
			
Tratamiento con DAM (200 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en microaerofilia y se observa la apararición de algas y algunos hongos	Generación de flogs con presencia de muchas algas verdes, hongos y BOFe.	Mayor presencia de algas verdes, hongos y DAM más cristalina

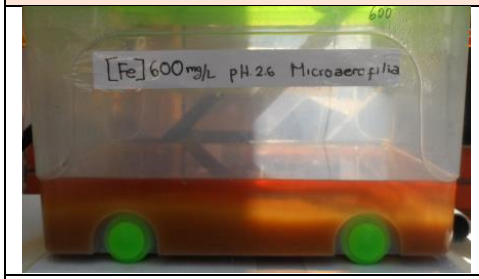
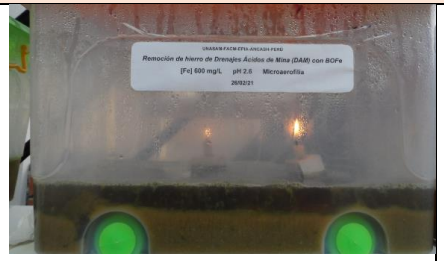
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 400 mg/L Aerobiosis			
22/02/2021	**09/03/2021**	**19/03/2021**	**30/04/31**
Día 0	**Día 15**	**Día 25**	**Día 37**
			
Tratamiento con DAM (400 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en aerobiosis y se evidencia poca formación de precipitados.	El sistema evidencia la aparición de algas verdes, hongos y algunos floculos de hierro.	Diseminación de algas, hongos, con poca presencia de floculos de hierro y DAM más clara.

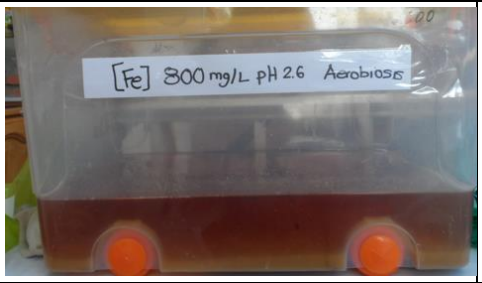
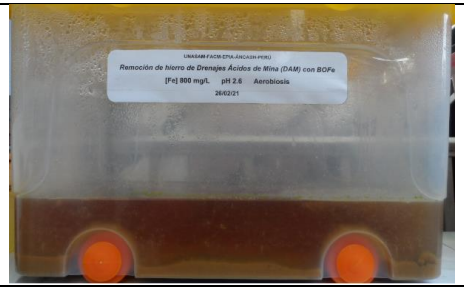
BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 400 mg/L Microaerofilia			
			
Tratamiento con DAM (400 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en microaeroflia y se evidencia la formación de precipitados.	El sistema evidencia la aparición de algas verdes, hongos y formación floculos de hierro.	Diseminación de muchas algas, hongos, presencia de floculos y aclaramiento del drenaje.

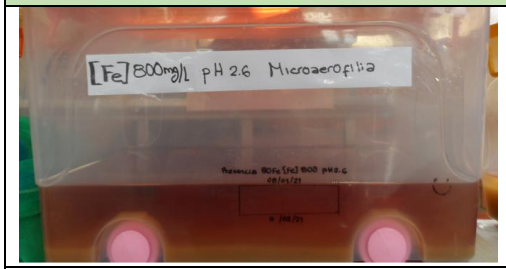
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 600 mg/L Aerobiosis			
pH 3			
22/02/2021	**09/03/2021**	**19/03/2021**	**30/04/31**
Día 0	**Día 15**	**Día 25**	**Día 37**
			
Tratamiento con DAM (600 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en aerobiosis y se evidencia la formación de precipitados.	El sistema evidencia la aparición de algas verdes, hongos y formación floculos de hierro.	Diseminación de algas, hongos, con presencia de floculos de hierro y con muestra de DAM más clara.

BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 600 mg/L Microaerofilia			
pH 3			
			
Tratamiento con DAM (600 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en microaeroflia y se evidencia la formación de precipitados.	El sistema evidencia la aparición de algas verdes, hongos y floculos de hierro.	Diseminación de algas verdes, hongos, presencia de floculos y aclaramiento del drenaje.

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 800 mg/L Aerobiosis			
22/02/2021	**09/03/2021**	**19/03/2021**	**30/04/31**
Día 0	**Día 15**	**Día 25**	**Día 37**
			
Tratamiento con DAM (800 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en aerobiosis y se evidencia la formación de precipitados.	El sistema se mantiene constante con pocos cambios.	Se evidencia la formación de filamentos y la precipitación de hierro se dispersa.

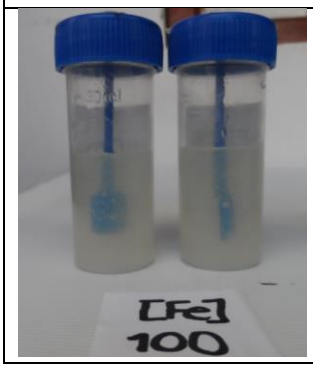
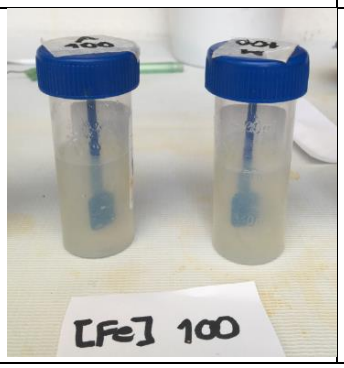
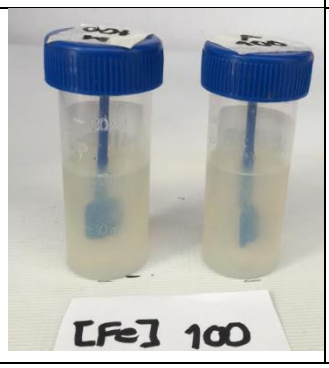
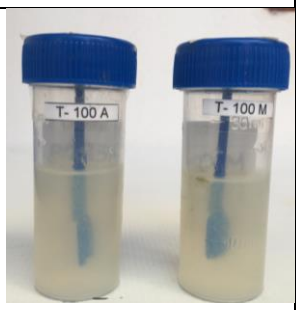
BOFe en sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 800 mg/L Microaerofilia			
			
Tratamiento con DAM (800 mg/L) inoculado con consorcio de BOFe.	El sistema se mantiene en microaerofilia y se evidencia la formación de precipitados.	Generación de filamentos y flogs en el sistema.	Mayor precipitación de hierro en todo el sistema.

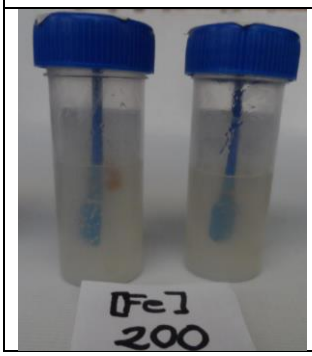
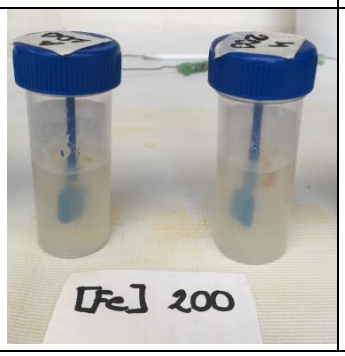
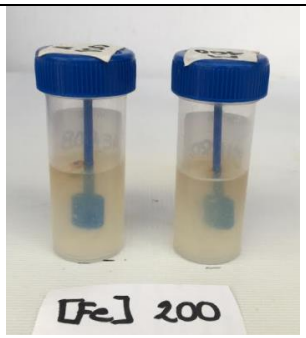
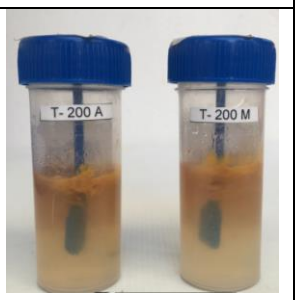
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

ANEXO 14

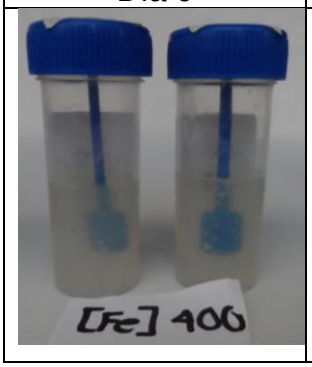
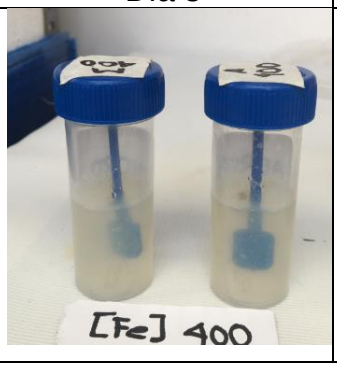
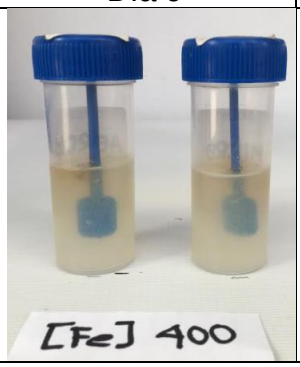
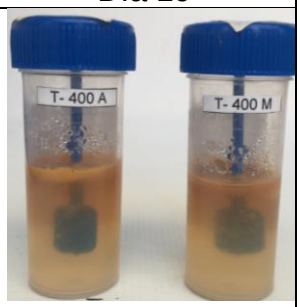
DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO DE LAS BOFE OBTENIDAS DE LOS SISTEMAS AQUARIUM-FE, FE^{+2} (100, 200, 400, 600 Y 800 MG/L) EN TUBOS TAPA ROSCA CON 0.003 L DE MEDIO 9K MODIFICADO.

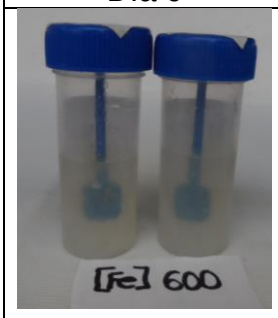
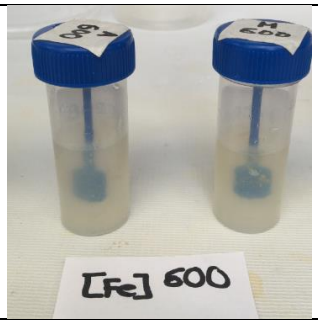
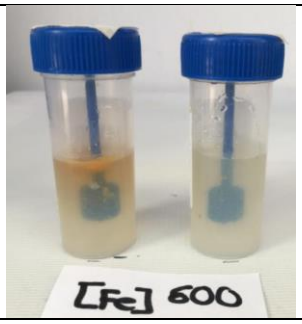
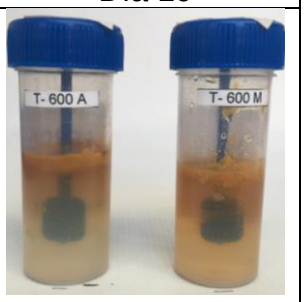
Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

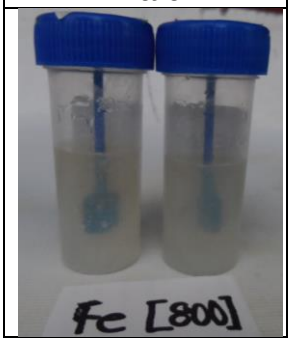
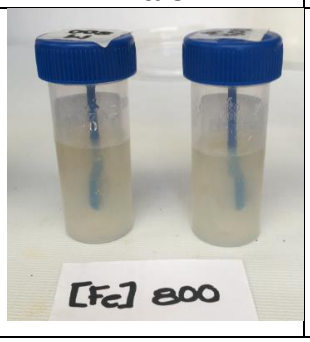
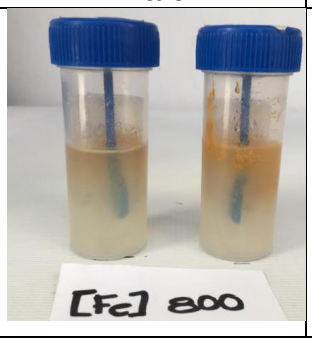
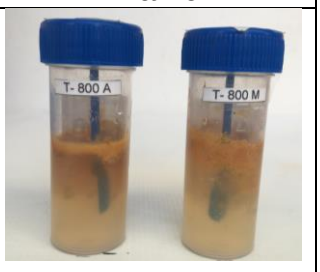
Repique de BOFe del sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 100 mg/L aerobiosis y microaerofilia			
27/03/2021	30/03/2021	05/04/2021	15/04/2021
Día 0	Día 3	Día 9	Día 19
			

Repique de BOFe del sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 200 mg/L aerobiosis y microaerofilia			
27/03/2021	30/03/2021	05/04/2021	15/04/2021
Día 0	Día 3	Día 9	Día 19
			

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú

Repique de BOFe del sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 400 mg/L aerobiosis y microaerofilia			
27/03/2021	30/03/2021	05/04/2021	15/04/2021
Día 0	Día 3	Día 9	Día 19
			

Repique de BOFe del sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 600 mg/L aerobiosis y microaerofilia			
27/03/2021	30/03/2021	05/04/2021	15/04/2021
Día 0	Día 3	Día 9	Día 19
			

Repique de BOFe del sistema Aquarium-Fe, con DAM [Fe^{+2}] 800 mg/L aerobiosis y microaerofilia			
27/03/2021	30/03/2021	05/04/2021	15/04/2021
Día 0	Día 3	Día 9	Día 19
			

Repositorio Institucional - UNASAM - Perú