



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

---

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMA MULTISCIPLINARIO DE POSGRADO EN  
CIENCIAS AMBIENTALES

**MODIFICACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD DE RESIDUOS MINEROS EN  
PRESENCIA DE MATERIA ORGÁNICA EMPLEANDO  
BACTERIAS REDUCTORAS DE SULFATOS**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA:

**I.A. JULIA MARIANA MÁRQUEZ REYES**

**DIRECTOR DE TESIS:**

DR. ROBERTO BRIONES GALLARDO

Proyecto financiado por  
FMSLP-2005-C01-32

---

---

PROYECTO DESARROLLADO EN EL LABORATORIO DE RESTAURACIÓN AMBIENTAL  
DEL INSTITUTO DE METARLURGÍA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA DE LA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

CON EL FINANCIAMIENTO DEL  
PROYECTO FOMIX  
FMSLP-2005-C01-32

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)  
BECA-TESIS (201380)

EL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES ESTA INCLUIDO EN EL  
PADRÓN NACIONAL DE POSGRADOS DEL  
CONACYT

---

---

---

---

Esta tesis fue apoyado parcialmente por el Programa Integral de Fortalecimiento de la UASLP (PIFI 1.0 a 3.4) mediante el Plan de Desarrollo del Cuerpo Académico de Tecnología Ambiental 2006 - 2008 (Convenios P/CA-116 2006-24-36 y P/CA 116-2007-24-42-02).

---

---

---

---

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por la oportunidad brindada al incorporarme al Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales.

Al Instituto de Metalurgia de la UASLP por el espacio de trabajo y equipos prestados para la realización del presente trabajo de tesis.

Al Dr. Roberto Briones Gallardo, Dr. Antoni Escalas Cañellas, Dra. María de Lourdes Celis García y a la Dra. María Guadalupe Barajas López, por sus enseñanzas, apoyo, aportaciones, recomendaciones y tiempo dedicado durante este trabajo de investigación.

A la M. en C. María del Carmen Ojeda Escamilla , M. en C. Nubia Verónica Arteaga Larios, Q. Claudia Hernández Galván y al M. en C. Francisco Galindo Murillo por el apoyo brindado en el procesamiento, análisis y cuantificación de muestras.

A mis compañeros de laboratorio, Bianca, Ofelia, Israel, Adriana, Mariano y David por hacer entretenida y divertida mi estancia en el laboratorio.

A Melva, Claudia, Angeles, Natalia, José Luís y Hermam por su amistad y apoyo incondicional en todo momento.

A Sirius e Hydra por esperarme pacientemente en casa al final de cada día.

---

---

---

---

A mis Padres Julia y Raymundo y hermanos Carlos y Luís por estar junto a mi en cada momento de mi vida.

A Juanita por seguir atenta a todo lo que pasa a mi alrededor.

A Julián por seguir junto a mi apoyándome y ayudándome en todo.

Quien quiera tener o lograr algo que nunca ha tenido, tendrá que hacer algo... que nunca haya hecho antes.

---

---

---

---

<b>ÍNDICE</b>	XI
<b>Índice de Tablas</b>	XV
<b>Índice de figuras</b>	XV
<b>Índice de plantillas</b>	XVIII
<b>Acrónimos</b>	XIX
<b>1. Resumen</b>	1
<b>2. Introducción</b>	3
2.1. La minería	3
2.2. Problemas ambientales generados por la minería	4
2.3. Efectos del arsénico en la salud humana	8
2.4. Sitio de estudio	9
2.5. Tecnologías para la depuración de aguas subterráneas contaminadas	10
2.6. Justificación y objetivos	12
2.6.1. Justificación	12
2.6.2. Objetivo general	14
2.6.3. Objetivos específicos	14
<b>3. Marco Teórico</b>	15
3.1. Arsénico en el medio ambiente	15
3.1.1. Especies acuosas de arsénico	15
3.1.2. Abundancia y distribución del arsénico en agua, suelo y atmósfera	17
3.1.3. Interacción agua-fase sólida: movilización y retención de arsénico	19
3.1.3.1. Adsorción/desorción de arsénico en la fase sólida	19
3.1.3.2. Mecanismos de incorporación de arsénico al agua	20
3.2. Drenaje ácido de mina	21
3.3. Definición de una barrera reactiva permeable	26
3.4. Potencial oxido-reducción (REDOX)	28
3.5. Reducción biológica	31
3.6. Microcosmos	34
3.7. Cinéticas microbianas	35
<b>4. Metodología</b>	39

---



---

4.1. Caracterización fisicoquímica del residuo minero-metalúrgico (M3)	39
4.1.1. Muestreo	39
4.1.2. Cuantificación granulométrica	40
4.1.3. Densidad y contenido volumétrico de agua	41
4.1.4. Contenido de materia orgánica y alcalinidad	41
4.1.5. Análisis químico	41
4.1.6. Bioaccesibilidad	42
4.1.7. Digestión total asistida por microondas	42
4.1.8. Movilidad fraccionada para cationes	42
4.1.8.1. Movilidad fraccionada para aniones (As)	44
4.1.9. Determinación de sulfato	45
4.1.10. Determinación de fases cristalinas mayoritarias	46
4.2. Procesamiento del biosólido o sustrato orgánico	47
4.2.1 Caracterización fisicoquímica del biosólido liofilizado o sustrato orgánico	47
4.2.1.1. Determinación del carbono orgánico total (COT)	47
4.2.1.2. Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)	48
4.3. Inóculos de trabajo	48
4.4. Medios de cultivo	49
4.5. Determinación de sulfuro de hidrógeno (H <sub>2</sub> S) en medio líquido	49
4.6. Cinéticas sulfatorreductoras	50
4.6.1. Cinética sulfatorreductora utilizando como donador de electrones las fuentes de carbono del medio Postgate y el biosólido liofilizado	50
4.6.2. Cinéticas de adsorción del H <sub>2</sub> S sobre el biosólido liofilizado	51
4.6.3. Comportamiento del biosólido liofilizado a diferentes Concentraciones, en presencia de JH y M2, en ausencia de fuente de sulfato	51
4.6.4. Cinéticas de consumo de oxígeno disuelto (OD) y variación del potencial de óxido-reducción (Eh) de consorcios sulfarorreductores (JH y M2)	51
4.7. Determinación de parámetros cinéticos q <sub>max</sub> y K <sub>s</sub> (cinéticas de BIOSL)	52
4.7.1. Evaluación del H <sub>2</sub> S como agente inhibidor en los consorcios	

---



---

---

JH y M2 en presencia de biosólido liofilizado	53
4.8. Estabilización de M3 por actividad sulfato reductora	53
<b>5. Resultados y Discusión</b>	<b>57</b>
5.1. Caracterización fisicoquímica del residuo minero-metalúrgico	57
5.1.1 Determinación granulométrica, densidad y contenido volumétrico de agua	57
5.1.2. Cuantificación de materia orgánica, carbonatos y fases cristalinas	58
5.1.3. Análisis químico de metales (digestión total y bioaccesibilidad)	59
5.1.4 Movilidad fraccionada para aniones y cationes	61
5.1.5. Análisis de fases cristalinas después de la movilidad fraccionada (DRX)	64
5.1.6. Determinación de sulfatos por UV-Vis	65
5.2. Caracterización fisicoquímica del biosólido liofilizado (BIOSL)	68
5.2.1. Determinación de carbono orgánico total (COT) y demanda química de oxígeno (DQO)	69
5.2.2. Determinación total de metales en el BIOSL	70
5.3. Balance final de metales	71
5.4. Inóculos sulfatorreductores	73
5.4.1. Método turbidimétrico para determinar sulfuro de hidrógeno	74
5.4.2. Cinéticas de consorcios sulfatorreductores en presencia de medio Postgate	76
5.4.3. Cinéticas de consorcios sulfatorreductores variando el porcentaje de biosólido liofilizado	79
5.4.4. Consumo de oxígeno de JH y M2 en presencia de medio Postgate	81
5.4.5. Variación del Eh utilizando como donador de electrones el medio Postgate y el biosólido liofilizado	84
5.4.6. Cinética de adsorción de sulfuro sobre el biosólido liofilizado	86
5.4.7. Evaluación del comportamiento del biosólido liofilizado en medio líquido	88
5.5 Determinación de parámetros cinéticos en un sistema en lote	90
5.5.1 Cinéticas con sulfuro y biosólido	90

---

---

---

5.5.2. Evaluación del H <sub>2</sub> S como agente inhibidor en los consorcios JH y M2 en presencia de biosólido liofilizado	96
5.6 Estabilización de metales pesados por actividad reductora de sulfatos	100
<b>6. Conclusiones y Recomendaciones</b>	131
6.1. Conclusiones	131
6.2. Recomendaciones	134
<b>7. Bibliografía</b>	136
<b>8. Anexos</b>	145

---

<b>Índice de Tablas</b>		Pag
Tabla 1	Minerales de arsénico más frecuentes	18
Tabla 2	Concentración de arsénico en algunos de los minerales más comunes	19
Tabla 3	Matriz experimental de respirometría y REDOX	52
Tabla 4	Diseño experimental de los microcosmos planteados	54
Tabla 5	Concentración de EPT en el residuo M3 determinados por digestión total y prueba de bioaccesibilidad	61
Tabla 6	Características analíticas del método de calibración propuesto para determinar sulfatos	66
Tabla 7	Contenido de sulfatos en las distintas fracciones del suelo	68
Tabla 8	Determinación del carbono orgánico en el BIOSL	69
Tabla 9	Cuantificación total de metales y sulfatos provenientes de M3	72
Tabla 10	Características analíticas del método de calibración univariante propuesto para determinar sulfuro	75
Tabla 11	Porcentaje de adsorción del sulfuro a distintas concentraciones	87
Tabla 12	Concentraciones de sulfuro total (ST), sulfuro no disociado (H <sub>2</sub> S) y velocidad de producción de sulfuro	100
Tabla 13	Concentración de EPT en el sobrenadante y el biosólido liofilizado	108
Tabla 14	Partición de arsénico en el residuo M3 modificado por ARS con los consorcios JH y M2 (Determinado por ESS-aniónica)	110
Tabla 15	Partición de plomo en el residuo M3 modificado por ARS con los consorcios JH y M2 (Determinado por ESS-catiónica).	110

<b>Índice de Figuras</b>		
Figura 1	Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico en el sistema As-O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O a 25°C y 1 bar de presión total	16
Figura 2	Esquema de mecanismos de oxidación de la pirita en presencia de oxígeno	24
Figura 3	Barrera reactiva permeable usada para tratar agua contaminada con iones metálicos	27
Figura 4	Diagrama Eh-pH para especies de Pb y Fe	30
Figura 5	Diagrama de Pourbaix para S, con la formación de H <sub>2</sub> S a pH <7 y -0.4V	31
Figura 6	Secuencia de procesos redox realizada por microorganismo	32
Figura 7	Procesos microbiológicos que pueden afectar la reducción del sulfato con una fuente de carbono orgánico	34
Figura 8	Curva de crecimiento bacteriano Ln X vs tiempo.	37
Figura 9	Puntos de muestreo de M2 y JH dentro del distrito minero de Villa de la Paz-Matehuala	40
Figura 10	Extracción secuencial selectiva para metales y Arsénico contenidos en suelos	43
Figura 11	Análisis granulométrico para partículas menores a 250 µm obtenido por difracción láser	58

---

Figura 12	Cantidad de materia orgánica y carbonatos presentes en el residuo M3 de acuerdo al tamaño de partícula	59
Figura 13	Difractogramas de las fases granulométricas de M3. I: illita, Q: cuarzo, Cal: calcita	60
Figura 14	Extracción secuencial sucesiva catiónica de EPT de la fracción menor a 2 mm del residuo M3	62
Figura 15	Comparación de la movilidad fraccionada del As catiónica y aniónica. Sol- soluble, Int-Intercambiable, Car-carbonatos, Ox-óxidos Fe-Mn, Mat-S- Materia orgánica y sulfuros, Re-residual	63
Figura 16	Difractogramas para las distintas fracciones de las extracciones secuenciales para metales. Fases minerales mayoritarias	64
Figura 17	Curva de calibración para sulfato	65
Figura 18	Representación gráfica de la concentración estimada vs concentración esperada de sulfato	67
Figura 19	Concentración de EPT presentes en el BIOSL	71
Figura 20	Botella serológica con presencia de actividad reductora de sulfatos	74
Figura 21	Curva de calibración convencional para Na <sub>2</sub> S	75
Figura 22	Concentración estimada vs concentración esperada de sulfuro en la serie de mezclas de validación	76
Figura 23	Actividad sulfatorreductora de JH en medio Postgate	78
Figura 24	Actividad sulfatorreductora de M2 en medio Postgate	78
Figura 25	Actividad sulfatorreductora variando la concentración de biosólido para el inóculo JH	80
Figura 26	Actividad sulfatorreductora variando la concentración de biosólido liofilizado para el inóculo M2	80
Figura 27	Consumo de oxígeno para el consorcio JH	82
Figura 28	Consumo de oxígeno para el consorcio M2	83
Figura 29	Decaimiento del potencial de óxido reducción en medios Postgate y BIOSL para el consorcio JH	85
Figura 30	Decaimiento del potencial de óxido reducción en medios Postgate y BIOSL para el consorcio M2	85
Figura 31	Comportamiento de la adsorción del H <sub>2</sub> S sobre el BIOSL, variando distintas concentraciones de sulfuro	87
Figura 32	Apariencia del biosólido liofilizado en medio líquido	88
Figura 33	Influencia de la materia orgánica soluble en JH	89
Figura 34	Influencia de la materia orgánica soluble en M2	90
Figura 35	Producción de sulfuro biogénico "real" obtenido con el consorcio JH a distintas concentraciones de BIOSL	92
Figura 36	Producción de sulfuro sulfuro biogénico "real" obtenido con el consorcio M2 a distintas concentraciones de BIOSL	92
Figura 37	Velocidad máxima de producción real de sulfuro biogénico para el consorcio JH a diferentes concentraciones de BIOSL	94
Figura 38	Velocidad máxima de producción real de sulfuro biogénico para el consorcio M2 a diferentes concentraciones de BIOSL	94
Figura 39	Perfiles de concentración de sulfuro de JH con respecto al tiempo a diferentes concentraciones de sulfuro como agente inhibidor	97

---

---



---

Figura 40	Perfiles de concentración de sulfuro de M2 con respecto al tiempo a diferentes concentraciones de sulfuro como agente inhibidor	97
Figura 41	Concentración aparente de sulfuro en solución atribuido a la respuesta de una concentración de 350 mg DQO L <sup>-1</sup>	99
Figura 42	Botellas serológicas en donde se muestra el Microcosmos 1 (MC1), microcosmos 2 (MC2) y microcosmos 3 (MC3)	101
Figura 43	Evaluación de los consorcios sulfatorreductores en presencia del residuo minero-metalúrgico (microcosmos 1)	102
Figura 44	Evaluación de la respuesta de absorbancia para sistemas conteniendo: M3+BIOSL; solamente M3 y solamente BIOSL	103
Figura 45	Variación del contenido volumétrico de agua en el microcosmos 3	104
Figura 46	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo	105
Figura 47	Comportamiento del sulfuro en el microcosmos 3 (inóculo+residuo+biosólido)	107
Figura 48	Precipitado amarillo generado bajo las condiciones del microcosmos 3 con el consorcio JH	107
Figura 49	Porcentaje de estabilización y movilidad de metales en el residuo M3 expuesto a la ARS del consorcio bacteriano JH.	112
Figura 50	Porcentaje de estabilización y movilidad de metales en el residuo M3 expuesto a la ARS del consorcio bacteriano M2.	112
Figura 51	Concentración de sulfato presente en el residuo M3 de la ESS para el consorcio JH de acuerdo a la humedad en el sistema.	114
Figura 52	Concentración de sulfato presente en el residuo M3 de la ESS para el consorcio M2 de acuerdo a la humedad en el sistema.	115
Figura 53	Fotomicrografía obtenida por MEB bajo el modo electrones retrodispersos, del residuo minero-metalúrgico (a) y el biosólido liofilizado (b)	120

---

---

## Plantillas

Plantilla 1	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo producido por el consorcio JH; (a y b) óxidos de Zn y Fe y silicatos complejos, (c, d) rejalgar y óxidos de As-Pb	116 117
Plantilla 2	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo producido por el consorcio M2, (a) óxidos de As, (e,f y g) rejalgar y galena (h)	118 119
Plantilla 3	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, después de la actividad del consorcio JH	124
Plantilla 4	Fotomicrografías s obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, después de la actividad del consorcio JH; (a) silicatos de Ca, Fe del tipo andradita ó hedenbergita asociados a cloritas, (b) esfalerita, cuarzo y silicato; (c)rejalgar y (d) óxido de hierro	125
Plantilla 5	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de carbonatos para el consorcio JH; (a) rejalgar, (b) esfalerita, sulfuro de hierro, (c) óxido Fe-Zn-As y (d) óxidos Pb-As	126
Plantilla 6	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de carbonatos para el consorcio M2; (a y b) rejalgar, (b) silicatos, (b y c) óxido Fe-Zn y (d) óxido Pb-As	127
Plantilla 7	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de óxidos Fe-Mn para el consorcio JH; (a) esfalerita, (b) sulfuro de Fe y (c) óxidos de Pb	128
Plantilla 8	Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de óxidos Fe-Mn para el consorcio M2; (a) óxidos Fe-As asociados a sílice, (b) óxidos Pb-As, (c) silicatos del tipo de las cloritas entremezclados con feldespatos K. Se observa oclusión de óxido de Pb – As	129

---

---

## Acrónimos

<b>ARS</b>	Actividad reductora de sulfatos
<b>BIOSL</b>	Biosólido liofilizado
<b>BRP</b>	Barrera reactiva permeable
<b>BSR</b>	Bacterias sulfatorreductoras
<b>COT</b>	Carbono orgánico total
<b>CT</b>	Carbono total
<b>DAM</b>	Drenaje ácido de mina
<b>DNM</b>	Drenaje neutro de mina
<b>DRX</b>	Difracción de rayos X
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno
<b>EAA</b>	Espectrometría de absorción atómica
<b>EDS</b>	por sus siglas en inglés Espectrometría de energía dispersa
<b>Eh</b>	Potencial de óxido-reducción con respecto al electrodo estándar de hidrógeno
<b>ESS</b>	Extracción secuencial sucesiva
<b>EPA</b>	Agencia de protección ambiental, por sus siglas en inglés
<b>EPT</b>	Elementos potencialmente tóxicos
<b>JH</b>	Consortio bacteriano sulfatorreductor
<b>LC</b>	Límite de cuantificación
<b>LD</b>	Límites de detección
<b>NIST</b>	Instituto nacional de estándares y pruebas de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés
<b>MEB</b>	Microscopio electrónico de barrido
<b>M2</b>	Consortio bacteriano sulfatorreductor
<b>M3</b>	Residuo minero metalúrgico
<b>OD</b>	Oxígeno disuelto
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>SHE</b>	Electrodo de hidrógeno
<b>SRM</b>	Material estándar de referencia
<b>SSV</b>	Sólido suspendidos volátiles



---

---

## 1. RESUMEN

La minería en México es un pilar económico importante, desafortunadamente también es un foco de contaminación, ya que en el procesamiento de algunos minerales se desprenden contaminantes que pueden llegar a ser tóxicos, causando graves problemas de salud a la población y ambientales. Uno de los principales problemas es la formación de drenaje ácido de mina (DAM). Por tal razón, en el presente trabajo, se estudiaron los parámetros fisicoquímicos para estabilizar arsénico y plomo por actividad reductora de sulfatos (ARS). Además de determinar los parámetros cinéticos microbianos de los consorcios JH y M2.

Se evaluó el comportamiento de dos consorcios bacterianos (JH y M2) que presentaron actividad reductora de sulfato, aislados previamente del Distrito Minero de Villa de la Paz Matehuala, en el Estado de San Luis Potosí, México. Para conocer la cinética bacteriana se empleó como donador de electrones o fuente de carbono un sustrato de lenta degradación como es el lodo de purga de un sistema de tratamiento de agua residual aerobio denominado BIOSL. Se encontró que ambos consorcios tienen la capacidad de utilizar dicho sustrato para realizar sus funciones metabólicas básicas como duplicación celular y la producción de sulfuro de hidrógeno a partir de la reducción de sulfato.

Se determinó que existe una variación metabólica en los consorcios JH y M2. El consorcio M2 presentó una mayor velocidad de producción de sulfuro ( $\sim 110 \text{ mmol H}_2\text{S g SSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) comparada con la de JH ( $\sim 12 \text{ mmol H}_2\text{S g SSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Sin embargo, JH presentó una mayor afinidad a sustrato con una  $K_s$  de  $53.07 \text{ mg DQO L}^{-1}$  comparada con la  $K_s$  de M2 ( $766.4 \text{ mg DQO L}^{-1}$ ).

Se comprobó que en ambos consorcios bacterianos existen bacterias reductoras de sulfato incompletas, ya que no llevan al sustrato orgánico hasta mineralización.

El biosólido debido a su composición, representó una interferencia en la cuantificación de sulfuro disuelto, por la disolución de los ácidos fúlvicos que lo constituyen; así también se apreció que el BIOSL tiende a adsorber el sulfuro de hidrógeno.

---

---

Se estudió la modificación de la bioaccesibilidad del residuo minero-metalúrgico M3, simulando condiciones de un clima semiárido variando el contenido volumétrico de agua. M3 fue caracterizado antes y después de someterlo a actividad reductora de sulfato con la finalidad de generar sulfuros metálicos bajo condiciones reductoras. Estos sulfuros metálicos son más estables y en el caso del sulfuro de arsénico éste se aprecia en coloración amarillo, el cual fue retirado y analizado por microscopia electrónica de barrido (MEB), y se observó principalmente la formación de rejalgar.

El pH del sistema experimental se mantuvo neutro por lo que se corrobora que en el sitio de estudio existe la presencia de drenaje neutro de mina (DNM) debido a la gran cantidad de carbonatos presentes en el suelo.

Se observó que el BIOSL adsorbe una determinada concentración de los metales en solución debido a los grupos funcionales que constituyen su estructura química y que éste puede ser separado del sistema por flotación.

En cuanto a la evaluación de los porcentajes de estabilización del residuo M3 sometido a extracción secuencial, se encontró el arsénico estabilizado en JH en un 40.1 % mientras que en M2 fue de 77.84 % en condiciones de inundación, disminuyendo la bioaccesibilidad hasta en un 17.7%.

La observación al MEB del residuo M3 al término de los experimento indicó la formación de rejalgar.

El sistema propuesto servirá como base y antecedentes para el escalamiento de experimentos con la finalidad de construir en un futuro una barrera reactiva permeable (BRP), la cual permite controlar la contaminación de las aguas subterráneas en el sitio de estudio.

---

---

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. La minería**

La industria minera mundial es uno de los principales pilares en economías de países desarrollados y en vías de desarrollo. La minería es un conjunto de actividades del sector industrial que incluye operaciones de exploración, explotación y beneficio de minerales. Es una actividad económica primaria, porque los minerales se toman directamente de la naturaleza. Existe una amplia variedad de minerales en la Tierra. La naturaleza los presenta en lugares donde se acumulan, conocidos como yacimientos, los cuales se encuentran al aire libre o en el subsuelo, a diferentes profundidades, o en el fondo del mar (INE, 2006).

En México, la minería es una de las actividades económicas de mayor tradición forma parte de su historia e identidad, contribuye en gran medida al desarrollo económico del país y suministra insumos a una serie de industrias (construcción, metalúrgica, siderúrgica, química y electrónica). De acuerdo con información de la Dirección General de Minas, la industria minera nacional es mayoritariamente metálica, y se dedica principalmente a la producción de cobre, zinc, plata y plomo (INE, 2006).

A nivel mundial, México ocupa el segundo lugar en producción de bismuto (18.7 %), fluorita (17.2) y plata (14%), el cuarto lugar en producción de arsénico (3%) y el sexto en plomo (4%) (SE, 2006).

La producción minera en México, se concentra en doce entidades, principalmente: Chihuahua, Michoacán, Zacatecas, Durango, Sonora, Coahuila, Guanajuato, San Luis Potosí, Hidalgo, Sinaloa, Colima y Jalisco.

De acuerdo a la OIT (Organización Internacional del Trabajo) se estima que cerca de 11 millones de personas trabajan en la minería formal, lo cual constituye aproximadamente el 0.5% de la fuerza laboral mundial, mientras que en la minería informal trabajan entre 11.5 y 13 millones de personas (Razo, 2006).

---

---

Durante 2007, el producto interno bruto de la minería no petrolera registró un crecimiento anual de 3.7%, al alcanzar un valor de 10,537.8 millones de pesos (PND, 2007-2012). Este comportamiento se debió principalmente a los incrementos en la producción de carbón mineral, hierro, oro, plata, cobre, cadmio, manganeso, molibdeno, sílice, barita, dolomita, wollastonita, diatomita, entre otros.

En 2007, el índice de volumen físico de la producción minerometalúrgica creció 1.8% con relación al mismo lapso de 2006, debido principalmente al aumento en el volumen de la producción del molibdeno (156.9%), manganeso (25.2%), oro (9.6%), hierro (10.8%), diatomita (32.5%), wollastonita (22.4%), barita (20.6%), arena sílica (9.1%) y carbón no coquizable (6.5%) (PND, 2007-2012).

En el mismo periodo, los precios internacionales de los principales metales también registraron incrementos: 100% el plomo, 18.4% el hierro, 15.9% la plata, 15.4% el oro y 5.9% el cobre. Este repunte favoreció el valor de la producción minerometalúrgica con un crecimiento de 13.1% al pasar de 78,561.2 a 88,820.1 millones de pesos.

Durante 2007, la balanza comercial de la industria minerometalúrgica observó un déficit de 1,263.9 millones de dólares, monto inferior en 56.8% al registrado en 2006. Este resultado se derivó del incremento de 28.3% en el valor de las exportaciones (PND, 2007-2012).

## **2.2. Problemas ambientales generados por la minería**

La industria minera en México ha generado por décadas una gran cantidad de desechos y sitios contaminados a lo largo de todo el país (INE, 2005), relacionados al desarrollo y modernización en los procesos de extracción y procesamiento de los recursos minerales.

Por otra parte, la minería y los procesos metalúrgicos de fundición son fuentes importantes de metales y metaloides (elementos potencialmente tóxicos, EPT, como: As, Pb, Cd, Hg, Se, Sb, Cu, Zn, entre otros) que contribuyen significativamente en la contaminación de aire, agua y suelo.

---

---

Una de las principales causas de contaminación de suelos en áreas mineras es la deficiencia e ineficiencia del manejo de grandes volúmenes de residuos que contienen elevadas concentraciones de EPT. La emisión atmosférica de polvos y productos de fundición representan la mayor fuente de contaminación de procesos metalúrgicos de fundición.

La dispersión de estos contaminantes puede afectar severamente todos los compartimientos del ambiente (aire, agua, suelo), pero la contaminación de suelo tiene una especial importancia por ser el principal receptor de EPT, y actuar como un regulador natural del transporte de estos hacia la atmósfera, hidrósfera y biota (Razo, 2006).

Los problemas de contaminación ambiental reportados en sitios mineros históricos, demuestran que aun cuando existe atenuación natural en estos sitios, las concentraciones de EPT pueden mantenerse como fuentes de dispersión por decenas o cientos de años, generando a su vez problemas de salud a la población, destrucción y alteración de los hábitats que se encuentran en los alrededores de los sitios mineros.

Sin embargo, algunos de estos impactos ambientales pueden ser prevenidos si se aplica un adecuado sistema de manejo de residuos, así como medidas adecuadas de prevención, remediación, restauración, control y gestión ambiental durante el transcurso de las operaciones y al cierre de las mismas.

En la actualidad, las grandes compañías mineras internacionales generalmente trabajan bajo exigentes estándares de calidad ambiental. Sin embargo, existen algunos sitios, sobre todo en países subdesarrollados, en donde se continúa provocando severos impactos en el ambiente como consecuencia principalmente de: a) la carencia de normas ambientales que consideren adecuadamente las características específicas de una operación minera (tipo y composición de residuos, disposición final de los residuos, duración del proyecto, etc.), b) el relajamiento de las acciones de vigilancia en el cumplimiento de normas y c) la existencia de operaciones de baja calidad tecnológica, no controladas y/o desorganizadas (Razo, 2002).

Los sitios en donde se desarrolla una actividad minera de explotación y beneficio de mineralizaciones polimetálicas, pueden presentar problemas de

---

---

contaminación por arsénico y metales pesados debido a: 1) la dispersión de partículas minerales desde los depósitos de residuos (jales), promovida por la acción del viento y/o agua (lluvia, ríos y arroyos), 2) la movilidad de metales disueltos durante el intemperismo o alteración de minerales sobresaliendo en este último, el conocido como drenaje ácido de mina (DAM) (Razo, 2002).

El DAM no se genera a la misma velocidad en sitios con condiciones climáticas diferentes. En sitios áridos no se ve inmediatamente la coloración ocreamarilla típica de un DAM pero una vez iniciado la generación continuará indeterminadamente. En esos tipos de climas existen tolvaneras y lluvias estacionales que contribuyen con la dispersión de contaminantes debido a que los suelos desérticos carecen de una cubierta vegetal, siendo además la erosión eólica una ruta de dispersión importante. Además, en algunos sitios se puede asociar una elevada vulnerabilidad en los acuíferos, por la escasa recarga local y la infiltración de escorrentías con concentraciones elevadas de elementos tóxicos. Lo anterior agrava los problemas de contaminación debido a la casi nula atenuación natural que favorecería la estabilidad.

Debido a los impactos ambientales que provocan los residuos generados en el procesamiento de minerales, es necesaria la implementación de tecnologías adecuadas para la prevención, control y restauración de los sitios impactados por actividades mineras.

Por lo tanto, uno de los principales problemas es la contaminación de suelos y agua subterránea por EPT provenientes básicamente de los drenajes ácidos o neutros de mina, los cuales son considerados potencialmente tóxicos en un ecosistema por las concentraciones solubles elevadas de diversos iones metálicos (Pb), metaloides (As) y aniones  $[AsO_4^{3-}]$ .

El problema principal de los EPT es su movilidad, ya que estos contaminantes pueden ser transportados a diferentes cuerpos receptores donde podrán llegar a estar en contacto con seres vivos, impactando su salud negativamente, tal es el caso del arsénico y el plomo.

El arsénico es extremadamente tóxico por bioacumulación. Exposiciones prolongadas durante mucho tiempo son extremadamente nocivas para la salud humana. Se han asociado con este elemento diversos tipos de cáncer,

---

---

patologías cardiovasculares, diabetes, anemia, y alteraciones en las funciones reproductoras, inmunológicas, neurológicas y del desarrollo.

El arsénico se encuentra en las aguas naturales como especie disuelta, la cual se presenta por lo común como oxianiones con arsénico en dos estados de oxidación, arsenito  $\text{As}(+3)$  y arsenato  $\text{As}(+5)$ . El estado de oxidación del arsénico, y su movilidad, están controlados fundamentalmente por las condiciones redox (potencial redox, Eh) y el pH.

El contenido de arsénico en las aguas naturales, superficiales y subterráneas, no contaminadas, no suele ser alto. Hay casos anómalos, sobre todo acuíferos, que presentan valores excepcionales, como ocurre en el caso de Bangladesh, Taiwán y Japón, entre otros.

El fenómeno de la existencia de un alto contenido de arsénico de origen natural en el agua está controlado por tres factores: la fuente primaria de arsénico (geósfera y atmósfera), los procesos de movilización/retención de arsénico en la interacción entre la fase sólida y la fase líquida, y el transporte de arsénico como especie acuosa en el seno del agua. Los procesos geoquímicos que controlan la movilización de arsénico al agua son: disolución, reacciones de oxido-reducción, reacciones de adsorción-desorción, y reacciones de precipitación-coprecipitación y/o codisolución (Razo, 2002).

Tanto los arsenitos como arsenatos pueden ser adsorbidos en la superficie de una gran variedad de materiales presentes en el medio ambiente como son óxidos de hierro, manganeso y aluminio, en función del pH; también puede ser adsorbido por arcillas y materia orgánica (Pelallo, 2006).

La desorción del arsénico adsorbido en la fase sólida está condicionada por los cambios en pH y la ocurrencia de reacciones redox (reducción/oxidación), la presencia de iones competitivos, y los cambios en la estructura cristalina de la fase sólida. Las reacciones de coprecipitación-codisolución están controladas por el pH, temperatura, Eh y concentración de especies acuosas de la solución.

Existen varios mecanismos de incorporación de arsénico de origen natural al agua: a) oxidación de sulfuros; b) disolución de óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn en condiciones ácidas; c) desorción en condiciones oxidantes a pH alto; d)

---

---

desorción y disolución de óxidos y oxihidróxidos relacionados con cambios a condiciones reductoras; e) desorción por reducción de superficie específica en la fase sólida; f) desorción por reducción en la carga superficial de la fase sólida (Smedley y Kinniburgh, 2002).

El plomo y sus componentes pueden ser introducidos en el ambiente por la industria minero-metalúrgica en cualquier punto de su extracción, fundición y/o procesamiento. Este elemento tiene gran afinidad por el azufre lo que conlleva a que su principal estado natural sea como galena (PbS). Principalmente lo encontramos como  $Pb^{2+}$ , aunque también puede presentarse en su estado de oxidación +4, constituyendo varios minerales que son insolubles en aguas naturales (Pérez, 2007). Cuando ocurren procesos de intemperismo, los sulfuros de plomo se oxidan lentamente y tienen la propiedad de formar carbonatos o sulfatos, o en su defecto fijarse sobre superficies arcillosas, óxidos de Fe y Mn y/o materia orgánica. El plomo presenta la propiedad de remplazar al K, Ba, Sr y Ca, tanto en sitios de adsorción como en redes cristalinas, esto es debido a que se comporta como un metal alcalinotérreo. El plomo es reconocido como el elemento que presenta menor movilidad entre los metales (Razo, 2002).

La legislación relacionada con el arsénico y plomo, NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización", establece que los límites máximos permisibles para arsénico son de  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  y para el plomo de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  en su modificación hasta el año 2005.

### **2.3. Efectos del arsénico en la salud humana**

El riesgo de la ingestión de arsénico está directamente asociado con la biodisponibilidad, es decir a la cantidad de arsénico que se absorbe en el tracto gastrointestinal comparada con la cantidad total ingerida. En sitios con contaminación antropogénica o natural, por arsénico, este elemento se encontrará en formas geoquímicas diferentes las cuales regirán su solubilidad y estabilidad, lo que definirá que sea o no biodisponible y de esta manera podría ser un riesgo mínimo para la salud.

---

---

El arsenito ( $As^{+3}$ ) es más tóxico que el arsenato ( $As^{+5}$ ). El mecanismo primario de toxicidad del arsenito consiste en atacar los grupos sulfhídricos de las proteínas mientras que el arsenato afecta la fosforilación oxidativa por inhibición competitiva del fosfato. La ingestión de grandes dosis de arsénico generan problemas gastrointestinales, al sistema nervioso y cardiovascular, además de un incremento en padecer cáncer de piel, pulmón, vejiga y riñón, así como enfermedades de la piel tales como hiperqueratosis y cambios de pigmentación (WHO, 2001).

Además, se ha reportado que la exposición crónica al arsénico en combinación con problemas de desnutrición podrían ser la causa de ciertos efectos neurológicos identificados en niños, tales como deficiencias en la habilidad verbal y en la memoria a largo plazo (Razo, 2002).

La diversidad biológica que se presente en lugares con altas concentraciones de arsénico se ve disminuida aun en bajas concentraciones de arsénico, ya que la resistencia varía de organismo a organismo. Los efectos más típicos que se presentan son inhibición del crecimiento, disminución en la fotosíntesis y reproducción e incluso la muerte.

#### **2.4. Sitio de estudio**

El sitio de estudio en el presente trabajo se localiza en el Estado de San Luis Potosí, la cual es una entidad productora de minerales metálicos y no metálicos, como fluorita, arsénico, estaño, zinc, plata, cobre, plomo, bentonita, oro, arcillas, sílice, caliza y sal (García, 2008). En dicho Estado existen distintos Distritos Mineros, pero el presente trabajo se enfoca en el Distrito Minero de Santa María de la Paz, que está localizado en los Municipios de Villa de la Paz y Matehuala, incrustado en el margen oeste de la Sierra Madre Oriental, en las laderas de una pequeña serranía conocida como El Fraile, a 8 Km de la ciudad de Matehuala, S. L. P. (Razo, 2002; García, 2008). En dicho lugar existe la explotación y beneficio de minas polimetálicas de sulfuros de Pb-Zn-Ag (Cu, Au) que se caracterizan por tener altas concentraciones de minerales de arsénico (arsenopirita,  $FeAsS$ ). De acuerdo con Razo (2002) existen dos

---

---

principales rutas de dispersión de contaminantes en la región: el transporte fluvial de residuos mineros (terreros y jales) y las tolvaneras que generan un transporte eólico de partículas minerales provenientes de los jales.

La contaminación por EPT en áreas mineras y metalúrgicas ha sido ampliamente documentada y se ha demostrado que las concentraciones de arsénico, plomo, zinc, cobre y otros elementos son altas en matrices de agua suelo y sedimento. Por mencionar algunos valores, la concentración de Pb en suelo se cuantificó hasta en  $3450 \text{ mg kg}^{-1}$  y As total en agua hasta en  $60.6 \text{ mgL}^{-1}$  (Razo 2002; Razo, 2006; Pelallo, 2006). También se demostró que existe una alta exposición de los habitantes de Villa de la Paz a plomo y arsénico principalmente, por lo que se sugirió la implementación de medidas de control y remediación de las distintas matrices ambientales.

## **2.5. Tecnologías para la depuración de aguas subterráneas contaminadas**

Las tecnologías desarrolladas en los últimos 15 años para el tratamiento de las aguas subterráneas contaminadas se han basado en el bombeo, tratamiento exterior y su posterior recarga. Esta tecnología ha presentado varias limitaciones, ya que la disminución del contaminante con el tiempo no se da hasta concentraciones mínimas del mismo, por lo que se presentan niveles más altos que los requeridos para el saneamiento del agua o suelo y concluyen en una reiterada contaminación y tiempos más largos de tratamiento. Lo anterior eleva los costos estimados para su operación y mantenimiento, sumado a los costos de bombeo durante periodos largos de tratamiento, de tal forma que este tipo de tecnologías no son económicamente costeables y un sistema de descontaminación incompleta (Volke, 2002).

La biorremediación consiste en el uso de microorganismos para degradar las sustancias tóxicas, convirtiéndolas posiblemente en dióxido de carbono, agua y sales inocuas. Normalmente los microorganismos utilizan al contaminante como fuente de carbono o mediante degradación sintrófica (cometabolismo) de los tóxicos, es decir que tienen una fuente de carbono y energía distinta a la

---

---

del tóxico; esta técnica se puede realizar *in situ* modificando las condiciones fisicoquímicas de la zona contaminada (Volke, 2002; Suárez, 2006).

La fitorrestauración se lleva a cabo mediante la utilización de cultivos de plantas las cuales ayudan a eliminar los tóxicos presentes en agua y suelo. Estas pueden fijar los tóxicos o metabolizarlos. Se puede llevar a cabo la fitoextracción, la cual implica la captación principalmente de iones metálicos y su acumulación en tallos y hojas. También se ha aplicado para compuestos orgánicos (hidrocarburos), mientras que la fitodegradación se basa en la degradación de compuestos orgánicos (disolventes clorados, explosivos, herbicidas, etc.), donde éstos son absorbidos y metabolizados.

Por su parte la extracción es útil como tecnología *ex situ* o *in situ* y sólo consiste en transportar el contaminante de un medio contaminado a otro en donde podrá ser tratado o destruido con mayor facilidad. Otra tecnología utilizada es la de enjuague o lavado, que se basa en una técnica de tratamiento por extracción *in situ*. Ésta consiste en disolver los contaminantes absorbidos en partículas de suelo utilizando soluciones de lavado (ácidos, bases, detergentes, disolventes orgánicos o mezclas de los mencionados) con ayuda de pozos de inyección y extracción. Esta técnica de lavado combina el efecto del lavado con procesos como la fotólisis (eliminación de dioxinas), precipitación (en el caso de metales), adsorción (residuos de altos pesos moleculares y poco polares) o intercambio iónico, donde además de separar los contaminantes es necesario inmovilizarlos. Requiere valores de pH adecuados, unos de sus principios metodológicos lo constituyen las electrocinéticas, basadas en la separación en cargas iónicas de los contaminantes, mediante el efecto de la corriente eléctrica a través de una solución de purga añadida al suelo (Del Lobo, 2004).

Algunas de las tecnologías anteriormente mencionadas son comúnmente empleadas para controlar DAM pero normalmente son utilizadas como tratamientos *ex situ*; por lo cual, en el presente trabajo se propone la generación de parámetros biocinéticos para la utilización de una tecnología *in situ* como son las barreras reactivas permeables (BRP), ya que, en la actualidad su demanda de implementación ha aumentado ampliamente por

---

---

considerarse una tecnología económica, duradera y de bajo impacto ambiental (EPA, 1998).

## **2.6. Justificación y objetivos**

### **2.6.1. Justificación**

En el distrito minero de Santa María de la Paz se ha demostrado que existe una gran necesidad de implementar medidas de control y restauración adecuadas para evitar la dispersión de contaminantes. Dentro de los principales contaminantes podemos encontrar aquellos derivados de los drenajes ácidos o neutros de minas (DAM ó DNM) constituidos principalmente por metales pesados. En estos drenajes, la presencia de arsénico y plomo implican un mayor riesgo por su alto grado de toxicidad, donde las aguas subterráneas son los ecosistemas más impactados por los drenajes de mina, las cuales reciben grandes cantidades de dichos metales que pueden ser transportados a través de grandes distancias desde la fuente hasta entrar en contacto con los seres vivos, causando algunas enfermedades asociadas a su ingesta, tales como cáncer de pulmón, hígado y próstata (Lillo, 2007). Por lo que, se promueve la implementación de una barrera reactiva permeable como una medida de control de la contaminación. En el presente trabajo se evaluó la estabilización o remoción de estos elementos.

Debido a la ubicación y condiciones económicas del sitio es importante desarrollar sistemas de tratamiento de aguas subterráneas de alta remoción de iones metálicos, de bajo impacto ambiental y económicamente factibles como son las barreras reactivas permeables.

Para ello, es necesario estudiar las cinéticas microbianas de bacterias reductoras de sulfatos endémicas del sitio de estudio en un sistema de microcosmos que simulen las condiciones ambientales del Distrito Minero de Santa María de la Paz. Ya que éstas tienen como característica metabólica, la reducción de sulfato para generar sulfuro, que reacciona con los iones

---

---

metálicos disueltos y forma sulfuros metálicos que precipitan dentro de la barrera.

Se empleó como donador de electrones el biosólido, por ser un sustrato de lenta degradación, económico y fácil obtención.

Con la finalidad de obtener información básica e indispensable para el diseño de una barrera reactiva permeable y, de este modo, promover y optimizar la estabilización de iones metálicos, principalmente arsénico y plomo, a compuestos más estables, menos bioaccesibles y menos móviles, disminuyendo así su toxicidad a cualquier forma de vida que este en contacto con ellos.

---

---

### 2.6.2 Objetivo general

Determinar los parámetros fisicoquímicos para estabilizar arsénico y plomo por actividad reductora de sulfatos en un sistema sólido-líquido, inundado, saturado y semisaturado, que simule la operación en clima semiárido de una BRP, a fin de obtener los parámetros cinéticos microbianos necesarios para el diseño a escala piloto.

### 2.6.3. Objetivos específicos

- ☯ Determinar la carga y el tipo de sustrato orgánico a emplear para el arranque y funcionamiento de la barrera reactiva permeable a una carga de sulfato soluble determinada.
- ☯ Determinar los parámetros fisicoquímicos correspondientes a las cinéticas microbianas con actividad reductora de sulfatos de dos consorcios microbianos (constantes de afinidad a sustrato, velocidades máximas específicas, potenciales redox y pH).
- ☯ Evaluar el efecto del contenido volumétrico de agua sobre los parámetros cinéticos, simulando condiciones extremas de inundación y sequía, así como dos porcentajes de humedad del medio de reacción (30 y 70%).
- ☯ Confirmar la transformación de las fases metálicas oxidadas, presentes en la muestra de estudio a sulfuros metálicos.

---

---

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Arsénico en el medio ambiente

El arsénico (As) es un elemento muy común en la atmósfera, en rocas y suelos, en la hidrosfera y la biosfera. En el medio ambiente se moviliza a través de una combinación de procesos que incluyen tanto procesos naturales (meteorización, actividad biológica, emisiones volcánicas), así como procesos antropogénicos (actividad minera, uso de combustibles fósiles, uso de pesticidas, herbicidas, desecantes, conservadores de la madera, y uso como aditivos de piensos).

El arsénico es un elemento extremadamente tóxico para el organismo humano en concentraciones altas, donde la exposición causa efectos agudos y también la exposición durante un largo período a bajas concentraciones relativas de arsénico (por ejemplo, por ingestión de agua) tiene efectos negativos crónicos para la salud.

Las concentraciones de arsénico en el agua están directamente relacionadas con los procesos geoquímicos naturales.

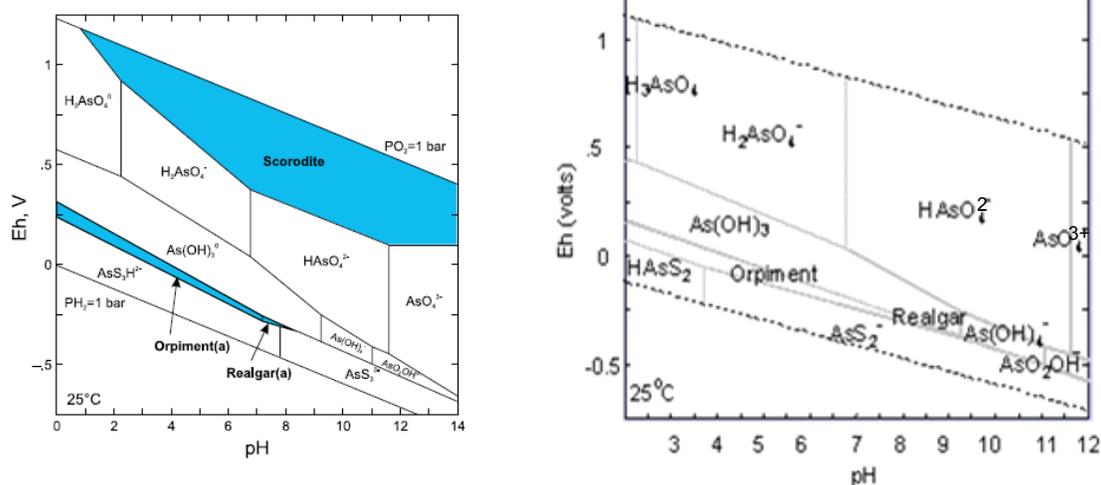
##### 3.1.1 Especies acuosas de arsénico

El arsénico se encuentra en las aguas naturales como especie disuelta, como oxianiones y dos estados de oxidación, arsénico trivalente [As(+3)] y arsénico pentavalente [As(+5)], con menos frecuencia como As(0), As(-1) y As(-2).

El As(+5) se encuentra como  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  y sus correspondientes productos de disociación ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$  y  $\text{AsO}_4^{3-}$ ), mientras que el As(+3) aparece como  $\text{H}_3\text{AsO}_3$  y sus correspondientes productos de disociación ( $\text{H}_4\text{AsO}_3^+$ ,  $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{HAsO}_3^{2-}$  y  $\text{AsO}_3^{3-}$ ). Aunque tanto As(+5) como As(+3) son móviles en el medio, es precisamente el As(+3) el estado más lábil y biotóxico. Los estados de oxidación, condiciones redox y pH definen la movilidad del arsénico.

Bajo condiciones oxidantes, el estado As(+5) predomina sobre As(+3), fundamentalmente como  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  a valores de pH bajos (inferiores a 6,9),

mientras que a pH más alto, la especie dominante es  $\text{HAsO}_4^{2-}$  en condiciones de extrema acidez, la especie dominante será  $\text{H}_3\text{AsO}_4$ , mientras que en condiciones de extrema basicidad, la especie dominante será  $\text{AsO}_4^{3-}$  (ver Figura 1). En condiciones reductoras a pH inferior a 9.2, predominará la especie neutra ( $\text{H}_3\text{AsO}_4$ ) (Lillo, 2007). En presencia de concentraciones altas de azufre, predominan las especies acuosas de azufre y arsénico. En condiciones reductoras y ácidas, precipitarán sulfuros de arsénico (orpimente,  $\text{As}_2\text{S}_3$ , y realgar,  $\text{AsS}$ ).



**Figura 1.** Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico en el sistema As–O<sub>2</sub>–H<sub>2</sub>O a 25°C y 1 bar de presión total (EPA, 2007).

Las formas orgánicas de arsénico suelen aparecer en concentraciones menores que las especies inorgánicas, aunque pueden incrementar su proporción como resultado de reacciones de metilación catalizadas por actividad microbiana (e.g. bacterias, algas). Las formas orgánicas dominantes son el ácido dimetilarsínico (DMAA,  $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$ ) y el ácido monometilarsínico (MMAA,  $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$ ), donde el arsénico está presente en ambos casos como As(+5) (Lillo, 2007).

---

---

### 3.1.2. Abundancia y distribución del arsénico en agua, suelo y atmósfera

Los valores de fondo de contenido de arsénico en ríos son relativamente bajos, en general, inferiores a  $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$ . En áreas de clima árido, el aumento de la concentración de arsénico en las aguas superficiales se ve favorecido por procesos de evaporación, que además provocan un aumento en la salinidad y pH de las aguas. En general, los valores de fondo de concentración de arsénico en aguas subterráneas son, para la mayoría de los casos, inferiores a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (Razo, 2002).

El arsénico en la geósfera aparece como un constituyente principal en más de 200 minerales (As nativo, sulfuros, óxidos, arsenatos y arsenitos), aunque apenas una docena es relativamente frecuente (Tabla 1).

Las mayores concentraciones de arsénico aparecen en sulfuros como pirita, calcopirita, galena y marcasita (Tabla 2), donde el arsénico se encuentra sustituyendo al azufre en la estructura. En estos minerales, el contenido de arsénico puede superar el 10% en peso del mineral. Otros minerales donde puede encontrarse arsénico en concentraciones apreciables son los óxidos y oxihidróxidos, sobre todo los de hierro (Tabla 2) y, en menor proporción los de manganeso y aluminio, fases minerales donde puede formar parte de la estructura o estar adsorbido en su superficie.

Las concentraciones de arsénico en la atmósfera son normalmente bajas, aunque pueden incrementarse de forma natural por actividad volcánica, volatilización de baja temperatura o aerosoles marinos, a partir de materiales naturales o por causas antropogénicas. La Organización Mundial de la salud ha señalado que las concentraciones de arsénico atmosférico pueden llegar hasta  $0.18 \mu\text{g m}^{-3}$  en áreas urbanas y superar  $1 \mu\text{g m}^{-3}$  en los núcleos industriales (WHO, 2001).

Tabla 1. Minerales de arsénico más frecuentes

Mineral	Composición	Ocurrencia
Arsénico nativo	As	Venas hidrotermales
Nicolita	NiAs	Filones y noritas
Rejalgar	As <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	Filones, muchas veces asociado con oropimente, arcillas y carbonatos
Oropimente	As <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	Venas hidrotermales, también como producto de sublimación de emanaciones volcánicas
Cobaltita	CoAsS	Depósitos de alta temperatura, rocas metamórficas
Arsenopirita	FeAsS	Es el mineral de As más abundante. Muy frecuente en filones
Tenantita	(Cu,Fe) <sub>12</sub> As <sub>4</sub> S <sub>13</sub>	Venas hidrotermales
Enargita	Cu <sub>3</sub> AsS <sub>4</sub>	Venas hidrotermales
Arsenolita	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Mineral secundario formado por oxidación de arsenopirita, arsénico nativo y otros minerales de arsénico
Claudetita	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Mineral secundario formado por oxidación de rejalgar, arsenopirita, y otros minerales de arsénico
Escorodita	FeAsO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	Mineral secundario
Anabergita	(Ni,Co) <sub>3</sub> (AsO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> · 8H <sub>2</sub> O	Mineral secundario
Hoernesita	Mg <sub>3</sub> (AsO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> · 8H <sub>2</sub> O	Mineral secundario, en escorias
Hematolita	(Mn,Mg) <sub>4</sub> Al(AsO <sub>4</sub> )(OH) <sub>8</sub>	Mineral en fisuras de rocas metamórficas
Conicalcita	CaCu(AsO <sub>4</sub> )(OH)	Mineral secundario
Farmacosiderita	Fe <sub>3</sub> (AsO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (OH) <sub>3</sub> · 5H <sub>2</sub> O	Producto de oxidación de arsenopirita y otros minerales de arsénico

Fuente: Modificado de Lillo (2007).

Tabla 2. Concentración de arsénico en algunos de los minerales más comunes

Mineral	Concentración de As (ppm)	Mineral	Concentración de As (ppm)
Sulfuros:		Silicatos:	
Pirita	100–77,000	Cuarzo	0.4–1.3
Pirrotina	5–100	Feldespato	<0.1–2.1
Galena	5–10,000	Biotita	1.4
Esfalerita	5–17,000	Anfíbol	1.1–2.3
Calcopirita	10–5,000	Olivino	0.08–0.17
Óxidos:		Piroxeno	0.05–0.8
Hematitas	Hasta 160	Carbonatos:	
Óxidos de Fe	Hasta 2,000	Calcita	1–8
Oxihidróxido de Fe(III)	Hasta 76,000	Dolomita	<3
Magnetita	2.7–41	Siderita	<3
Silicatos:		Sulfatos:	
Cuarzo	0.4–1.3	Yeso/Anhidrita	<1–6
Feldespato	<0.1–2.1	Barita	<1–12
Biotita	1.4	Jarosita	34–1,000
Anfíbol	1.1–2,3	Fosfatos:	
Olivino	0.08–0.17	Apatito	<1–1,000
Piroxeno	0.05–0.8		

Fuente: Modificado de Lillo (2007).

### 3.1.3. Interacción agua-fase sólida: movilización y retención de arsénico

#### 3.1.3.1. Adsorción/desorción de arsénico en la fase sólida

Debido al comportamiento del arsenato y arsenito la fuerza de la adsorción de estas especies arsenicales por las superficies de la fase sólida, dependerá en parte de las diferencias de carga entre las especies acuosas y la fase sólida (óxidos de hierro, manganeso, materia orgánica y arcillas), ya que determinan el carácter de las interacciones electrostáticas entre las especies y la fase sólida. En general, aunque depende de las fases minerales presentes, la

---

---

máxima adsorción de As(+3) se produce a  $\text{pH} > 8$ , mientras que la máxima adsorción de As(+5) se da a  $\text{pH} < 7$ .

### **3.1.3.2. Mecanismos de incorporación de arsénico a las aguas**

Se consideran varios mecanismos geoquímicos de liberación y movilización de arsénico a las aguas (FRTR, 2002; Lillo, 2007):

**Oxidación de sulfuros:** es un mecanismo importante sólo localmente y en áreas mineras con abundancia de sulfuros, aunque también puede involucrar pirita autigénica. La oxidación de sulfuros tiene lugar cuando el medio se halla en condiciones oxidantes. El Fe disuelto tiende a precipitar en sulfatos de Fe (jarosita) y óxidos, y oxihidróxidos de Fe, con readsorción y coprecipitación de arsénico.

**Disolución de óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn en condiciones ácidas:** los óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn se disuelven en condiciones fuertemente ácidas. El arsénico presente en ellos, tanto adsorbido como coprecipitado, será movilizado durante la disolución. A diferencia de la desorción, la disolución es eficaz en la movilización de arsénico no lábil, incorporado en la red estructural del mineral. Esto explica, al menos en parte, las concentraciones altas de arsénico en el drenaje ácido de minas.

**Desorción en condiciones oxidantes a pH alto:** en condiciones oxidantes, se produce la desorción de arsénico si se alcanzan valores de pH alto ( $>8.5$ ). Normalmente el incremento de pH se produce como consecuencia de los procesos de meteorización e intercambio iónico, combinado con los efectos de un incremento en salinidad en climas áridos y semiáridos. El proceso de desorción en condiciones alcalinas es considerado como uno de los mecanismos más efectivos en cuanto a movilización de arsénico en condiciones oxidantes, dándose además una correlación positiva entre la concentración de arsénico en la fase acuosa y los valores de pH.

---

---

### **Desorción y disolución de óxidos y oxihidróxidos relacionados con cambios a condiciones reductoras**

En condiciones reductoras, parece que una de las primeras reacciones que tiene lugar es el paso de arsenato ( $\text{As}(+5)$ ) adsorbido en condiciones oxidantes a arsenito ( $\text{As}(+3)$ ), que está adsorbido más débilmente en la superficie de los óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn. Además, estos minerales se disuelven en condiciones reductoras.

**Desorción por reducción en la carga de superficie de la fase sólida:** pueden ocurrir una serie de fenómenos que causen una reducción de la carga neta de superficie en los óxidos, provocando la desorción de arsénico. Estos fenómenos incluyen cambios estructurales en los óxidos de Fe que tienen lugar al pasar de condiciones oxidantes a condiciones reductoras que pueden asociar cambios netos en la carga de superficie, en intensidad y densidad.

### **3.2. Drenaje ácido de mina**

Los drenajes ácidos de antiguas explotaciones de carbón y minería metálica son una de las principales fuentes de contaminación de las aguas subterráneas en el mundo.

El drenaje ácido de mina (DAM) es generado por la oxidación de minerales sulfurados y lixiviación de metales asociados, provenientes de las rocas sulfuradas cuando son expuestas al aire y al agua. El desarrollo del DAM es un proceso dependiente del tiempo y que involucra procesos de oxidación tanto química como biológica y fenómenos físico-químicos asociados, incluyendo la precipitación y el encapsulamiento. El desarrollo clásico del DAM es a pH bajo y rico en metales; sin embargo, la química del agua cambia volviéndose gradualmente más ácida, con concentraciones crecientes de metales, y con el paso del tiempo puede volverse de ligeramente alcalino hasta casi neutro, y finalmente ácido.

Estas aguas siempre están asociadas a una coloración ocreamarillenta de los lechos de ríos y lagos afectados. Contienen una gran cantidad de sólidos en

---

---

suspensión, sólidos disueltos totales, núclidos radiactivos, nutrientes, acidez y un alto contenido de sulfato y metales disueltos (Fe, Al, Mn, Zn, Cu, Pb, etc.).

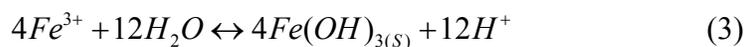
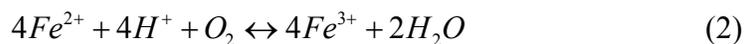
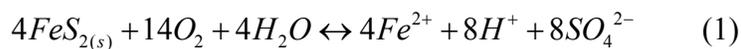
Es importante considerar que no todos los minerales sulfurosos son reactivos, ni la acidez se produce en igual proporción y de igual manera no todos son potencialmente generadores de DAM.

El principal responsable de la generación de DAM es la oxidación de la pirita, que se favorece en áreas mineras debido a la facilidad con la que el aire entra en contacto con los sulfuros (a través de las labores mineras de acceso y por los poros existentes en las pilas de estériles y residuos), así como, el incremento de la superficie de contacto de las partículas. Así, se considera que los factores que más afectan a la generación ácida son el volumen, la concentración, el tamaño de grano y la distribución espacial de la pirita (Cortina *et al.*, 1996).

En las primeras etapas de generación de DAM la neutralización es inmediata, ya que mientras se produce la oxidación de los minerales sulfurosos existe suficiente alcalinidad disponible ( $\text{CaCO}_3$ ) para neutralizar la acidez y precipitar el hierro en forma de hidróxido, por este proceso es común ver un incremento en calcio o magnesio u otros metales, dependiendo de las rocas que fueron consumidas para neutralizar el ácido.

Las consideraciones acerca de la cinética del hierro, las reacciones redox y de precipitación son muy importantes en el problema de calidad de agua como es el DAM, donde la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_4$ ), enargita ( $\text{Cu}_3\text{AsS}_4$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), esfalerita ( $\text{ZnS}$ ) y arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ) entre otros, se oxidan rápidamente generando acidez y  $\text{Fe}^{3+}$  soluble a valores de pH de 2 ó 3 (Jenkins *et al.*, 1999; MMP, 2008).

La representación estequiométrica clásica del DAM se puede expresar en las siguientes reacciones (Jenkins *et al.* 1999).



---

---

El resultado neto de estas reacciones es que se oxidan 4 moles de pirita para producir 4 moles de  $Fe(OH)_{3(s)}$ , lo que provoca la coloración pardo amarillenta del agua. Se producen 12 moles de  $H^+$  que reaccionan con los minerales calcáreos en el suelo lo que incrementa la dureza del agua y un elevado contenido de sólidos totales. Otra reacción importante del DAM es la oxidación de  $FeS_{2(s)}$  con ion férrico ( $Fe^{3+}$ ).

La estequiometría de esta reacción es la siguiente (Jenkins, *et al.*, 1999).

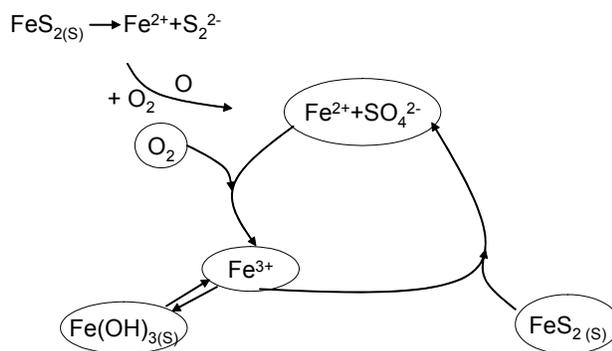


La oxidación química de la pirita (ecuación 4) es una reacción relativamente rápida a valores de pH menores que 4.5, pero mucho más lenta a niveles de pH mayores a este valor. La velocidad del suministro de oxígeno es el elemento que controla principalmente la velocidad de la oxidación química. A niveles de pH inferiores a 4.5, la oxidación por el hierro férrico se convierte en el proceso de oxidación dominante (MMP, 2008).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, el sulfato es uno de los aniones menos tóxicos, con una dosis letal para el hombre de 45 g. Si se consume agua que contiene sulfato en concentraciones superiores a 600 mg/L suelen presentarse efectos laxantes (WHO, 1996), el problema radica en que las concentraciones de sulfatos encontrados en DAM son cercanas a 3000  $mgL^{-1}$  (Benner, *et al.*, 1996).

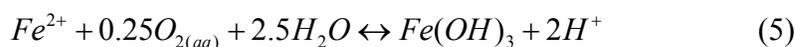
En la Figura 2, se observa como ocurre la oxidación de la pirita al reaccionar con el oxígeno para producir  $Fe^{2+}$  y éste, a su vez, se oxida con oxígeno para dar  $Fe^{3+}$ . El ion férrico puede precipitar como  $Fe(OH)_{3(s)}$ , o estar disponible a pH <4 para oxidar más  $FeS_{2(s)}$  a  $Fe^{2+}$  como se indica en la reacción 4. Al parecer, la etapa limitante es la difusión del oxígeno que lleva acabo la reacción de oxidación del ion ferroso soluble. Sin embargo, se ha demostrado que varios microorganismos como *Thiobacillus thiooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans* y *Ferrobacillus ferrooxidans*, son capaces de catalizar la oxidación del ión ferroso (Jenkins *et al.*, 1999; Logan *et al.*, 2005). La acción de estos microorganismos incrementa las velocidades de reacción de 10 a un millón de veces más que

aquellas generadas por oxidación química. Aunque este incremento depende de otros parámetros fisicoquímicos como son: pH, concentración de oxígeno, fuentes de carbono y nutrientes disponibles, así como del área superficial del sulfuro expuesto (Benner, et al., 2002).

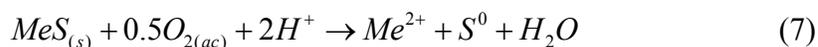
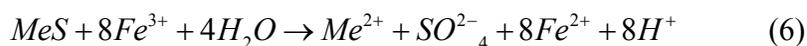


**Figura 2.** Esquema de mecanismos de oxidación de la pirita en presencia de oxígeno (Jenkins et al., 1999).

El *Thiobacillus ferrooxidans* cataliza una media reacción redox del  $Fe^{2+}$  (ecuación. 5).



Además, las reacciones de oxidación de sulfuros se pueden deber a distintos agentes oxidantes tales como:  $O_2$ ,  $Fe^{3+}$  o catalizadas por diferentes microorganismos. Las reacciones pueden ocurrir de forma completa (ecuación 6) o incompleta (ecuación 7), la presencia de distintos agentes oxidantes promueve la liberación de iones metálicos hacia la fase acuosa y da la formación de sulfato (Costello, 2003).



---

---

Donde *Me* representa cualquier ion metálico, o arsénico, por ejemplo:  $As^{3+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  entre otros.

La geoquímica del drenaje ácido de mina es un fenómeno complejo que involucra diversos procesos químicos, físicos y biológicos los cuales juegan un papel importante en la producción, liberación, movilidad y atenuación de los contaminantes. Los procesos que contribuyen en su conjunto en la geoquímica de las aguas ácidas son los siguientes [López Pamo *et al.*, 2002]:

- A. Oxidación de la pirita
- B. Oxidación de otros sulfuros
- C. Oxidación e hidrólisis del hierro disuelto y otros metales
- D. Capacidad neutralizadora de las aguas bicarbonatadas
- E. Disponibilidad de oxígeno
- F. Disponibilidad de agua líquida o en forma vapor
- G. Localización y forma de zonas permeables en relación con las vías de flujo
- H. Variaciones climáticas (diarias, estacionales o episodios de tormentas)
- I. Calentamiento por conducción y radiación del calor generado en diversas reacciones exotérmicas (oxidación de la pirita, disolución de sales solubles y la dilución de un ácido concentrado)
- J. Temperatura
- K. Acción de catálisis de las bacterias
- L. Adsorción microbiana de metales
- M. Precipitación y disolución de metales durante el transporte
- N. Fotorreducción del hierro
- O. Formación de complejos orgánicos

En algún momento en el futuro (décadas o posiblemente siglos) después del inicio de la generación de estos ácidos, la velocidad disminuirá con la oxidación completa de los sulfuros más reactivos y el pH se incrementará hasta que la roca se torne sólo ligeramente reactiva y el pH del agua de drenaje no sea afectado. Pero para qué esperar a que el ecosistema trate de amortiguar

---

---

todo el daño, es mejor promover medidas de mitigación para controlarlo en un menor tiempo, haciendo uso del conocimiento generado de cómo se produce y qué consecuencias provoca el DAM, resaltando sobre todo que el sitio de estudio que concierne a este trabajo no tiene la tendencia a formar DAM pero sí es probable que se genere el drenaje neutro de mina (DNM).

### **3.3. Definición de una barrera reactiva permeable**

Las barreras reactivas permeables (BRP) son el desarrollo de una nueva clase de tecnologías para la remediación de aguas subterráneas (FRTR, 2002). Consisten en emplazamientos interpuestos en el subsuelo con un conjunto de elementos que permiten eliminar la contaminación transportada por las aguas subterráneas (Figura 3). Se implementan dentro de una zanja rellena con material permeable (zona de reacción) que reacciona con los productos químicos contaminantes (inorgánicos o/y orgánicos) mediante procesos físicos, químicos o biológicos; tales como: precipitación, sorción, oxido-reducción, fijación o degradación. Donde dichas reacciones dependen de parámetros como el pH, potencial oxido-reducción y concentración para llevarse a cabo adecuadamente (FRTR, 2002).

Las aguas que abandonan la barrera (Figura 3), después de reaccionar con el material de relleno, salen con concentraciones tales que pueden ser reducidas posteriormente por atenuación natural, antes de impactar otro cuerpo receptor (EPA, 2001).

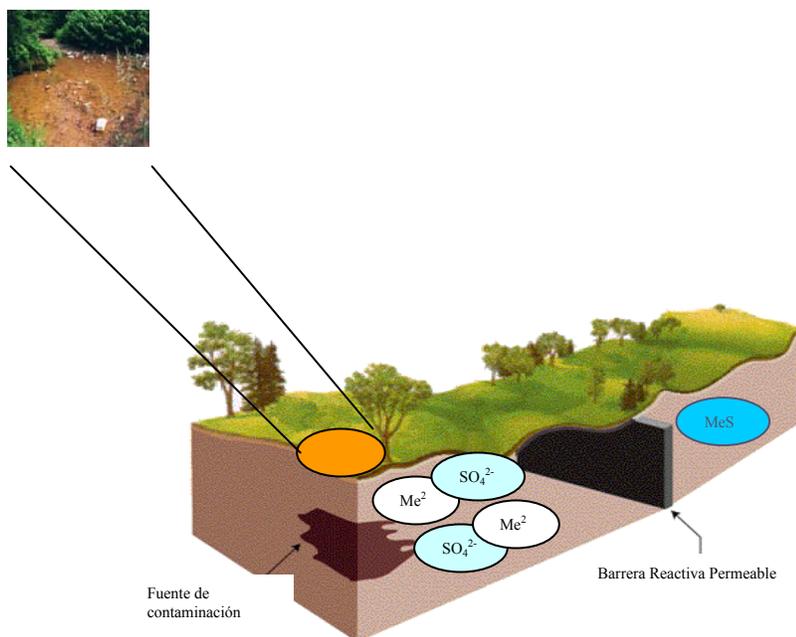
Para la implementación de una BRP es necesario caracterizar el sitio en el cual se desea implementar, evaluando su geología, hidrogeología, precipitación, caudales pluviales y el área disponible para colocar la barrera.

Las BRP se estructuran a partir del conocimiento de la zona afectada por la contaminación y de los compuestos presentes en ésta, ello permite definir las dimensiones de la barrera, tipo de barrera (compuerta o flujo continuo), tanto axial como longitudinalmente. El espesor se establece a partir del tiempo de residencia definido por la permeabilidad del material de relleno empleado y de las cinéticas de estabilización (EPA, 2001).

---

---

Los materiales de relleno que se han utilizado más comúnmente son el hierro metálico o granular, piedra caliza, tierra de diatomeas, carbón activo, materia orgánica, peróxido, zeolita, bentonita, organobentonitas, cal, aserrín, sedimento de acuíferos, microorganismos del suelo, relaciones mixtas de metales (Fe-Pb), (Fe-Ni) y (Fe-Cu) y en menor escala Zn, Cu, Al, Mg, Sn metálicos entre otros (EPA, 2001; Cardona, 2006).



**Figura 3.** Esquema de una barrera reactiva permeable propuesta para tratar agua contaminada con iones metálicos.

Las BRP normalmente se instalan de manera subterránea por lo que se puede cubrir con tierra y vegetación a fin de evitar el impacto que puede ocasionar, finalizado el tratamiento puede optarse por excavar de nuevo la zanja y rellenarla con tierras limpias o mantener el reactivo agotado en el subsuelo.

Los sistemas con múltiples barreras se pueden usar para obtener un tiempo de residencia óptimo para la remoción adecuada de los contaminantes, también son útiles para plumas de contaminación relativamente anchas y de alta velocidad subterránea (Cardona, 2006).

---

---

Las ventajas que muestran para su implementación son grandes, debido a sus tiempos de operación que van en orden de años o décadas, bajos costos de mantenimiento, operación y monitoreo, mecánicamente simples, productos finales no tóxicos, nulo consumo de energía, nulos costos de bombeo, no se requieren estructuras adicionales en la superficie, uso productivo del sitio restaurado, seguras por no tener partes móviles, no causan ruido, no generan un riesgo porque no hay contacto directo entre las personas y los contaminantes que se tratan, ni con los productos generados.

Entre las desventajas encontradas, una de las más importantes es que el sistema de tratamiento depende directamente del material reactivo, el cual deberá ser suficiente para reaccionar con los contaminantes y mantener un buen tratamiento por décadas. Este material reactivo será consumido por otras especies en disolución diferentes al contaminante de interés disminuyendo consigo la vida útil de la barrera (Cortina et al., 1996). Otro problema es la posible formación de precipitados secundarios dentro de la zona de reacción, lo que disminuirá el área de superficie de reacción. También se pueden desarrollar canales de flujos preferenciales debido a las conductividades hidráulicas presentes en el sitio o modificadas temporalmente por el funcionamiento de la BRP. En las barreras de reducción de sulfato, los metales disueltos son eliminados por la precipitación de una fase mineral de sulfuro, que también controla la estabilidad de dichos metales por su solubilidad. La solubilidad de la mayoría de las fases sulfuro es baja, y en condiciones anaerobias da como resultado una disolución con una baja concentración de metales disueltos. Por tanto, la oxidación de los sulfuros podría provocar desembocar en una rápida liberación de metales a concentraciones muy elevadas (Cortina et al., 1996), aunado a esto, el tratamiento al ser considerado pasivo resulta difícil de darle seguimiento.

### **3.4. Potencial oxido-reducción (REDOX)**

Los principales componentes de los acuíferos son silicatos, aluminosilicatos, cuarzos, feldespatos y arcillas, los cuales contribuyen a que exista un pH neutro,

---

---

además de poseer cargas negativas (aniónicas) en las superficies, dando como resultado la atracción de contaminantes aniónicos y oxianiones.

Los aniones y oxianiones más comunes de encontrar como contaminantes de aguas subterráneas son: sulfato, arsénico, selenio, cromo, molibdeno y antimonio, al igual que algunos nutrientes como fosfato y nitrato.

En el laboratorio se ha demostrado, mediante la aplicación de experimentos en lote, el potencial para remediar la contaminación de aguas subterráneas utilizando los principios metodológicos de las BRP para tratar Cr(+6), NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Se(+4), As(+5), As(+3), Tc(+7), Mo(+6), Pb, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, y a escala piloto se ha probado el potencial de tratamiento para Cr (+6), Tc (+7), Mo (+6), SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (EPA, 1998; Blowes, *et al.*, 2000; FRTR, 2002; Labastida, 2008a). Mientras que para trabajos de campo se demostró el tratamiento para Cr (+6), Tc (+7), SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (Blowes, *et al.*, 2000)

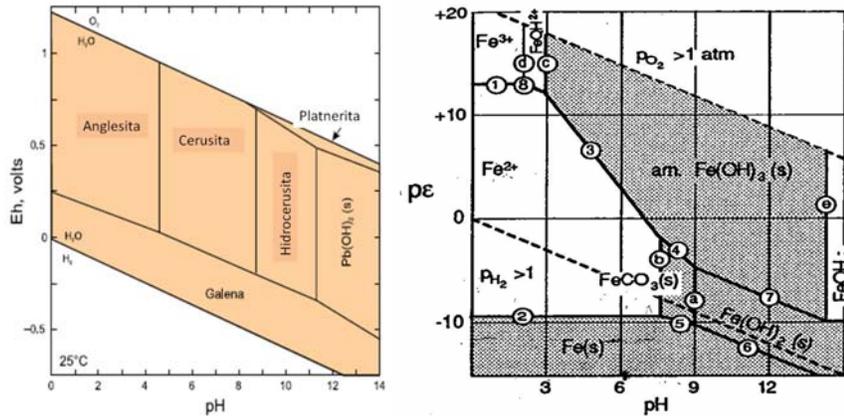
Cuando el pH del DAM se incrementa se puede facilitar la precipitación de metales a hidróxidos u oxihidróxidos, como el hierro que forma oxihidróxidos (FeOOH) o hidróxidos (Fe(OH)<sub>3</sub>). En algunos casos el cambio de pH puede provocar que el ión metálico se vuelva insoluble bajo esas condiciones (Costello, 2003).

Por lo tanto, las especies químicas que se encuentren en fase sólida o líquida dependerán directamente del potencial redox y el pH del medio. Por dicha razón, es útil emplear los diagramas de Pourbaix, para estimar que fase del ión metálico podemos encontrar bajo determinadas condiciones de pH y potencial redox (Diagramas de Pourbaix).

En la Figura 4, se presenta el diagrama de Pourbaix para el hierro y el plomo, donde se aprecia que cuando el potencial redox se hace más positivo se favorece la liberación de metales hacia la fase acuosa, y a valores negativos se ve un claro predominio de las fases sólidas.

De acuerdo al diagrama de Pourbaix (Figura 1), cuando se tiene un sistema As-S-H<sub>2</sub>O y el Eh disminuye (0.2V), se promueve la formación de sulfuros insolubles conocidos como oropimente (As<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) y rejalgá (As<sub>2</sub>S<sub>2</sub>). Si se combina una disminución de Eh con un incremento de pH dicha especie (oropimente) se mantiene hasta un pH cercano a 8. Pero si el valor de Eh disminuye más y se

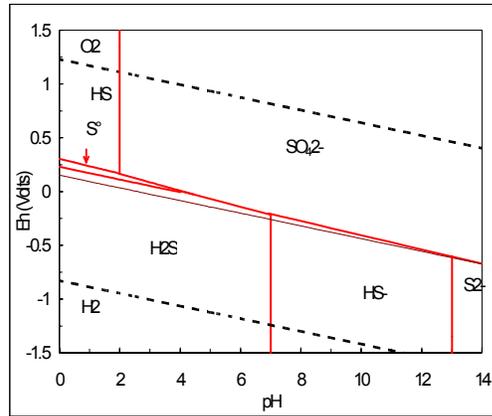
tiene un pH entre 8 y 9 se observa una transición de fase hacia rejalgar ( $As_2S_2$ ). Sin embargo, se puede observar que se encuentran fases solubles de arsénico, aun a potenciales reducidos (Eh de -0.3V) pero a pH superiores de 9 (ver Figura 1).



**Figura 4:** Diagrama Eh-pH para especies de Pb a la izquierda (EPA, 2007) y Fe a la derecha (Stumm y Morgan, 1996).

En la Figura 5, se muestra el diagrama de Pourbaix para azufre. En éste, se observa que a potenciales positivos y pH cercano a 4.5 se favorece la oxidación de azufre a sulfato. Para pH de 4.5 a 7 también se forman sulfatos, sin embargo, antes de esta oxidación completa de azufre ocurre la formación de una fase de azufre elemental a Eh negativos. Finalmente se observa que a pH superiores a 7 y potenciales menores a -0.4V, ocurre la transformación de  $HS^-$  a sulfato sin formación previa de azufre elemental.

El sulfuro de hidrógeno es capaz de reaccionar con iones metálicos en solución, para formar sulfuros metálicos de baja solubilidad. Por tal razón es conveniente trabajar bajo dichas condiciones de pH y Eh para promover la formación de esas fases.



**Figura 5.** Diagrama de Pourbaix para  $H_2-O-S$ , con la formación de  $H_2S$  a  $pH < 7$  y  $-0.4V$  (Stumm y Morgan, 1996).

### 3.5. Reducción biológica

La reducción de sulfato a sulfuro de hidrógeno es realizada por bacterias sulfatorreductoras (BSR) bajo condiciones favorables, las cuales utilizan el sulfato como aceptor de electrones durante el metabolismo de la materia orgánica (ecuación 8). Los géneros de bacterias más conocidas que realizan este proceso son: *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfomonile*, *Desulfonema*, *Desulfobotulus* y *Desulfoarculus*.



Donde  $CH_2O$  representa el sustrato o materia orgánica, el  $HCO_3^-$  produce un aumento de alcalinidad y el  $H_2S$  reacciona con los metales disueltos para formar sulfuros metálicos insolubles que precipitan, tal como se observa en la ecuación 9.

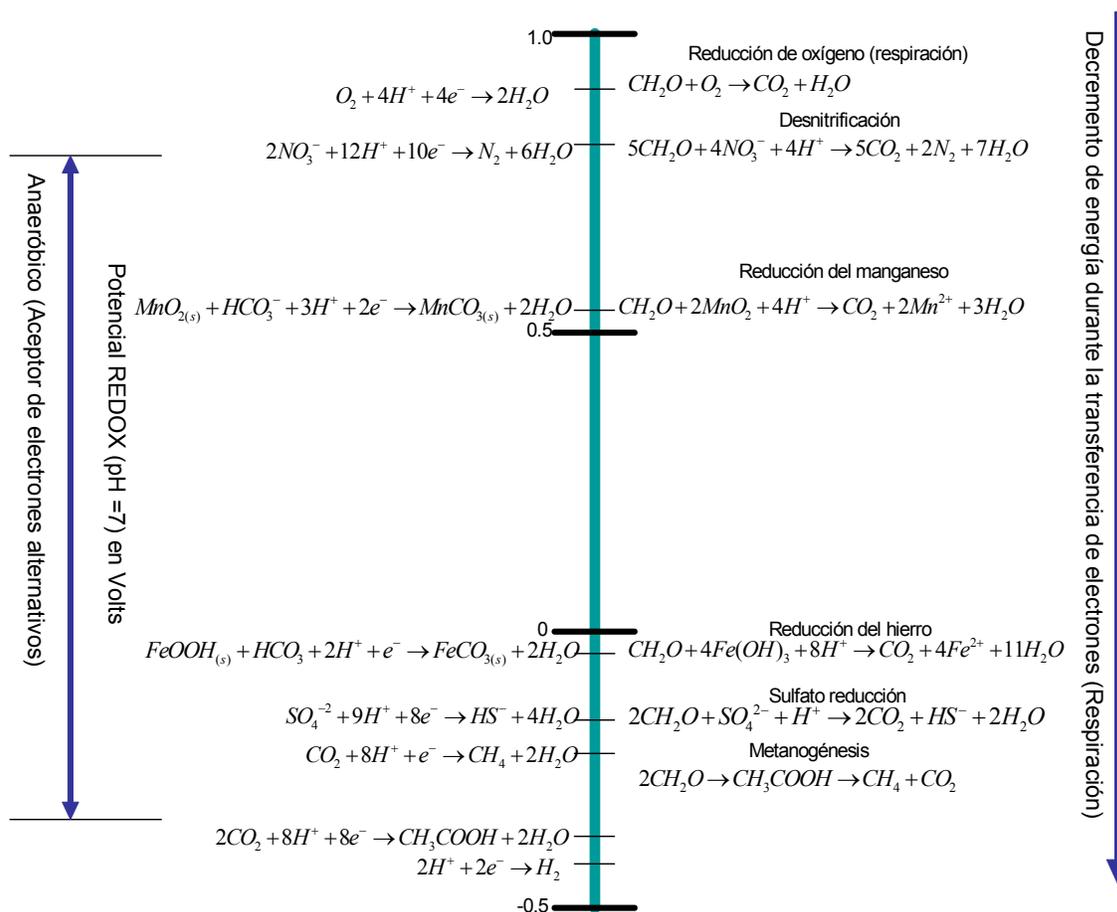


Donde  $M^{2+}$  puede ser cadmio, cobre, hierro, zinc, níquel, mercurio entre otros metales que pueden precipitar como sulfuros metálicos. Mientras que el arsénico, antimonio y molibdeno forman sulfuros complejos. Metales como el manganeso y níquel solo pueden ser removidos con la coprecipitación de otros

sulfuros. Al incrementar el pH se promueve la precipitación de hidróxidos metálicos e insolubles (Doshi, 2006).

Para llegar a la reducción biológica del sulfato a sulfuro de hidrógeno, existen distintos aceptores de electrones que deben consumirse previamente (oxígeno, nitratos, óxidos de manganeso y hierro) en la oxidación de materia orgánica. Estos procesos son fomentados por actividad biológica (Figura 6).

En ambientes naturales los compuestos inorgánicos de azufre más comunes son sulfuro, polisulfuros, tiosulfato, politionatos, azufre elemental, bisulfito y sulfato. Los compuestos inorgánicos más comunes que se encuentran en ambientes naturales se emplean como donadores o aceptores de electrones, pueden ser usados por muchos organismos con fines asimilativos o no asimilativos.



**Figura 6.** Secuencia de procesos redox realizada por microorganismos. Modificado de Azadpour-Keeley et al., (1996).

---

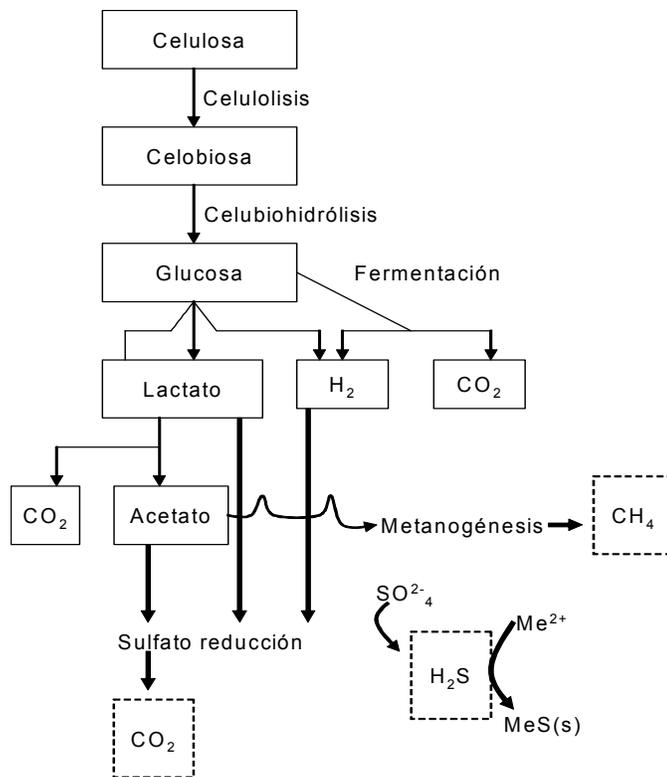
---

El sulfato y el sulfuro son los productos finales de la mayoría de las rutas de oxidación o reducción de los compuestos azufrados, mientras que los compuestos de azufre con estados de oxidación intermedio pueden servir como aceptores o donadores de electrones (Celis, 2004).

Las BSR generalmente utilizan compuestos de carbono simples como ácidos orgánicos y alcoholes, que funcionan como donadores de electrones para la reducción del sulfato, aunque algunas son capaces de utilizar hidrógeno (Figura 7). Cuando la materia orgánica compleja (o insoluble) se usa como una fuente del carbono, otras bacterias heterótrofas deben degradarla a moléculas más simples (Doshi, 2006).

Waybrant *et al.* (1998) reportan que se utilizó como sustrato orgánico, o fuente de carbono, una combinación adecuada de lodo proveniente de plantas de tratamiento de agua residual doméstica, hojas, aserrín y composta vegetal, se obtiene una eficiencia de remoción de iones metálicos de 99% para Ni y Cd. Lo anterior, debido a que el sustrato sólido favorece la actividad de las BSR mediante la disminución de las condiciones redox.

A escala de laboratorio se ha documentado que como donadores de electrones se utilizan sustratos de fácil asimilación tales como: lactato, acetato, propionato, oxalato, glicerol, metanol, etanol y glucosa (Celis, 2004), pero la adición de estos compuestos eleva los costos de la barrera reactiva permeable.



**Figura 7.** Procesos microbiológicos que pueden afectar la reducción del sulfato con una fuente de carbono orgánico (Loga, *et al.* 2005).

### 3.6. Microcosmos

El microcosmos es una forma efectiva y directa de predecir los efectos ecológicos que se efectúan en un experimento de laboratorio bajo condiciones controladas. Es un sistema sintético que pretende simular el comportamiento de los microorganismos en su ambiente natural, minimizando los parámetros asociados al transporte (Krimsky, *et al.* 1995). Además de reducir la cantidad de residuos generados dentro del diseño experimental.

El microcosmos se puede dividir en dos tipos: a) diseñado para replicar la complejidad del sistema ambiental y b) un sistema que evalúe la interacción específica entre los reactantes y los microorganismos.

En el presente trabajo de tesis se empleó el microcosmos tipo b, para comprender la cinética sulfato reductora y poder evaluar el diseño y operación de una BRP.

---

---

### 3.7. Cinéticas microbianas

La evolución del cultivo en el tiempo, sigue una curva típica denominada Monod o de crecimiento en lote. Como se muestra en la Figura 8, en primer lugar existe una fase donde prácticamente no hay división celular pero sí aumento de la masa individual de los microorganismos (fase "lag" o fase de retardo). Le sigue una etapa donde el crecimiento ocurre a una velocidad máxima específica ( $q$ ) y constante,  $q_{\max}$  (fase exponencial). Al final de esta fase se alcanza la máxima concentración microbiana. Posteriormente hay un rápido período de desaceleración donde  $q \rightarrow 0$  y se entra en la fase estacionaria, la cual es causada por agotamiento de algún nutriente (el sustrato limitante) o bien por acumulación de inhibidores. Durante esta fase la concentración microbiana (o de biomasa) permanece constante. Por último se llega a donde la concentración de biomasa disminuye por autólisis o como consecuencia del metabolismo endógeno (fase de decaimiento).

En particular la fase lag depende de la fase de crecimiento en que se encuentran las células, en el momento de ser sembradas, así también como de la composición del medio de cultivo en que fueron crecidas. La descripción matemática de la fase exponencial y el crecimiento estacionaria ( $r_x$ ) es la siguiente.

De la definición de  $\mu$  obtenemos

$$r_x = q \cdot X \quad (10)$$

Donde  $X$  = concentración de biomasa. Hemos visto que  $q$  (tasa de crecimiento microbiano) varía durante el cultivo, siendo un valor constante y máximo en la fase exponencial ( $q_{\max}$ ) y nulo en la estacionaria.

Monod propone una relación muy simple entre el valor de  $q$  y la concentración de sustrato  $S$  (ecuación 11).

$$q = q_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{ec(11)}$$

---

Donde  $K_s$  es la Constante afinidad a sustrato, y da una idea de la afinidad que tiene el microorganismo por el sustrato en cuestión. A menor  $K_s$  mayor afinidad. Normalmente  $K_s$  tiene valores muy pequeños ( $10^{-2}$  -  $10^{-3}$  g/l) por lo que concentraciones relativamente pequeñas de S son suficientes para hacer que:

$$q = q_{\max} \quad (12)$$

Reemplazando la ecuación (11) en (12) queda:

$$r_x = q_{\max} \frac{S}{K_s + S} \cdot X \quad (13)$$

Al principio del cultivo todos los nutrientes estarán en exceso, y en particular el sustrato limitante también, por lo que la ecuación (13) se reduce a (fase exponencial):

$$r_x = q_{\max} X \quad (14)$$

A medida que transcurre el tiempo de cultivo, S va disminuyendo (y por tanto  $r_x$ ) hasta que finalmente tiende a cero (fase estacionaria), y

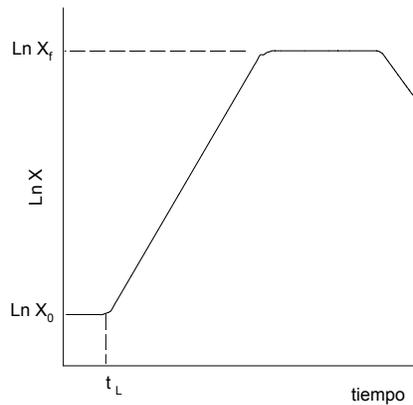
$$r_x = 0 \quad \text{ec(15)}$$

lo que implica:  $x = x_f = cte$  ec(16)

Donde:  $x_f$  = concentración final de biomasa.

De la fase exponencial se calcula  $q_{\max}$  y  $t_L$  (tiempo de inicio de la fase exponencial) se puede calcular del gráfico o tomando un valor cualquiera de x que corresponda a la fase exponencial,  $x_f$ , podemos calcular  $t_L$ .

$$t_L = t_f - \frac{1}{q_{\max}} \ln \frac{x_f}{x_o} \quad \text{ec(17)}$$



**Figura 8.** Curva de crecimiento bacteriano Ln X vs tiempo.

Otro parámetro que es importante de estudiar es la inhibición de los microorganismos por algún factor ambiental o metabólico (generado por los propios microorganismos). Los tipos de inhibición que existen son los mismos que los demostrados en cinéticas enzimáticas.

**Competitiva:** El inhibidor está relacionado estructuralmente con el sustrato; estos análogos del sustrato compiten con el sustrato real por el centro activo de la enzima; el grado de inhibición depende de la relación inhibidor-sustrato más que de la concentración del inhibidor.

**Acompetitiva:** El inhibidor reacciona solamente con el complejo enzima-sustrato. Este tipo de inhibiciones se presentan frecuentemente en reacciones bi-sustrato; es muy poco frecuente en reacciones de un solo sustrato.

**No Competitiva:** La unión del inhibidor con la enzima se realiza en un sitio diferente a su centro activo; el inhibidor puede reaccionar con la enzima libre o con el complejo enzima-sustrato. Una inhibición no competitiva se presenta, con frecuencia, en enzimas que contienen grupos -SH.

Para el presente trabajo se empleará este último tipo de inhibición debido a que la variable afectada es la velocidad específica de producción de sulfuro la que nos permitirá evaluar dicho comportamiento.

---

---

$$q = - \frac{q_{\max} \cdot S}{(K_s + S) \left(1 + \frac{I}{K_I}\right)} \quad (18)$$

Donde:

$q$  = Velocidad de producción de sulfuro ( $\text{mmol H}_2\text{S mg}^{-1} \text{SSV h}^{-1}$ )

$q_{\max}$  = Velocidad máxima de producción de sulfuro ( $\text{mmol H}_2\text{S mg}^{-1} \text{SSV h}^{-1}$ )

$S$  = Concentración de sustrato dada a la  $q_{\max}$  ( $\text{g DQO L}^{-1}$ )

$K_s$  = Constante de afinidad por sustrato ( $\text{g DQO L}^{-1}$ )

$I$  = Concentración del inhibidor ( $\text{mg L}^{-1}$ )

---

---

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. Caracterización fisicoquímica del residuo minero-metalúrgico (M3)

#### 4.1.1. Muestreo

Los puntos de muestreo seleccionados se observan en la Figura 9. Las tres tomas de muestras (JH, M2 y M3) realizadas en el distrito minero de Villa de la Paz-Matehuala; en el Estado de San Luis Potosí, México, están definidas con base en la información que se ha generado en el lugar. En este sitio se determinó que existe un nivel elevado de contaminación, atribuido a la dispersión hídrica y eólica, de arsénico y plomo asociada a las actividades minero-metalúrgicas del sitio (Razo *et al.* 2004)

Las muestras de suelo fueron obtenidas a 0-40 cm de profundidad. Éstas se utilizaron para la obtención de los consorcios de inóculos de BSR denominados M2 y JH. Las muestras de suelo se mantuvieron bajo condiciones reductoras dentro de una bolsa de Gaspack que permite el consumo de oxígeno y mantiene condiciones de anaerobiosis durante el transporte al laboratorio.

En la zona de estudio se recuperó una muestra problema de residuo minero-metalúrgico (M3) a una profundidad de 0 a 40 cm, dicha muestra se utilizó en el presente trabajo de tesis debido a las elevadas concentraciones totales de arsénico y plomo, así como a sus diferentes niveles de bioaccesibilidad previamente estimados.

Los análisis físicos y químicos de las muestras se realizaron después de secarlas a 40°C. La bioaccesibilidad de arsénico y plomo en las muestras JH y M2 fue de 10, 56 % y 68, 95 % respectivamente (Labastida, 2007a).

Cabe resaltar que el muestreo y el aislamiento de los consorcios sulfatorreductores (JH y M2) fueron realizados, en el laboratorio de Restauración ambiental del Instituto de metalurgia de la UASLP, previamente a este trabajo de tesis.



**Figura 9.** Puntos de muestreo de M2 y JH dentro del distrito minero de Santa María de la Paz, en Villa de la Paz-Matehuala, S.L.P. (Labastida, 2007a).

#### 4.1.2 Cuantificación granulométrica

El residuo minero-metalúrgico (M3) fue transportado al laboratorio en bolsa de polietileno, fue secado y posteriormente tamizado a tres tamaños de malla: a) No. 60 (250  $\mu\text{m}$ ); b) No. 30 (600  $\mu\text{m}$ ) y c) No. 10 (2 mm). La fracción más fina obtenida en la malla 60 fue analizada mediante un analizador de partículas de difracción láser (Shimadzu, Modelo SALD-1100). Para dicho análisis se utilizó como agente dispersante el hexametáfosfato de sodio (0.2 g) y 3 g de muestra, la cual se mantuvo en medio acuoso y en agitación por 10 min para su análisis.

Cada una de las fracciones obtenidas de las mallas, fueron pesadas para conocer las proporciones en tamaño de partícula del residuo (M3).

---

---

#### **4.1.3. Densidad y contenido volumétrico de agua**

La densidad de M3 se determinó con un picnómetro de 25 mL calibrado (acorde al DIN 12797). Se pesaron 2 g de M3 y se cuantificó la diferencia de peso y volumen del picnómetro, lleno y vacío.

El contenido volumétrico de agua fue estimado por un método de percolación. Se colocaron 5 g de M3 en un crisol tipo Gooch y se irrigó con agua desionizada hasta comenzar la percolación.

#### **4.1.4. Contenido de materia orgánica y alcalinidad**

Se utilizaron 3 g de M3 para determinar la materia orgánica por calcinación a 550°C por 1 h en una mufla (VULCAN 3-550PD NEY), se cuantificó la diferencia de peso inicial con respecto al final. Posteriormente ese mismo residuo se introdujo nuevamente a la mufla a 1000 °C por 1 h para la cuantificación de carbonatos, por la diferencia de peso de la materia orgánica y el peso final (Dean, 1974).

#### **4.1.5 Análisis químico**

El análisis químico para cuantificación de As, Cd, Fe, Cu, Pb, Zn, Al, Si, Mn y Ca se realizó por espectrometría de absorción atómica (EAA) utilizando un espectrómetro Varian Spectra AA 220. Los límites de cuantificación del equipo para los elementos analizados con dicho equipo son los siguientes: 3 mg L<sup>-1</sup> As, 0.03 mg L<sup>-1</sup> Cd, 0.10 mg L<sup>-1</sup> Fe, 0.07 mg L<sup>-1</sup> Cu, 0.19 mg L<sup>-1</sup> Pb, 0.01 mg L<sup>-1</sup> Zn, 1.1 mg L<sup>-1</sup> Al, 2.1 mg L<sup>-1</sup> Si, 0.05 mg L<sup>-1</sup> Mn y 0.05 mg L<sup>-1</sup> Ca.

Los blancos reactivos de las digestiones fueron hechos con materiales estándares de referencia (SRM por sus siglas en inglés) certificados por el Instituto Nacional de Estándares y Pruebas de los Estados Unidos (NIST por sus siglas en inglés). El SRM utilizado fue el correspondiente para concentraciones elevadas de elementos traza, SRM 2710.

---

---

#### **4.1.6. Bioaccesibilidad**

Se agregó 1 g de M3 en un matraz Erlenmeyer de 250 mL el cual contenía 100 mL de una solución extractante compuesta de glicina (base libre, Sigma), ajustada a pH 1 (Thermo Orion 420 A+) con una solución de HCl 12.1 N ( J.T. Baker) y temperatura de 37°C. El matraz se colocó en un agitador orbital (Lumnister, BIA-22) a 150 rpm durante 60 min dentro de una cámara ambiental. En este método mientras transcurre el tiempo es conveniente revisar el pH de la solución para mantenerlo siempre por debajo de 1.5. Una vez transcurrido el tiempo, se filtra el sobrenadante con un filtro de fibra de vidrio con tamaño de poro 0.45 µm, para su posterior análisis por EAA. El experimento se realizó por triplicado.

#### **4.1.7. Digestión total asistida por microondas**

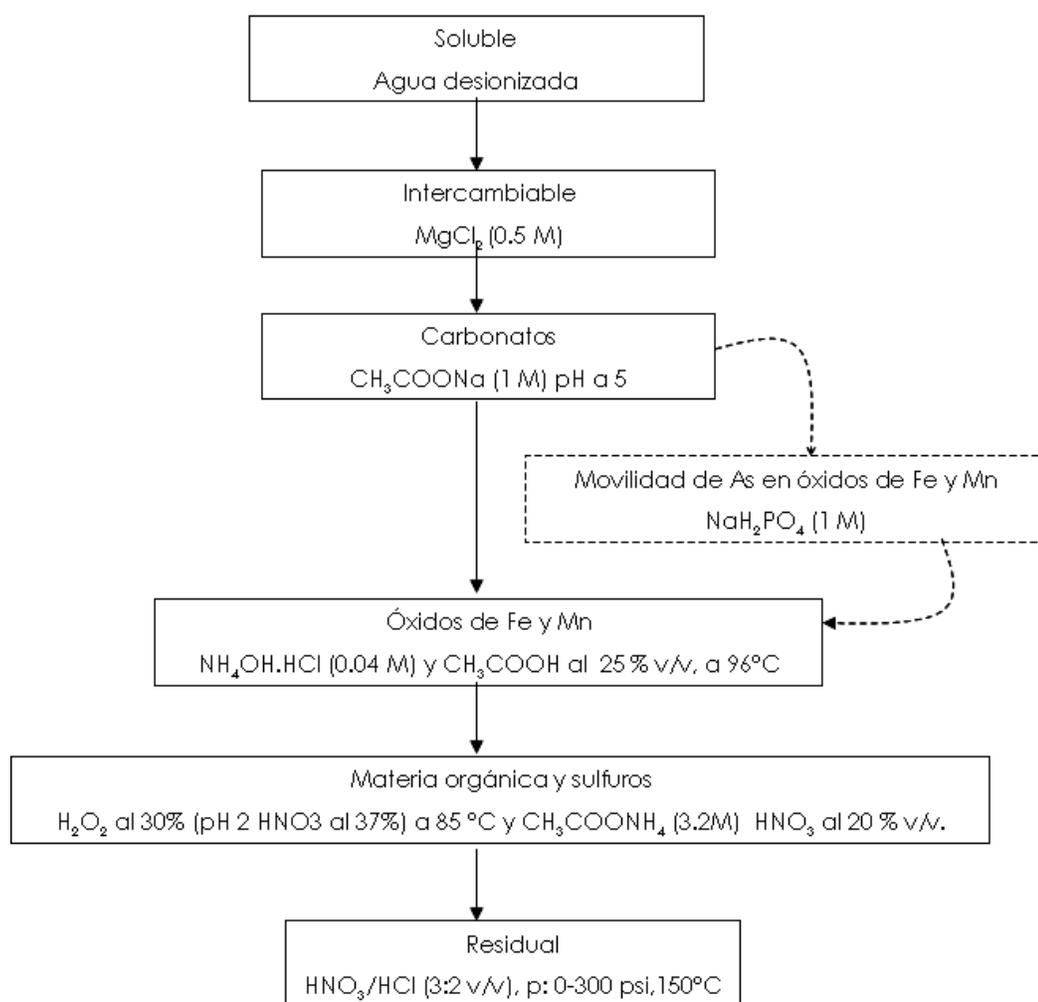
Se tomó 0.5 g de M3 se sometió a digestión total con ayuda de un sistema de digestión por microondas (Mca. CEM mod. MARSX 3100), se utilizó como medio de reacción una mezcla de 10 mL de HNO<sub>3</sub>/HCl (3:2 v/v), a una presión de 0-300 psi por 10 min y con una rampa de temperatura hasta 150°C. La digestión se mantuvo por 10 min a 150°C y 5 min de enfriamiento. El sobrenadante se filtró (Whatman no. 11) y se aforó a 25 mL con agua desionizada; posteriormente se analizó por EAA. Las muestras se prepararon por triplicado.

#### **4.1.8. Movilidad fraccionada para cationes**

La extracción secuencial sucesiva (ESS) consiste en promover la movilización de distintos metales que se encuentran asociados a distintas fracciones de suelo o residuo (Figura 10). En el método se obtienen las siguientes fracciones: fracción soluble (SOL), fracción intercambiable (INT), fracción carbonatada (CAR), fracción de óxidos de Fe-Mn (OFM) y fracción residual (RES).

Se utilizó ESS propuesta por Tessier (1979) modificada por Xiangdong (2001) y Vázquez (2007) (ver Figura 10). Para obtener la fracción soluble se colocó 1g de

M3 en tubos para centrifuga de 20 mL y se agregaron 16 mL de agua desionizada (pH = 5.56) y sometiendo a agitación por 20 min en un equipo rotario (Mca. Heidolph Mod. REAX20) a 3000 rpm. Posteriormente los tubos se centrifugaron (Mca. Beckmam Coulter Mod. Allegra) a 2500 rpm por 15 min. Transcurrido el tiempo se observó la presencia de dos fases a) líquida y b) sólida. El sobrenadante (fase líquida) se recuperó por filtración con un tamaño de poro de 0.45 micras (Pall Corporation), finalmente se acidificó con HNO<sub>3</sub> al 37% y se aforó a 25 mL para su posterior análisis por EAA. Mientras que la fase sólida (M3) se empleó en el siguiente pasó de la extracción para la obtención de la fracción intercambiable.



**Figura 10.** Extracción secuencial selectiva para metales (-) y Arsénico (- -) contenidos en suelos (Tessier, 1979; Xiandong, 2001; Keon et. al. 2001 y Vázquez, 2007).

---

---

Los metales asociados a la fracción intercambiable se obtuvieron al adicionar 16 mL de  $MgCl_2$  (0.5 M). Se agitó y centrifugó bajo las condiciones antes mencionadas. La fase líquida se recuperó y analizó por EAA y la fase sólida se utilizó para obtener la fracción asociada a carbonatos.

La fracción carbonatada se obtuvo al adicionar 16 mL de  $CH_3COONa$  (1 M), al residuo de la extracción anterior, ajustando el pH a 5 con  $CH_3COOH$ , y manteniendo el tiempo de agitación por 5 h. Se centrifugó y el sobrenadante se recuperó y analizó de igual forma que la primera fracción. A la fase sólida recuperada se le adicionó 16 mL de  $NH_4OH.HCl$  (0.04 M) y  $CH_3COOH$  al 25 % v/v, en un sistema semicerrado con un baño maría por 6 h a  $96^\circ C$ , para obtener la fracción de metales asociada a óxidos de Fe-Mn. Después se prosiguió a recuperar y analizar el sobrenadante igual que la fracción soluble. La fase sólida se recuperó y sometió a condiciones oxidantes, se destruyó la materia orgánica y sulfuros, adicionando 3 mL de  $H_2O_2$  al 30% y ajustando el pH a 2 ( $HNO_3$  al 37%), dentro de un baño maría por 2 h a  $85^\circ C$ . Transcurrido el tiempo se dejó enfriar la muestra y se repitió el procedimiento antes mencionado pero ahora por 3 h.

Posteriormente se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente y se adicionaron 5 mL de  $CH_3COONH_4$  (3.2M) con  $HNO_3$  al 20 % v/v. Se agitó y centrifugó en el tiempo y condiciones establecidas anteriormente. La recuperación y análisis del sobrenadante se realizó como en la fracción soluble. Por último, la fase sólida, recuperada de la fracción MOS, se sometió a digestión total (ver sección 4.1.7.) para obtener la fracción residual. Cada muestra se realizó por triplicado.

#### **4.1.8.1. Movilidad fraccionada para aniones (As)**

Se desarrolló el mismo procedimiento mencionado en la sección 4.1.8 para obtener la fracción soluble, intercambiable y carbonatada de arsénico. Posteriormente se aplicó la extracción propuesta por Keon *et al.* (2001), que consiste en someter al residuo sobrante (fase sólida) de la fracción

---

---

carbonatada por dos periodos de 24 h en contacto con 20 mL de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (1 M).

En cada periodo se recuperó el sobrenadante (fase líquida) y se analizó de igual manera que en la sección anterior. Las muestras se prepararon por triplicado.

#### **4.1.9. Determinación de sulfato**

El método (4-188) fue modificado del propuesto en APHA (2005) utilizando la curva de calibración para bajas concentraciones de sulfato y se variaron los volúmenes de muestra y solución amortiguadora utilizada. Esta modificación se hizo debido a que los volúmenes máximos de muestra, obtenidos en la sección 4.1.8. y 4.1.8.1. fueron de 25 mL y en dichas muestras se hace la cuantificación del sulfato.

La curva de calibración se preparó con una serie de diez muestras, cuyo intervalo de concentraciones fue de 1 a 10  $\text{mg mL}^{-1}$  de sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y 20 mL de solución amortiguadora ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Se agregó 0.1 g de  $\text{BaCl}_2$  a la muestra y se puso en agitación por 1 min.

Los espectros de absorción se registraron frente a un blanco reactivo, en el intervalo de 350 a 450 nm, con una resolución de 0.2 nm y se cuantificó a 420 nm, empleando un espectrofotómetro UV-VIS (Mca. Beckmann, DU, 650).

Los límites de detección y cuantificación se estimaron a partir de una serie de 10 muestras como blanco reactivo, preparadas en las condiciones descritas anteriormente. La repetibilidad del método se estableció a partir de una serie de 10 muestras, cuya composición en  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  fue de 3  $\text{mg mL}^{-1}$ . Se calculó la desviación estándar relativa expresada como porcentaje (Valcárcel, 1999). La validación externa del método se llevó a cabo a través de la serie de muestras cuya composición fue la misma que las utilizadas en la calibración pero a diferentes concentraciones.

---

---

#### **4.1.10. Determinación de fases cristalinas mayoritarias**

Se utilizó un equipo de difracción de rayos-X (DRX) para la identificación de las fases cristalinas mayores a 5 %, empleando un difractómetro Rigaku DMAX 2200 con radiación  $K\alpha$  de Cu de 2 a 90° con intervalos de 0.02 segundos durante 5 min a una velocidad de barrido de 8.5 scan  $\text{min}^{-1}$ .

La muestra pulverizada se colocó en un portamuestras de aluminio, haciendo pasar un haz de radiación a través de ella, produciendo una serie de datos los cuales se transforman posteriormente en un espectro de difracción ó difractograma, el cual fue comparado con patrones de difracción para identificar las fases predominantes.

#### **4.2. Procesamiento del biosólido o sustrato orgánico**

Se necesitaba comprobar el consumo de un sustrato de lenta degradación, ya que esto proporcionaría una vida media mayor al sistema sulfatorreductor (Gilbert *et al.*, 1996), debido a la dosificación de la fuente de carbono para los microorganismos. Por lo cual, se decidió utilizar un sustrato que funge como desecho de un proceso de tratamiento de aguas residuales aerobio, lo que lo hace económico, de fácil obtención y no tóxico.

El sustrato orgánico sólido empleado en esta tesis es lodo de purga proporcionado por la planta de tratamiento de agua residual de lodos activados del parque Tangamanga I ubicada en San Luis Potosí, S.L.P, y se denominará en esta tesis como biosólido por su origen.

El biosólido se transportó al laboratorio en botes de polietileno y en un transcurso menor de 8 h fue procesado de la siguiente manera: se dejó sedimentar el tiempo suficiente para eliminar el sobrenadante, seguido de esto, se centrifugó a 1500 rpm por 10 min. Posteriormente se introdujo en una autoclave (Mca. ALLAMERICAN, modelo 25X-1) a 120°C y 150 psi durante 20 min con la finalidad de eliminar todos los microorganismos provenientes del biosólido.

---

---

Posteriormente se colocaron aproximadamente 150 g (peso húmedo) del biosólido en matraces de bola de 250 mL y se sometieron a congelación a -40°C utilizando un congelador de eje rotatorio (Mca. LABCONCO) por un periodo de 20 min. Transcurrido el tiempo el matraz se montó en un sistema de liofilización (Mca. LABCONCO) de doce puertos. Este último paso requirió un tiempo de 48 a 72 h.

Finalmente el biosólido liofilizado (y etiquetado como BIOSL) fue extraído de los matraces y guardado en bolsas de polietileno colocadas dentro de un desecador hasta su posterior uso.

Cabe resaltar que por las pequeñas cantidades de BIOSL obtenidas del lodo de purga, fue necesario hacer tres visitas a la planta de tratamiento de aguas residuales Tangamanga I.

#### **4.2.1. Caracterización fisicoquímica del biosólido o sustrato orgánico**

La determinación de la densidad y el contenido volumétrico de agua se realizó de la misma forma que se explica en la sección 4.1.3. Para la cuantificación de metales totales se siguió el procedimiento mencionada en la sección 4.1.7.

##### **4.2.1.1. Determinación del carbono orgánico total (COT)**

Para la determinación de carbono total (CT) se utilizaron  $13.5 \pm 4$  mg de BIOSL, el cual fue colocado en una celda de cerámica previamente calcinada a 900 °C por 20 min, ésta se introdujo en el equipo de CT en el modulo para muestras sólidas (Mca. TOC-Vcsn, SHIMADZU, Solid sample module, SSM-5000) a 550 °C. La ignición se realizó instantáneamente. Para el carbono inorgánico se utilizaron  $11.55 \pm 0.05$  mg de BIOSL colocándose en la celda y adicionando 0.6 mL de ácido sulfúrico. Se sometió a calcinación a 200 °C. La cuantificación se realizó por diferencia de pesos. El blanco para cada experimento fue una celda limpia y la determinación se realizó por triplicado.

---

---

#### **4.2.1.2 Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)**

La DQO se determinó de acuerdo a lo establecido en el método 5-14 del APHA (2005) empleando una solución de digestión (1.5 mL) de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) de alto rango, 3.5 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). Sin eliminación de las interferencias por nitritos.

La curva de calibración se elaboró utilizando como estándar biftalato de potasio ( $KHC_8H_4O_4$ ). Se preparó una serie de seis muestras cuyo intervalo de concentración fue de 100 a 600 mg L<sup>-1</sup> de  $KHC_8H_4O_4$ . La validación externa del método se llevó a cabo a través de la serie de muestras cuya composición fue la misma que las utilizadas en la calibración pero a distintas concentraciones. Las muestras se mantuvieron en reflujo por 2 h a 150 °C.

Los espectros de absorción se registraron frente a un blanco reactivo, en el intervalo de 550 a 650 nm, con una resolución de 0.2 nm y se cuantificó a 600 nm empleando un espectrofotómetro UV-VIS (Mca. Beckmann, DU, 650).

Se pesó 0.5 g de BIOSL, colocándolo en un matraz aforado de 500 mL y se aforó con HCl 0.01M. La solución se mantuvo en agitación hasta el momento de tomar los 2.5 mL de muestra. La alícuota se mezcló con el  $K_2Cr_2O_7$  y el  $H_2SO_4$ . Todas las muestras se trataron de la misma manera que las preparadas para la curva de calibración.

#### **4.3. Inóculos de trabajo**

Las comunidades microbianas con actividad reductoras de sulfatos (ARS), se aislaron del distrito minero de Villa de la Paz-Matehuala. Se obtuvieron dos consorcios denominados JH y M2 (Labastida, 2007a), los cuales se emplearon para la realización del presente trabajo de tesis.

Los consorcios previamente aislados se mantuvieron en crecimiento en botellas serológicas de 120 mL con un medio de cultivo líquido a pH 7 denominado Postgate, específico para bacterias con ARS. La temperatura de incubación para los inóculos y experimentos posteriores se mantuvo a 30 °C dentro de una

---

---

cámara ambiental. Nunca se agitaron los inóculos, ni los experimentos cinéticos que se realizaron a lo largo del presente trabajo de tesis.

#### **4.4. Medios de Cultivos**

Composición de los medios de cultivo empleados en los experimentos a pH 7.

1. Medio Postgate:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1 g L<sup>-1</sup>),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.5 g L<sup>-1</sup>),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (4.5 g L<sup>-1</sup>),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.04 g L<sup>-1</sup>),  $(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.6 g L<sup>-1</sup>),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.06 g L<sup>-1</sup>),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.004 g L<sup>-1</sup>),  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2\text{S}$  (0.1g),  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$  (0.1 g L<sup>-1</sup>), extracto de levadura (1 g L<sup>-1</sup>),  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$  (2.3 mL L<sup>-1</sup>),  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$  (2.5 g L<sup>-1</sup>),  $\text{C}_3\text{H}_3\text{NaO}_3$  (1.1 g L<sup>-1</sup>).

2. Medio basal (A):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1 g L<sup>-1</sup>),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.5 g L<sup>-1</sup>),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (4.5 g L<sup>-1</sup>),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.04 g L<sup>-1</sup>),  $(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.6 g L<sup>-1</sup>),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.06 g L<sup>-1</sup>),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.004 g L<sup>-1</sup>),  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2\text{S}$  (0.1g). El medio basa A1 es sin ninguna fuente de sulfato.

3. Medio basal (B):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1 g L<sup>-1</sup>),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.5 g L<sup>-1</sup>),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (2.25 g L<sup>-1</sup>),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.04 g L<sup>-1</sup>),  $(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.6 g L<sup>-1</sup>),  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2\text{S}$  (0.1g).

#### **4.5. Determinación de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) en medio líquido**

La determinación del sulfuro de hidrógeno, se determinó de una curva de calibración preparada a partir de una serie de diez muestras, cuyo intervalo de concentraciones fue de 0.5 a 26 mM de sulfuro sódico ( $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) a pH 7. Para ello, se añadieron volúmenes adecuados de la disolución patrón de  $\text{Na}_2\text{S}$  de 100 mM, llenándose con agua hasta el aforo. Los espectros de absorción se registraron frente a un blanco reactivo, en el intervalo de 400 a 550 nm, con una resolución de 0.2 nm cuantificando a 480 nm (Cord-Ruwisch, 1985).

Los límites de detección y determinación, se estimaron a partir de una serie de 10 blancos reactivos, preparados en las condiciones descritas anteriormente. La repetibilidad del método se estableció a partir de una serie de 10 muestras, cuya composición en  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  fue de 7 mM. La validación externa del método se llevó a cabo a través de una serie de siete muestras. El intervalo de

---

---

concentración fue el mismo que para la calibración pero con diferentes concentraciones de  $\text{Na}_2\text{S}$ . Estas muestras se prepararon y analizaron en las mismas condiciones que la serie de calibración.

Para la cuantificación del sulfuro disuelto se tomó 0.1 mL de muestra mediante una jeringa de insulina, la muestra se hizo reaccionar en 4.5 mL de una solución 0.005 M de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y 0.05 M de ácido clorhídrico (HCl), inmediatamente se midió la absorbancia a 480 nm por espectrofotometría UV-Vis.

#### **4.6. Cinéticas sulfatorreductoras**

##### **4.6.1. Cinética sulfatorreductora utilizando como donador de electrones las fuentes de carbono del medio Postgate y el biosólido liofilizado**

Las cinéticas bacterianas fueron montadas en botellas serológicas de 120 mL (experimentos en lote), llenas por completo con medio Postgate e inoculadas con distintas concentraciones conocidas de biomasa (JH o M2) que se determinó por el método de sólidos suspendidos volátiles 2-56 del APHA (2005). La concentración de biomasa varió para cada uno de los experimentos del presente trabajo debido a que, la reproducción celular de bacterias sulfatorreductoras tomó de 3 a 5 días y por el número de botellas serológicas (10) con las que se contó para la generación de biomasa. La concentración de biomasa se especifica para cada experimento en el capítulo de resultados para todos los experimentos realizados en el presente trabajo de tesis.

Se evaluó la cinética de producción del sulfuro disuelto por el método Cord-Ruwisch (1985), así como, el tiempo necesario hasta alcanzar la fase estacionaria de la cinética. El experimento fue realizado por triplicado a pH 7.

Se siguió el mismo procedimiento mencionado anteriormente pero empleando el medio basal A y sustituyendo el donador de electrones del medio Postgate por el BIOSL, en concentraciones de 50, 100 y 200 % del carbono total que aporta el medio Postgate, que corresponden respectivamente a 182, 350.1 y

---

---

700.2 mg DQO L<sup>-1</sup> del BIOSL. El experimento se realizó por triplicado y se utilizó como blanco positivo el medio Postgate para cada inóculo.

#### **4.6.2. Cinéticas de adsorción del H<sub>2</sub>S sobre el biosólido liofilizado**

En botellas serológicas de 120 mL, llenas de medio basal A, se introdujeron 824.84 mg (350.1 mg DQO L<sup>-1</sup>) de BIOSL a los cuales se les añadieron distintas concentraciones de sulfuro sódico (pH 7); 3.6, 4.3, 9.5, 10.2, 14.8, 17.4, 18.1, 19.2, 21.0 y 23.6 mM H<sub>2</sub>S. Se evaluó la variación de la concentración del sulfuro disuelto a lo largo del tiempo en los distintos experimentos que se realizaron por triplicado.

#### **4.6.3. Comportamiento del biosólido liofilizado a diferentes concentraciones en presencia de JH y M2 en ausencia de fuente de sulfato**

Se variaron las concentraciones del donador de electrones (BIOSL) en 22.7, 49.7, 91.0, 182.0, 350.1 y 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup> con medio basal A. Se inoculó para cada concentración con un consorcio microbiano (JH o M2). La variable a evaluar fue el comportamiento óptico de algún compuesto orgánico soluble que absorbiera luz a la misma longitud de onda a la cual se cuantificó el sulfuro (480 nm), por lo que se siguió el mismo procedimiento empleado para la determinación de sulfuro disuelto.

#### **4.6.4. Cinéticas de consumo de oxígeno disuelto (OD) y variación del potencial de óxido-reducción (Eh) de consorcios microbianos sulfatorreductores (JH y M2)**

Se sometieron concentraciones conocidas de los consorcios microbianos (JH y M2) a pruebas respirométricas con el método 2-79 (APHA, 2005) empleando el medio Postgate. Estos consorcios microbianos se colocaron en matraces Erlenmeyer de 125 mL, variando el volumen de líquido (pH 7) de 123 mL (sin

cabeza de aire) y 115 mL (con cabeza de aire) y se mantuvieron herméticamente cerrados para evitar entrada de oxígeno en el sistema.

En las pruebas respirométricas la muestra se agitó por 4 min hasta alcanzar una concentración inicial máxima de 5 mg L<sup>-1</sup> OD.

Para evaluar los cambios en el Eh se utilizaron ambos consorcios bajo las mismas condiciones de volúmenes de solución y de cabeza de aire, y se siguió el comportamiento utilizando el medio Postgate y el BIOSL con el medio basal A (misma concentración de carbono total).

Se introdujo un electrodo de oxígeno disuelto (Clark YSI model 58) y un electrodo de oxido reducción de Ag/AgCl (Termo Orion modelo 420 A<sup>+</sup>, Ag/AgCl, que con respecto al electrodo estándar de hidrógeno (SHE) se encuentra desplazado 197 mV) respectivamente para cada experimento, hasta obtener un valor de 1 mg L<sup>-1</sup> OD y -240 mV (ver Tabla 3).

Tabla 3. Matriz experimental de respirometrías y REDOX

Consortio	Respirometría		REDOX			
	Postgate		Postgate		BIOSL	
	c/CA	s/CA	c/CA	s/CA	c/CA	s/CA
JH	√	√	√	√	√	√
M2	√	√	√	√	√	√

c/CA con cabeza de aire; s/CA sin cabeza de aire

Los resultados de estos experimentos, con los dos consorcios estudiados, se presentan en la sección 5.4.4 y 5.4.5.

#### 4.7. Determinación de parámetros cinéticos $q_{max}$ y $K_s$ (cinéticas de BIOSL)

Se realizaron seis evaluaciones de las actividades sulfatorreductoras independientes con biosólido liofilizado (donador de electrones) a distintas concentraciones 22.7, 49.7, 91.0, 182.0, 350.1 y 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup> a pH 7.0. Empleando botellas serológicas de 120 mL llenas con medio basal B. Se obtuvieron las velocidades de producción de sulfuro ( $q$ ) a diferentes

---

---

concentraciones de BIOSL, y los valores de  $q_{\max}$  y  $K_s$  se obtuvieron del ajuste de los parámetros considerando una cinética tipo Monod.

Los experimentos en lote fueron realizados por triplicado para cada concentración y consorcio microbiano (JH y M2), monitoreando el sulfuro disuelto y los resultados se presentan en la sección 5.5.1

#### **4.7.1. Evaluación del H<sub>2</sub>S como agente inhibidor en los consorcios JH y M2 en presencia de biosólido liofilizado**

Los experimentos en lote para evaluar al sulfuro como inhibidor, se llevaron a cabo en botellas serológicas de 120 mL llenas con medio basal B y 350.1 mg DQO BIOSL como sustrato para ambos consorcios sulfatorreductores (JH y M2). Las concentraciones de sulfuro experimentales se establecieron dentro de los valores especificados en la sección 4.6.2, por lo que se trabajó con 2, 5, 8,10 y 15 mM H<sub>2</sub>S, introducidos al sistema como Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O a un pH de 7 al inicio de cada experimento. La variable a seguir fue la concentración de sulfuro disuelto en el medio líquido.

Las velocidades específicas de producción de sulfuro ( $q$ ) obtenidas en cada lote y para cada especie de sulfuro, sulfuro total (ST) y sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), se presentan en las Figuras 39 y 40. El análisis de estos resultados se discuten en la sección 5.4.2.

#### **4.8. Estabilización de M3 por actividad sulfato reductora**

Con los valores de  $q_{\max}$  y  $K_s$  establecidos, al igual que la cuantificación de metales pesados totales (BIOSL y M3) y sulfatos (M3), se prosiguió al siguiente diseño experimental.

Se plantearon tres ensayos de microcosmos, tal como se muestra en la Tabla 4, en donde se considero lo siguiente:

- 1) Evaluar el comportamiento de los inóculos (JH y M2) en presencia de M3.
- 2) Evaluar el comportamiento del BIOSL y el residuo sin inóculo.

3) Evaluar el comportamiento de los inóculos (JH y M2) en presencia del BIOSL y el residuo M3 bajo distintos contenidos volumétricos de agua.

Tabla 4. Diseño experimental de los microcosmos planteados

<i>Microcosmo</i>	<i>Variables</i>	<i>Contenido volumétrico de agua</i>
1	Inóculo (JH y M2)-Residuo M3	Inundado
2	BIOSL-Residuo M3	Inundado
3	Inóculo(JH y M2)-BIOSL-Residuo M3	1, 30 y 70 % de humedad e inundado

Los ensayos de microcosmos se realizaron en lote dentro de botellas serológicas de 120 mL con el medio basal B a pH de 7, con 5 g de M3 y 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup>. En los tres microcosmos se cuantificó la presencia de sulfuro disuelto. A los microcosmos 1 y 2 se les dio seguimiento por 7 días a diferencia del 3 que solo se siguió por 30 días.

Transcurrido el tiempo del microcosmos 3, se separaron los elementos que lo conformaban de la siguiente forma:

El líquido del sobrenadante se decantó y determinó el pH y Eh seguido de esto se acidificó con HNO<sub>3</sub> (37 %) para su posterior análisis por EAA.

El precipitado de color amarillo formado se extrajo por succión, posteriormente se lavó con 5 mL de agua desionizada para eliminar el exceso de sales provenientes del medio basal B. Finalmente se llevó a sequedad a 20 °C por 3 h para su posterior análisis por MEB.

La mezcla sólida del BIOSL y residuo M3, se lavó en 3 ocasiones con 5 mL de agua desionizada y en cada ocasión se recupero el BIOS por flotación.

Se tomó 1 g del residuo M3, el cual fue montado en probetas de resina epóxica para posteriormente ser desbastadas, pulidas y recubiertas con oro antes de ser analizadas por microanálisis EDS (espectrometría de energía dispersa) acoplado al Microscopia electrónica de Barrido (MEB) empleando un equipo

---

---

Phillips XL30 con un voltaje de aceleración de haz de electrones de 20 KV y una corriente de 50 nA. Las muestras fueron observadas bajo el modo de electrones retrodispersados.

Otro gramo de M3 se sometió a la prueba de movilidad fraccionada para cationes (cf. Sección 4.1.8) y los sobrenadantes se analizaron por EAA.

A un tercer gramo de M3 se le aplicó la movilidad fraccionada para cationes pero el proceso se detuvo en la destrucción de carbonatos y óxidos, el residuo recuperado de estos pasos se montó en resina epóxica dando el mismo tratamiento y análisis ya mencionado.

El sobrenadante se analizó por EAA (sección 4.1.5.), el precipitado amarillo se montó en soportes de aluminio que fueron recubiertos por carbón antes de ser analizados por MEB.

Se realizó la digestión total al BIOSL para cuantificar los metales del sobrenadante por EAA (cf. Sección 4.1.7.).



---

---

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Caracterización fisicoquímica del residuo minero-metalúrgico

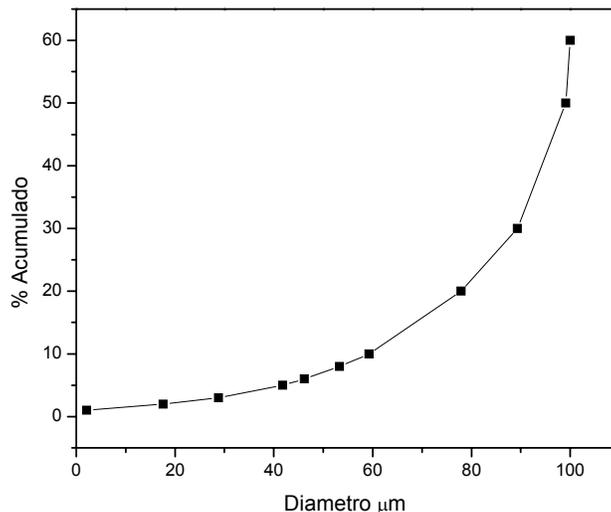
La caracterización fisicoquímica del residuo M3 permite conocer su composición y los procesos que eventualmente podrían llevarse a cabo bajo distintas condiciones experimentales. Este residuo fue elegido ya que contiene principalmente fases mineralógicas oxidadas (Razo 2002) que sirvieron de referencia para comparar el estado final del mismo después de un proceso reductor al que fue sometido.

#### 5.1.1. Determinación granulométrica, densidad y contenido volumétrico de agua

El análisis granulométrico del residuo M3 indicó que de 624 g (tamaño de la muestra) de M3, el 29.84 % en peso corresponden a partículas con un diámetro menor a 250  $\mu\text{m}$ , 28.1% eran partículas con diámetro entre 250 y 600  $\mu\text{m}$  y el 43.05% eran partículas con diámetro mayor a 600  $\mu\text{m}$  e inferior a 2 mm.

El análisis por difracción laser de partículas menores a 250  $\mu\text{m}$  indicó que el tamaño predominante fue de 100  $\mu\text{m}$ , representando el 60 % del acumulado; y el diámetro de 1  $\mu\text{m}$  representó el 3% del total (Figura 11). Es decir partículas menores a 1  $\mu\text{m}$  se encuentran en menor proporción lo cual en términos de salud es benéfico, ya que este tamaño de partículas son las que llegan a afectar el sistema respiratorio (alvéolos).

Empleando el método picnométrico se determinó que el residuo M3 tiene una densidad de  $2.40 \pm 0.18 \text{ g cm}^{-3}$ . El contenido volumétrico de agua estimado por el método de percolación fue de  $0.738 \pm 0.008 \text{ mL g}^{-1} \text{ M3}$ . Estos datos fueron utilizados posteriormente para variar el contenido volumétrico de agua en los experimentos descritos en la sección 4.1.3.



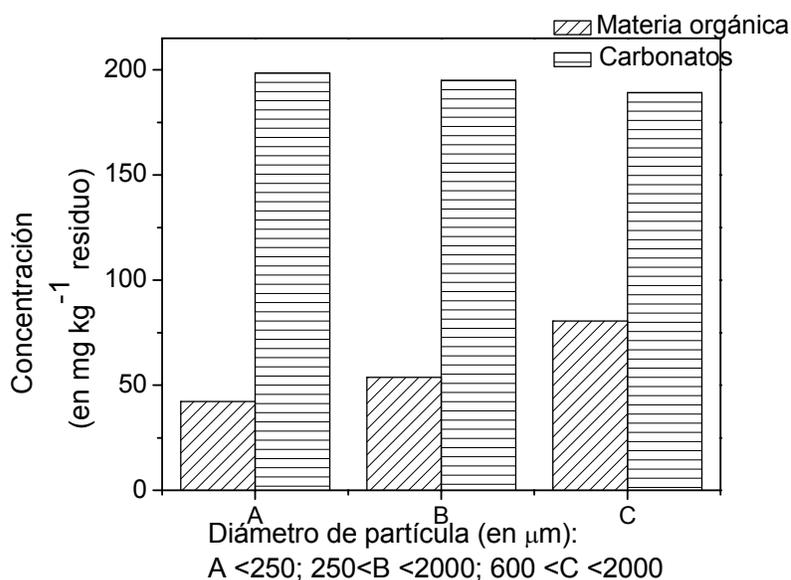
**Figura 11.** Análisis granulométrico del residuo M3 para partículas menores a 250 μm obtenido por difracción láser.

### 5.1.2. Cuantificación de materia orgánica, carbonatos y fases cristalinas

El contenido de materia orgánica, en las tres fracciones granulométricas, se encontró entre 48 y 75 mg kg<sup>-1</sup>. Este valor es inferior inclusive al reportado para suelos con bajo contenido de materia orgánica, 100 mg.kg<sup>-1</sup> (Stevenson, 1982). En la Figura 12 se puede apreciar que en la fracción menor a 2 mm es donde se obtuvo la mayor cantidad de materia orgánica y existe un ligero (4 mg kg<sup>-1</sup> M3) incremento de carbonatos en la fracción menor a 250 μm.

Caso contrario ocurre con el contenido de carbonatos presentes en M3 que oscilan entre 189 y 198 mg CaCO<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> M3. Este mineral establece un sistema de amortiguamiento al estar presente en medio acuoso, con las siguientes especies (CO<sub>2(g)</sub>); acuoso (CO<sub>2(ac)</sub>), (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), así como con los sólidos que lo constituyen permitiendo la neutralización del DAM. Además, hay especies individuales de interés que intervienen en reacciones importantes, distintas a las interacciones ácido-base, como el dióxido de carbono que está implicado en el proceso biológico de respiración (CO<sub>2</sub> producido) y biosíntesis por autótrofos y organismos fotosintéticos (CO<sub>2</sub> consumido) (Jenkis *et al.*, 1999).

En la Figura 13 se aprecian las fases mayoritarias de la fracción granulométrica mayor a 250  $\mu\text{m}$  y menor a 2 mm, en esta se observa principalmente cuarzo [ $\text{SiO}_2$ ], illita  $[(\text{K},\text{H}_3\text{O})(\text{Al},\text{Mg},\text{Fe})_2(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_{10}[(\text{OH})_2,(\text{H}_2\text{O})]]$  y calcita [ $\text{CaCO}_3$ ].

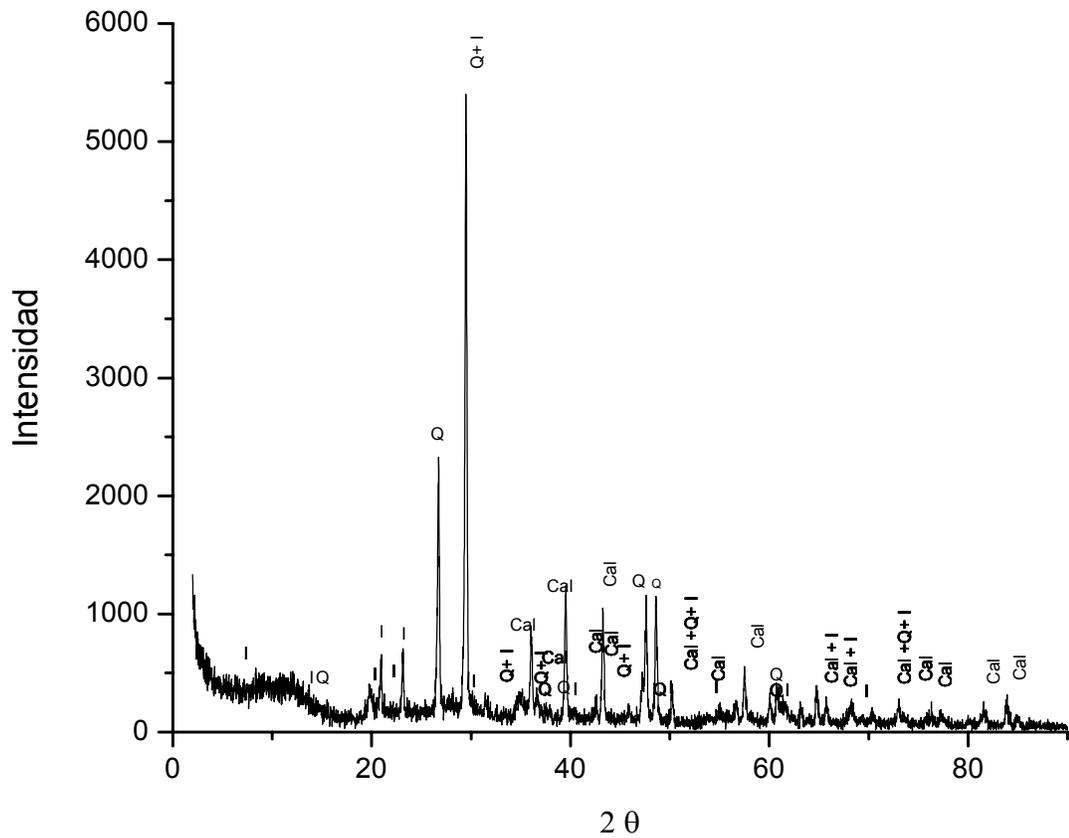


**Figura 12.** Cantidad de materia orgánica y carbonatos presentes en el residuo M3 de acuerdo al tamaño de partícula.

### 5.1.3. Análisis químico de metales (digestión total y bioaccesibilidad)

Para el análisis de metales totales y su correspondiente bioaccesibilidad, se utilizaron 0.5 y 1 g; de la fracción menor a 2 mm, de M3 respectivamente.

En la Tabla 5 se observan las concentraciones totales de los metales que se encuentran en el residuo M3 y sus respectivos porcentajes de bioaccesibilidad. Los resultados indican claramente que el residuo minero-metalúrgico proveniente del distrito minero de Villa de la Paz representa un grave riesgo para la población que está en contacto directo con ellos, debido a que presenta concentraciones de As y Pb por arriba de lo establecido por la NOM-147-SEMARNAT-2005, considerando las concentraciones de referencia totales de dichos metales en suelos residenciales ( $22 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $400 \text{ mg kg}^{-1}$ ).



**Figura 13.** Difractograma de la fracción granulométrica B de M3. I: illita, Q: cuarzo, Cal: calcita.

Cabe resaltar que no necesariamente el metal que está en mayor cantidad presenta un mayor grado de bioaccesibilidad o viceversa. El escenario más preocupante se presenta con el As, en donde el porcentaje de bioaccesibilidad es ~ 87% y la concentración total determinada de este elemento fue ~13,443 mg kg<sup>-1</sup>.

De lo anterior se deriva que no necesariamente la cantidad de metal en el ambiente, en este caso el residuo M3, es el problema, sino más bien, la fase mineralógica a la que está asociado y la cual facilita su movilidad y su toxicidad.

Tabla 5. Concentración de EPT en el residuo M3 determinados por digestión total y prueba de bioaccesibilidad

Elemento	Digestión total (en mg kg <sup>-1</sup> M3)	Porcentaje de bioaccesibilidad
As	13,443.4 ± 1.2	87.09
Cd	397.6 ± 0.5	93.08
Fe	22,983.3 ± 6	22.61
Cu	201.33 ± 1.2	69.37
Pb	1,301.7±2.3	68.60
Zn	8,236.7 ±3	87.81

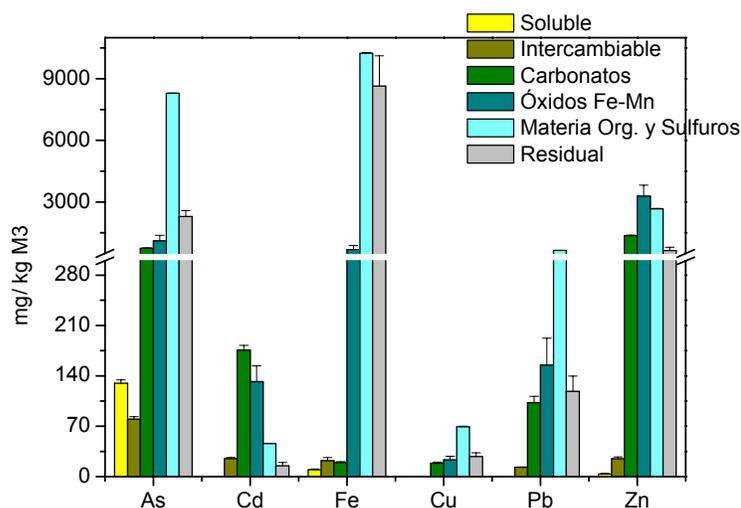
#### 5.1.4 Movilidad fraccionada para aniones y cationes

La ESS catiónica indicó que la mayor cantidad de As, Fe, Cu y Pb en M3 se encuentra asociada a la fracción de materia orgánica y sulfuro. Debido a que M3 es un residuo minero-metalúrgico, con bajo contenido de materia orgánica (cf. 5.1.2), podemos decir que los elementos se encuentran principalmente asociados a los sulfuros correspondientes. Sin embargo, en el caso del Cd, este elemento se encuentra asociado a fases carbonatadas. El Zn, además de estar asociado a fases carbonatadas, también se encuentra asociado a óxidos de Fe-Mn. Es importante mencionar que la menor concentración de metales se cuantificó en la fracción soluble, seguida de la fracción intercambiable (Figura 14).

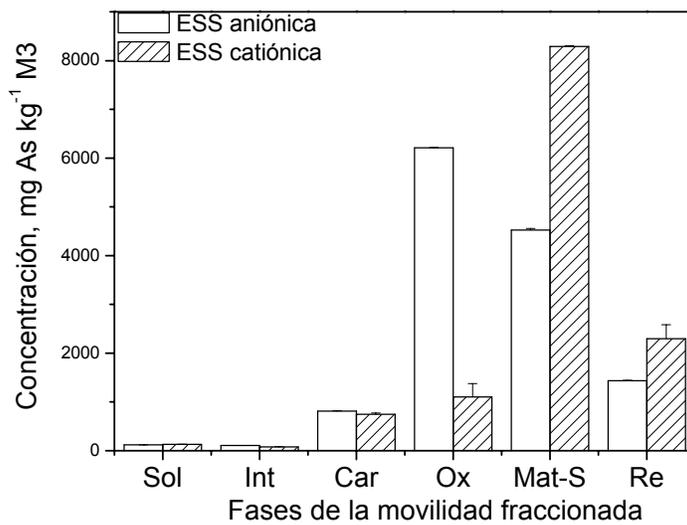
La fracción residual acumula un porcentaje importante de As, Fe, Cu, Pb y Zn; en dicha fracción es en donde los metales están presentes en asociaciones cristalinas bien definidas, las cuales hacen complicada la movilización de los metales con los extractantes utilizados en los distintos pasos de la ESS.

Comparando los resultados obtenidos para la partición del As con la ESS aniónica (Figura 15) se observa para las primeras tres fracciones, soluble, intercambiable y carbonatada, el mismo comportamiento que el obtenido con la ESS catiónica. Sin embargo, en el caso de la fracción de As asociada a óxidos de Fe-Mn, debido a la presencia de fosfatos en el extractante, se

promueve una remoción de  $4,875 \text{ mg As kg}^{-1}$ , y el resto del arsénico asociado a los oxi-hidroxidos de hierro y manganeso ( $1,334 \text{ mg As kg}^{-1}$ ) es removido por reducción de estas fases con hidroxilamina. En el caso de la ESS catiónica solamente fue posible cuantificar  $1,102 \text{ mg As kg}^{-1}$  lo que indica una subestimación de arsénico asociado a esta fracción. La partición del arsénico definida con la ESS aniónica permite estimar que el As asociado a sulfuros corresponde solamente a  $4,125 \text{ mg As kg}^{-1}$ , que representa 4.3 veces menos que el estimado con la ESS catiónica. Teóricamente al final de ambas ESS la fracción asociada al residual cerraría el balance de metales pero existe una diferencia de  $860 \text{ mg As kg}^{-1}$  en esta última fracción que representa el 6.4 % del contenido total de As. Esto es debido a que en el presente trabajo se esta manipulando un residuo minero-metalúrgico el cuál presenta un alto nivel de heterogeneidad, pero independiente de esa situación se obtuvieron errores pequeños en la cuantificación.



**Figura 14.** Extracción secuencial sucesiva catiónica de EPT de la fracción menor a 2 mm del residuo M3.

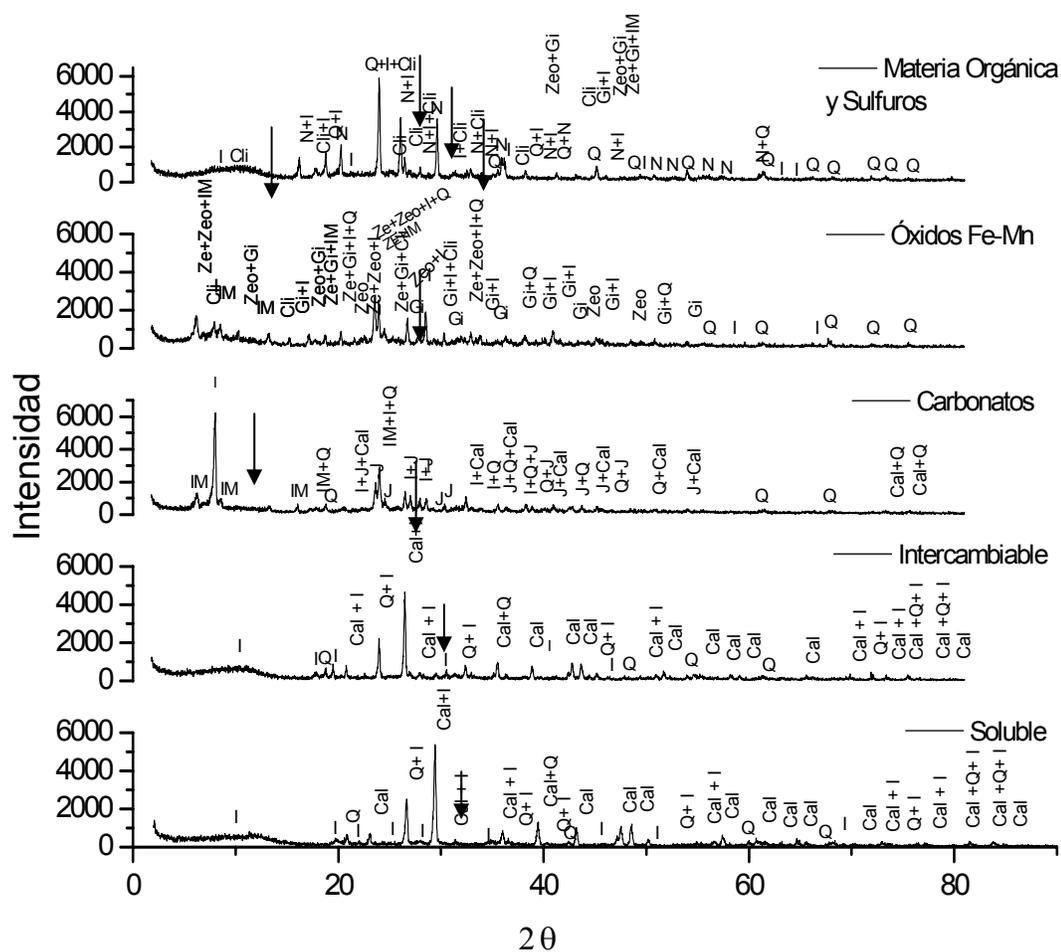


**Figura 15.** Comparación de la movilidad fraccionada del As catiónica y aniónica. Sol-soluble, Int-Intercambiable, Car-carbonatos, Ox-óxidos Fe-Mn, Mat-S- Materia orgánica y sulfuros, Re-residual.

### 5.1.5. Análisis de fases cristalinas después de la movilidad fraccionada (DRX)

Para verificar la transformación de las fases se sometió otra muestra de M3 a la ESS catiónica. Se recuperó el residuo sólido de cada paso de la extracción para posteriormente analizarlo por DRX. Los resultados se muestran en la Figura 16. Al someter al residuo M3 a extracción con agua desionizada no ocurrió ningún cambio drástico en las fases cristalinas que predominan (cuarzo, illita y calcita) comparándolo con la Figura 13, al igual que la fase intercambiable, la única diferencia notable es la variación en la intensidad del pico de calcita-illita que va de 6050 a 4880. Durante la etapa de determinación de la fracción carbonatada, se observa claramente la destrucción de carbonatos por la disminución considerable en la intensidad de los picos de calcita-illita. Lo anterior favoreció la definición de una estructura aluminosilica identificada como una fase alterada de la melilita (i.e. juanite)  $[(Ca,Na)_2(Al,Mg,Fe^{2+}(Si,Al)_2O_7]$  y respuesta de illite-montmorillonita.

Durante la reducción de óxidos de Fe-Mn se aprecia, y entre un ángulo de 0 y 30° se observó la destrucción de óxidos amorfos, y relevancia de fases clasificadas como zeolitas entre ellas la gismondita  $[Ca_2Al_4Si_4O_{16} \cdot 9H_2O]$  y clinoferrosilita  $[(FeMg)_2Si_2O_6]$ . Por otro lado, en la fase de materia orgánica y sulfuros, además de las fases antes mencionadas, se observa la aparición de nitramita. Esta fase podría ser un producto sólido secundaria formado por la introducción de hidroxilamina ( $NH_4OH.HCl$ ) que se utiliza en la destrucción de óxidos Fe-Mn, y en donde el radical amino podría ser adsorbido sobre los aluminosilicatos de la matriz anteriormente descritos.



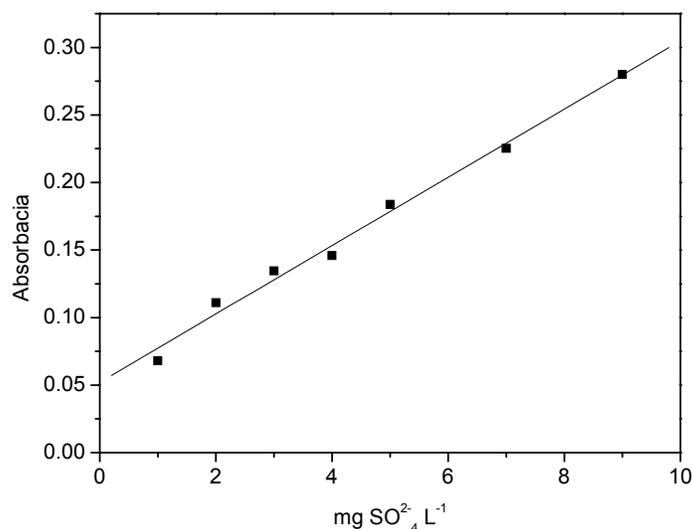
**Figura 16.** Difractogramas de RX para las distintas fracciones de las extracciones secuenciales cationicas. Fases minerales mayoritarias I: illita, Q: cuarzo, Cal: calcita, IM: Illita-montmorillonita, J: juanita, Gi: gismondita, Ze: zeolita, Zeo: Zeolita, Cli: clinoferrosilita y N:nitradita.

---

---

### 5.1.6. Determinación de sulfatos por UV-Vis

En la Figura 17 se representa gráficamente la curva de calibración convencional para  $\text{SO}_4^{2-}$  a partir de la preparación de diez muestras, considerando la señal de absorbancia en el máximo de absorción a 420 nm. Como puede observarse, la relación señal versus concentración es lineal en el intervalo de 1 a 9 mg de  $\text{SO}_4^{2-} \text{ L}^{-1}$  ( $R^2 > 0.9903$ ). Sin interferencias, la calibración univariante se considera adecuada para cuantificar  $\text{SO}_4^{2-}$  por espectrofotometría UV-Vis. En la Tabla 6 se describen algunas características analíticas del método sustentado en una calibración univariante.



**Figura 17.** Curva de calibración para sulfatos, en el intervalo de 1 a 9 mg L<sup>-1</sup> de sulfatos (absorbancia a 480 nm).

Tabla 6. Características analíticas del método de calibración propuesto para determinar sulfatos.

	Parámetros	
Calibración	Función de calibración	$A^{1}_{245}=0.0253*C+0.05211$
	Coeficiente de correlación	0.9903
	Intervalo de trabajo	1 – 9 mg L <sup>-1</sup>
	Límite de detección	0.2 mg L <sup>-1</sup>
	Límite de determinación	1 mg L <sup>-1</sup>
Precisión	Repetibilidad <sup>2</sup>	2.6 %
Exactitud	$R \pm L.C.^3$	105.61 $\pm$ 2.9 %
	Función lineal para la relación C <sub>est</sub> vs C <sub>esp</sub> <sup>4</sup> , coeficiente de correlación	C <sub>est</sub> = 0.9767*C + 0.2326, r = 0.996

<sup>1</sup> A<sub>420</sub> y C, absorbancia a 420 nm y concentración en mgL<sup>-1</sup>; <sup>2</sup> Expresado como coeficiente de variación; <sup>3</sup> Promedio del porcentaje de recuperación  $\pm$  límites de confianza; <sup>4</sup> Concentración estimada (C<sub>est</sub>) vs concentración esperada (C<sub>esp</sub>).

El límite de detección se estimó a partir de la función:

$$L_D = \frac{3s}{m} \quad (19)$$

donde  $L_D$  es el límite de detección, s es la desviación estándar de las lecturas de absorbancia a 420 nm provenientes de las muestras blanco reactivo, mientras que m es la pendiente de la curva de calibración. El límite de determinación o cuantificación ( $L_c$ ) se estimó a partir de una ecuación similar (Martens, 1989, TSU, 2005):

$$L_c = \frac{10s}{m} \quad (20)$$

La repetibilidad del método se estableció a través de 10 muestras con una concentración de 3 mg L<sup>-1</sup> de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Se calculó entonces la desviación estándar relativa expresada como porcentaje (Martens, 1989, TSU, 2005).

Para evaluar la exactitud del método a través de la calibración, se consideraron las muestras de validación. Los resultados se expresan como el

---

---

promedio de los porcentajes de recuperación  $\pm$  límites de confianza, calculándose tales límites a través de la expresión:

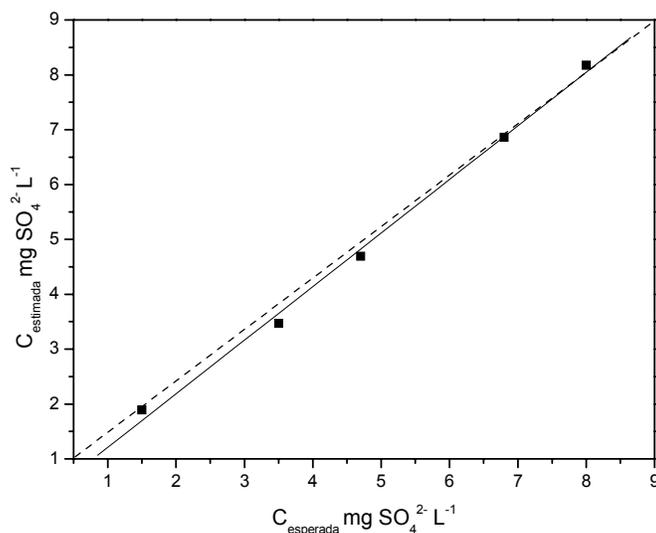
$$\text{Límite de confianza} = t \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (21)$$

Donde  $t$  es el parámetro de Student, que depende de los grados de libertad, así como el nivel de confianza requerido;  $s$  es la desviación estándar de la serie de datos y  $n$  es el número de muestras a promediar [Martens, 1989]. En este caso, la  $t$  se consideró con un 95% de confianza (tabla de dos sesgos), 9 grados de libertad y 10 muestras en total.

Los porcentajes de recuperación se obtienen a su vez de acuerdo a:

$$\text{Porcentaje de recuperación} = \frac{C_{est}}{C_{esp}} * 100 \quad (22)$$

Donde  $C_{est}$  es la concentración estimada y  $C_{esp}$  es la concentración esperada, para una muestra dada. En este caso, el promedio del porcentaje de recuperación fue aceptable (105.61 frente al 100 % en condiciones ideales). Lo que demuestra que el método es exacto para determinar sulfatos.



**Figura 18.** Correlación entre la concentración estimada y la concentración esperada de sulfato, en la serie de mezclas de validación (línea discontinua) relación ideal con  $b_0 = 0$  y  $b_1 = 1$ ; (línea continua) relación obtenida.

Otra forma de expresar la exactitud del método es a través de una regresión lineal, donde se comparan las concentraciones estimadas del analito frente a las concentraciones esperadas [Massart *et al.*, 1997]. La función lineal obtenida puede apreciarse en la Tabla 6 y la representación gráfica de estos resultados en la Figura 18.

Se analizó el sobrenadante de la ESS catiónica para determinar  $SO_4^{2-}$  encontrándose la menor concentración en las fases intercambiable, óxidos de Fe-Mn y solubles, mientras que destruyendo carbonatos se obtiene la mayor concentración (ver Tabla 7).

Tabla 7. Contenido de sulfatos en las distintas fracciones del residuo

Fracción	mg $SO_4^{2-}$ kg <sup>-1</sup> M3	mmol $SO_4^{2-}$ kg <sup>-1</sup> M3
Soluble	89.22 ± 2.09	0.929
Intercambiable	39.08 ± 8.44	0.407
Carbonatos	256.22 ± 91.53	2.7
Óxidos Fe-Mn	73.25 ± 22.75	0.763
Total	337.88	4.768

## 5.2. Caracterización fisicoquímica del biosólido liofilizado (BIOSL)

Una muestra de materia orgánica proveniente de los procesos de digestión aerobios y anaerobios, constituida por material orgánico (proteínas, lípidos, grasas, etc.) e inorgánico (arcillas y óxidos metálicos) fue liofilizado y empleado como sustrato orgánico para los sistemas de estabilización de los metales y arsénico presentes en el residuo M3. A este material se le identificó como BIOSL. La densidad y el contenido volumétrico de agua del BIOSL fue de  $1.294 \pm 0.06$  g cm<sup>-3</sup> y 3.3 mL g<sup>-1</sup> BIOSL respectivamente. El BIOSL presenta una densidad menor a M3 pero con el mismo contenido volumétrico de agua, Lo anterior fue determinado para estimar el volumen de agua en el sistema y la fracción sólida correspondiente.

---

---

### 5.2.1. Determinación de carbono orgánico total (COT) y demanda química de oxígeno (DQO)

Para conocer la cantidad de carbono orgánico que aportaría el biosólido liofilizado, se empleó la técnica de COT para su determinación obteniendo una concentración de 580 mg C g<sup>-1</sup> BIOSL. El resultado era excelente si consideramos que fuentes de carbono orgánico grado analítico aportan cerca del 50% de C en peso, podríamos decir que el BIOSL se compararía con un reactivo de esta índole, sin embargo, se presentaron algunos inconvenientes al momento de la determinación relacionados con el muestreo y la cantidad de BIOSL analizado (10 mg). Lo anterior puede ser atribuido a la estructura del BIOSL, el cual presenta cargas electrostáticas fuertes que originan que se quede adherido a las paredes de la espátula metálica. Lo anterior genera un error analítico en el procesamiento de la muestra que da como resultado una respuesta poco confiable, a pesar de que la dispersión de resultados sea sólo de 4.01 mg C g<sup>-1</sup> BIOSL (ver Tabla 8).

Tabla 8. Determinación del carbono orgánico en el biosólido liofilizado (BIOSL)

<i>Variable</i>	<i>mg C g<sup>-1</sup> BIOSL o mg DQO L<sup>-1</sup></i>	<i>n</i>
COT		
Orgánico	580 ± 4.01	5
Inorgánico	0.096 ± 0.04	5
DQO*		
1	411.6 ± 4.96	8
2	437.5 ± 3.80	10
3	423.6 ± 4.02	8
Trabajo	424.5	

\* corresponde a las 3 ocasiones en que se obtuvo el lodo de purga para procesarlo y obtener el BIOSL.

---

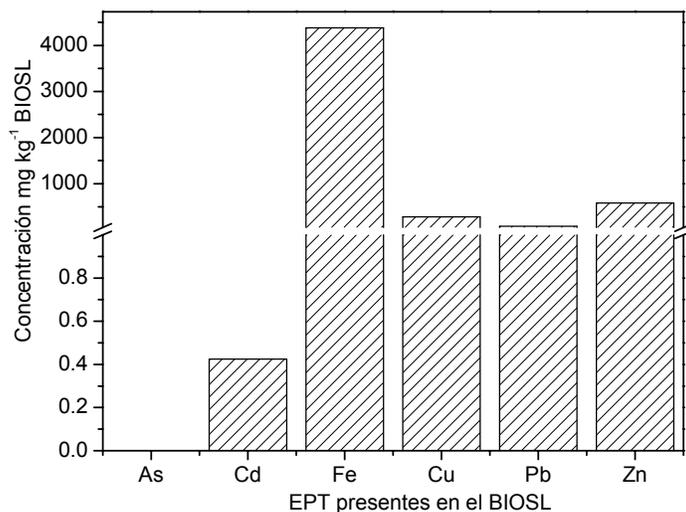
---

Por lo anterior, se tomó la decisión de utilizar un método que permite cuantificar la cantidad de materia orgánica como DQO. Teniendo en cuenta que el agente oxidante es dicromato de potasio, el cual es considerado como un oxidante fuerte que tiene la capacidad de oxidar distintos materiales orgánicos e inorgánicos, la cuantificación de carbono en el BIOSL se considerara sólo como cuantificación de material orgánico. Una ventaja que presenta la DQO, sobre el método COT, es la cantidad de muestra a utilizar, siendo la cantidad de muestra a analizar mayor que el anterior. La desventaja se encuentra en la toma de muestra, debido a que el BIOSL tiene la capacidad de formar aglomerados en solución, su heterogeneidad provoca incertidumbre. La variación entre las distintas ocasiones que se realizó el procesamiento del BIOSL y se determinó la DQO fue cercana en las tres ocasiones, encontrándose los valores siguientes: 411.05, 423.6 y 437.5 mg DQO g<sup>-1</sup> BIOSL.

Tal como se muestra en la Tabla 8, se determinó que el carbono orgánico que aporta el BIOSL es de 424.56 mg DQO g<sup>-1</sup> BIOSL, el cual se obtuvo del promedio de los dos primeros valores de DQO obtenidos.

### **5.2.2. Determinación total de metales en el BIOSL**

Para conocer la concentración de metales totales provenientes del BIOSL se tomo 0.5 g y se procesó tal como se indica en el apartado 4.1.7. Los resultados se muestran en la Figura 19, en estos se puede apreciar que no se detecto As y que las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn son muy pequeñas comparadas con la aportadas por M3. El único aporte considerable es del Fe pero en general, se consideró que el BIOSL no era una fuente importante de metales en el sistema experimental con el cual se trabajaría posteriormente.



**Figura 19.** Concentración de EPT presentes en el BIOSL

### 5.3. Balance final de metales

De acuerdo a los resultados obtenidos de las concentraciones totales de metales presentes en M3 y el BIOSL, se determinó trabajar sólo con las concentraciones totales de metales procedentes del residuo M3 ya que, comparadas con las del BIOSL, son las más representativas y en orden de magnitud más importantes.

Por consiguiente, el balance de metales a considerar está conformado por As, Cd, Fe, Cu, Pb y Zn, considerando que son los únicos susceptibles de formar sulfuros metálicos ( $As_2S_3$ ,  $AsS$ ,  $PbS$ ,  $CdS$ ,  $FeS$ ,  $FeS_2$ ,  $ZnS$ ) como productos de estabilización del sistema propuesto en el presente trabajo.

Para realizar el cálculo final de metales que se deseaba precipitar como sulfuros, se tomaron en cuenta los resultados obtenidos en la ESS catiónica para todos los metales. Para el As se consideró la ESS aniónica. Las fracciones consideradas van desde la fracción soluble a la correspondiente a óxidos de Fe-Mn (Tabla 9).

Considerando la concentración de EPT en las cuatro primeras fracciones de la ESS, se obtiene una concentración total de EPT 3.9 veces menor que la considerada en todas las fracciones. Como se observa en la ecuación 8 y 9, se requiere un mol de sulfato para producir un mol de sulfuro por ARS, el cual puede precipitar con uno o dos moles de As, Cd, Fe, Cu, Pb o Zn.

Tabla 9. Cuantificación total de metales y sulfatos provenientes de M3

<i>Elemento</i>	<i>mmol elemento</i> <i>kg<sup>-1</sup> M3*</i>	<i>mmol S requerido</i> <i>kg<sup>-1</sup> M3*</i>	<i>mmol elemento</i> <i>kg<sup>-1</sup> M3**</i>	<i>mmol S requerido</i> <i>kg<sup>-1</sup> M3**</i>	Relación molar del Precipitado (MeS) <sup>A</sup>
As	179.30	234.24	96.90	145.35	moles=[As]/PM <sup>B</sup> <sub>As</sub> *(3/2)
Cd	3.53	3.29	2.96	2.96	moles =[Cd]/PM <sub>Cd</sub>
Fe	411.59	186.12	13.09	26.19	moles =[Fe]/PM <sub>Fe</sub> *2
Cu	3.16	2.19	0.66	0.66	moles =[Cu]/PM <sub>Cu</sub>
Pb	6.82	4.310	1.30	1.30	moles =[Pb]/PM <sub>Pb</sub>
Zn	125.96	110.63	71.66	71.54	moles =[Zn]/PM <sub>Zn</sub>
<b>Total</b>	729.84	540.81	186.59	248.02	

\*considerando todas las fracciones de la ESS

\*\*Considerando las fracciones soluble, intercambiable, carbonatada y de óxidos de Fe-Mn de la ESS

<sup>A</sup> Relación molar máxima que puede darse para formar un sulfuro metálico

<sup>B</sup> PM es el peso atómico de cada elemento

---

---

Por lo tanto, el balance de masa sobre los requerimientos de sulfuro indican que: se requieren 8.11 mM de  $\text{SO}_4^{2-}$  para precipitar 186.59 mmol de metales  $\text{kg}^{-1}$  M3. Si observamos la Tabla 7, el residuo M3 aporta sólo 4.768 mM  $\text{SO}_4^{2-}$ , por lo consiguiente es necesario adicionar 8.11 mM  $\text{SO}_4^{2-}$  de una fuente externa, y en este estudio se agregó como  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

Una vez establecido el balance total de reactivos se eligió trabajar con 5 g de M3 para los experimentos posteriores en los cuales se desea precipitar los metales en forma de sulfuros metálicos.

De acuerdo al tamaño de la muestra, se necesitan 8.11 mM  $\text{SO}_4^{2-}$  para la estabilización de metales de las fracciones seleccionadas de la ESS. Por lo que experimentalmente se añadieron 15.78 mM  $\text{SO}_4^{2-}$  que representó un exceso de 7.67 mM  $\text{SO}_4^{2-}$ . Lo anterior tuvo la intención de identificar el final de la cinética microbiana, en un sistema cerrado, por cuantificación del sulfuro en el medio acuoso que se produciría por el exceso de sulfato. Esto indicaría que la precipitación total de todos los metales presentes en 5 g de M3 de las fracciones de la ESS consideradas, habría llegado a su término. Cabe resaltar que si se deseara estabilizar todos los metales presentes en todas las fracciones 5 g M3 se requerirían 31 mM de  $\text{SO}_4^{2-}$ .

#### **5.4. Inóculos sulfatorreductores**

Los inóculos sulfatorreductores (JH y M2) utilizados se mantuvieron en medio Postgate para mantenerlos activos para experimentos posteriores, el cambio de medio de cultivo se realizó periódicamente cada tres semanas ya que transcurrido dicho tiempo los inóculos se encontraban en estado estacionario. La característica particular es la formación de precipitado negro que indica la generación de sulfuro por la formación de precipitado de hierro (Figura 20).



**Figura 20.** Botella serológica con presencia de actividad reductora de sulfatos

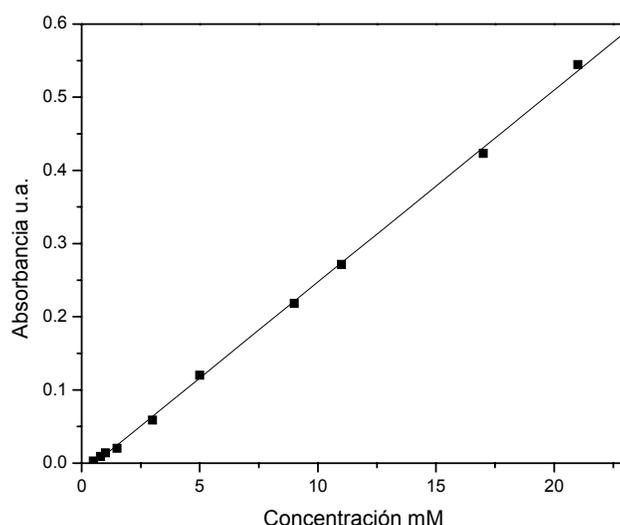
#### **5.4.1. Método turbidimétrico para determinar sulfuro de hidrógeno**

En la Figura 21, se representa gráficamente la curva de calibración convencional para  $\text{Na}_2\text{S}$  a partir de la preparación de diez muestras, considerando la señal de absorbancia a 480 nm. Como puede observarse, la relación señal vs concentración es lineal en el intervalo de 0.5 a 21 mM de  $\text{Na}_2\text{S}$  ( $R^2 > 0.9996$ ), además de que el valor del cruce de la ordenada con el origen es despreciable. Sin interferencias, la calibración univariante se considera adecuada para cuantificar el sulfuro de hidrógeno por espectrofotometría UV-Vis.

En la Tabla 10 se describen las características analíticas del método sustentado en una calibración univariante del sulfuro de hidrógeno.

El límite de detección, cuantificación, repetibilidad, límites de confianza y porcentajes de recuperación se estimaron igual que en la sección 5.1.6.

La regresión lineal que se presenta en la Figura 22, la cuál compara las concentraciones estimadas del analito frente a las concentraciones esperadas, muestra que existe una buena correlación lineal en la cuantificación de sulfuro.

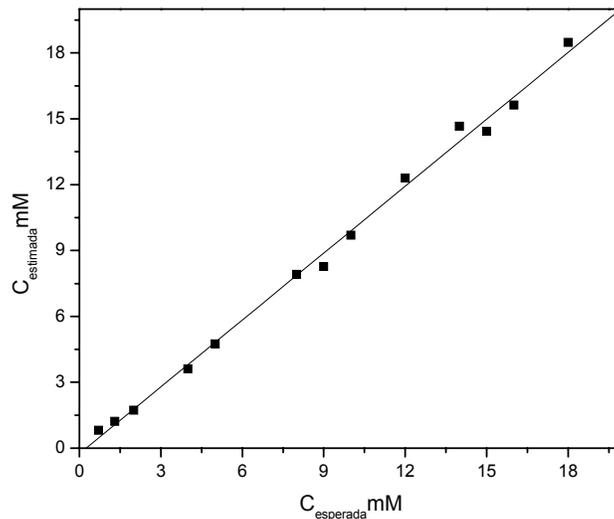


**Figura 21.** Curva de calibración convencional para  $\text{Na}_2\text{S}$ , en el intervalo de 0.5 a 21 mM de  $\text{Na}_2\text{S}$  (absorbancia a 480 nm).

Tabla 10. Características analíticas del método de calibración univariante propuesto para determinar sulfuro.

	Parámetros	
Calibración	Función de calibración	$A_{480}=0.0232 \cdot C-0.0069^1$
	Coefficiente de correlación	0.9996
	Intervalo de trabajo	0.5 – 21.0 mM
	Límite de detección	0.06 mM
	Límite de determinación	0.2 mM
Precisión	Repetibilidad <sup>2</sup>	5 %
Exactitud	$R \pm \text{L.C.}^3$	$97.88 \pm 7.3 \%$
	Función lineal para la relación $C_{\text{est}}$ vs $C_{\text{esp}}^4$ , coeficiente de correlación	$y=1.015 \cdot C-0.0252, r = 0.9978$

<sup>1</sup>  $A_{480}$  y C, absorbancia a 480 nm y concentración en mM; <sup>2</sup> Expresado como coeficiente de variación; <sup>3</sup> Promedio del porcentaje de recuperación  $\pm$  límites de confianza; <sup>4</sup> Concentración estimada vs concentración esperada.



**Figura 22.** Concentración estimada vs concentración esperada de sulfuro en la serie de mezclas de validación relación ideal con  $b_0 = 0$  y  $b_1 = 1$

#### 5.4.2. Cinéticas de consorcios sulfatorreductores en presencia de medio Postgate

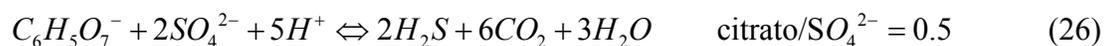
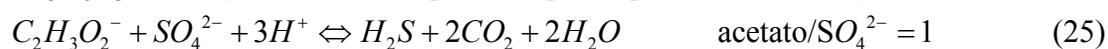
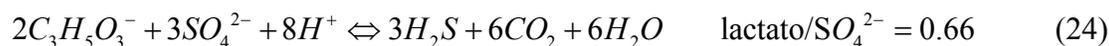
Lo primero que tenía que verificarse con los consorcios sulfatorreductores aislados del distrito minero de Villa de la Paz Matehuala, era su velocidad de producción de sulfuro ( $q$ ) la cual proporciona el tiempo en que los microorganismos se mantendrían activos; así como la relación estequiométrica DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. La DQO que se usa para reducir el sulfato a sulfuro se baso en la semireacción (ecuación 23):



De tal forma que para conocer la relación molar DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> está se establece con respecto al sustrato utilizado y oxígeno.

En las siguientes ecuaciones (24-27) se muestra las posibles relaciones molares de diferentes sustratos con SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> que se pueden dar dentro del experimento. Sin embargo, estas relaciones no representan el valor experimental encontrado para cada consorcio sulfato reductor. En el medio se colocan 31.9 mM SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y

226.49 mM C distribuidos entre citrato de sodio, lactato de sodio, acetato de sodio, piruvato de sodio y extracto de levadura. En este último sustrato se consideró un aporte del 50 % en peso en C ya que no se conoce su fórmula molecular.

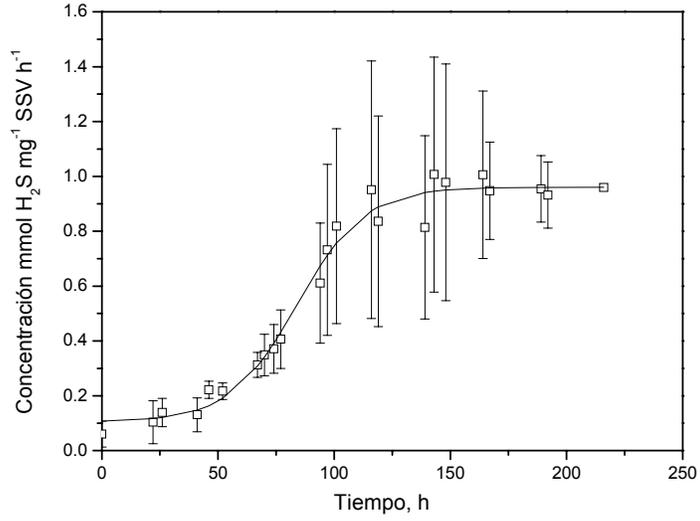


Si se hubiera utilizado sólo lactato, acetato, citrato o piruvato tendríamos una relación de 0.66, 1, 0.5, o 0.8 respectivamente. La relación molar sustrato/ $SO_4^{2-}$  se encontró con la concentración total de carbono utilizado en el medio de cultivo y la producción máxima de sulfuro para cada consorcio sulfatorreductor.

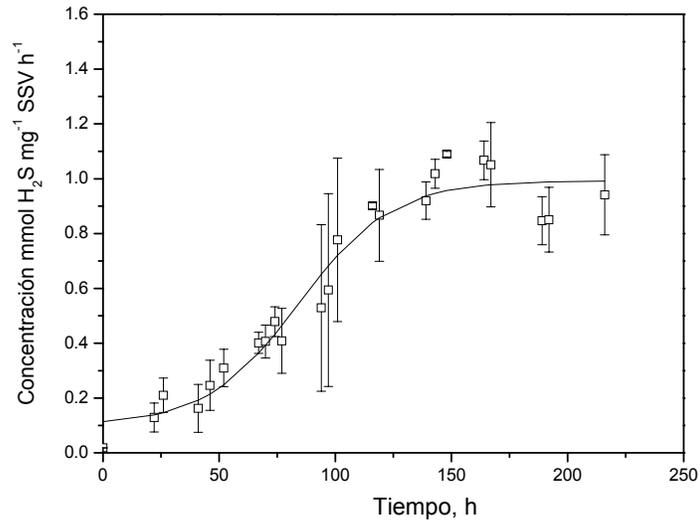
En la Figura 23 se muestra el comportamiento que sigue el consorcio JH, encontrándose su fase exponencial entre 50 y 125 horas y con una máxima producción de sulfuro de 0.9 mol  $H_2S$   $kg^{-1}$  SSV. Además, se determinó que la velocidad máxima de producción de sulfuro ( $q$ ) fue de 8.1 mmol  $H_2S$   $kg^{-1}$  SSV  $h^{-1}$ .

En la Figura 24 se observa el comportamiento de M2, con una ( $q$ ) de 7.4 mmol  $H_2S$   $kg^{-1}$  SSV  $h^{-1}$ . Ambos consorcios presentaron un comportamiento similar, las diferencias apreciables muestran que posiblemente la concentración de biomasa no influye directamente el comportamiento bacteriano ya que en ambos experimentos la concentración fue la misma (260 mg  $L^{-1}$ ).

De estos resultados se concluye que JH presentó una mayor actividad sulfatorreductora que en M2, ya que presenta una mayor " $q$ ". La relación molar sustrato / $SO_4^{2-}$  para JH fue de 20.7 y para M2 de 25.1.



**Figura 23.** Actividad sulfatorreductora de JH en medio Postgate (para un Inóculo inicial de 260 mg SSV L<sup>-1</sup>)



**Figura 24.** Actividad sulfatorreductora de M2 en medio Postgate (para un Inóculo inicial de 260 mg SSV L<sup>-1</sup>)

---

---

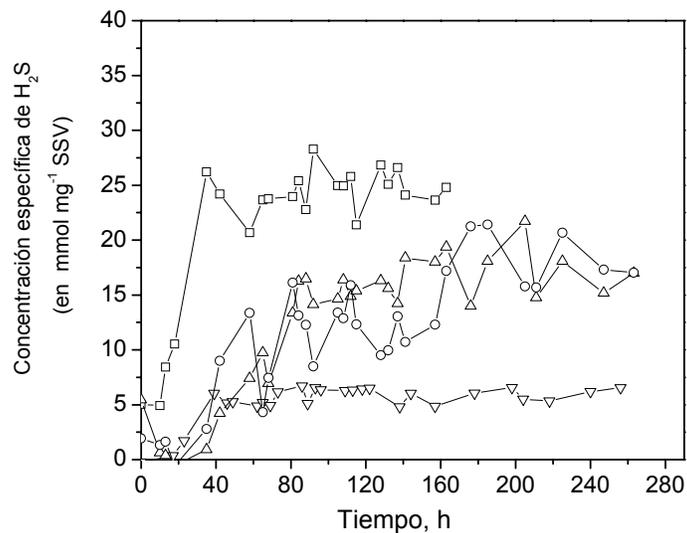
### 5.4.3. Cinéticas de consorcios sulfatorreductores variando el porcentaje de biosólido liofilizado

Se sometió a JH y M2 a una modificación del medio Postgate, en donde las cinco fuentes de carbono se sustituyeron por BIOSL en diversas proporciones. Los porcentajes de carbono introducido como BIOSL o medio Postgate fueron los siguientes: 50% C como BIOSL y 50% de C como medio Postgate; 100% C - BIOSL 100% y 200% de C - BIOSL. Se consideró como control positivo la respuesta microbiana empleando exclusivamente como fuente de carbono el medio Postgate.

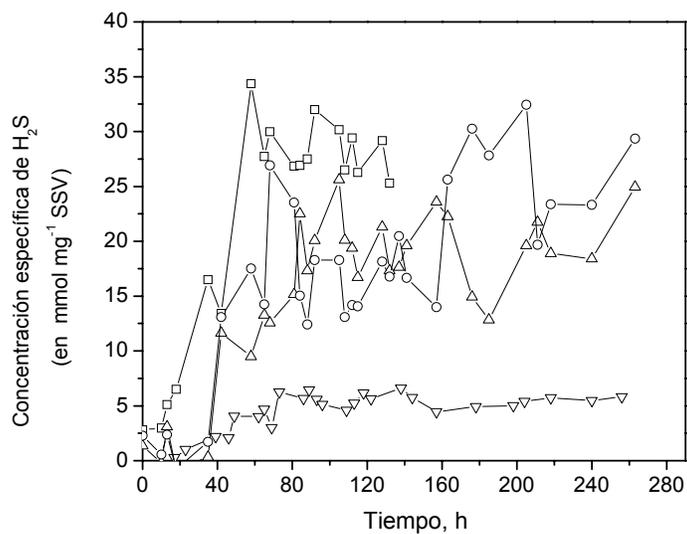
Los resultados obtenidos para JH se muestran en la Figura 25, se aprecia que el control positivo presenta el mismo comportamiento mencionada en la sección 5.4.2. El comportamiento de 50-50 muestra la más baja producción de sulfuro, al parecer las bacterias solo utilizaron las fuentes de carbono del medio Postgate ya que produjeron 7 mmol H<sub>2</sub>S mg<sup>-1</sup> SSV de los 21 mmol H<sub>2</sub>S mg<sup>-1</sup> SSV totales que se producen con el medio Postgate completo. Mientras que los experimentos de 100% y 200 % BIOSL presentaron el mismo comportamiento, con una producción de 15 mmol H<sub>2</sub>S mg<sup>-1</sup> SSV. Se apreciaron fluctuaciones fuertes que se asocian a procesos de adsorción del sulfuro al BIOSL y la posible precipitación de metales (sulfuros metálicos) que componen el BIOSL.

M2 presentó el comportamiento esperado en el control positivo, tal como se observa en la Figura 26. El experimento que presentó menor producción de sulfuro fue el correspondiente al 50-50%, con una producción que cayó de 28 a 7 mmol H<sub>2</sub>S mg<sup>-1</sup> SSV. En el Anexo 1 (Tabla 1) se localizan las desviaciones estándar de las Figuras 25 y 26.

Se puede diferenciar claramente que M2 logró igualar la producción de sulfuro a lo estimado en el control positivo (30 mmol H<sub>2</sub>S mg<sup>-1</sup> SSV) a las 200 h con 200% de BIOSL. Dentro del intervalo de tiempo de 0 a 160 h, el comportamiento de 100 y 200% de BIOSL es similar. El comportamiento muestra nuevamente fluctuaciones entre una y otra lectura, pero a partir de dicho tiempo la producción de sulfuro con 200% de BIOSL aumenta hasta el final del experimento.



**Figura 25.** Actividad sulfatorreductora variando la concentración de BIOSL para el inoculo JH, (□) medio Postgate (80 mg SSV L<sup>-1</sup>), (▽) 50% medio Postgate-50%BIOSL (180 mg SSV L<sup>-1</sup>), (Δ) 100% BIOS (40 mg SSV L<sup>-1</sup>), (○) 200% BIOSL (160 mg SSV L<sup>-1</sup>).



**Figura 26.** Actividad sulfatorreductora variando la concentración de BIOSL para el inoculo M2; (□) medio Postgate (40 mg SSV L<sup>-1</sup>), (▽) 50% medio Postgate-50%BIOSL (40 mg SSV L<sup>-1</sup>), (Δ) 100% BIOSL (160 mg SSV L<sup>-1</sup>), (○) 200% BIOSL (60 mg SSV L<sup>-1</sup>).

---

---

Además de estas particularidades, se puede considerar que el consorcio M2 presenta una mayor facilidad para la asimilación de BIOSL y la fase lag es más corta. A pesar de que los sistemas con el inóculo JH tampoco presentó una fase lag larga, su fase exponencial se comporta escalonadamente. Lo anterior podría ser atribuido a que las estructuras orgánicas presentes en el BIOSL son más complejas para este consorcio, y esto requiere de más tiempo para que los microorganismos puedan desdoblar este material hacia sustratos que sean asimilables por las bacterias con ARS.

Los resultados anteriores, hacen suponer que existe una gran variabilidad de microorganismos que conforman los consorcios (JH y M2), además de aquellos relacionados con la ARS. Hasta el momento podemos decir, que el consorcio JH presenta una mayor ARS en un medio de cultivo específico para bacterias sulfatorreductoras, pero en presencia de un sustrato de lenta degradación la producción de sulfuro es menor. Mientras que M2 presentó la misma producción de sulfuro con el medio específico y el BIOSL.

#### **5.4.4. Consumo de oxígeno de JH y M2 en presencia de medio Postgate**

La hidrólisis es la primera fase de la degradación de la materia orgánica compleja en la que participan las bacterias hidrolíticas o acidogénicas. Se produce en condiciones aerobias y anaerobias, y consiste en el rompimiento de las membranas celulares y la descomposición de las macromoléculas orgánicas (polisacáridos, lípidos, proteínas) en moléculas más simples (ácidos orgánicos, alcoholes, cetonas, hidrógeno y dióxido de carbono) que pueden ser fácilmente utilizadas por los microorganismos (Bohinski, 1991).

En la acetogénesis (segunda fase) actúan las bacterias acetogénicas, transformando las nuevas moléculas para producir ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono. El uso del oxígeno disuelto en agua, por parte de estas bacterias, provoca que este elemento se agote, transformando las condiciones aerobias iniciales en anaerobias (Bohinski, 1991).

Ya que el BIOSL es un sustrato complejo, fue necesario corroborar la presencia de microorganismos con dichas características hidrolíticas, para lo cual se

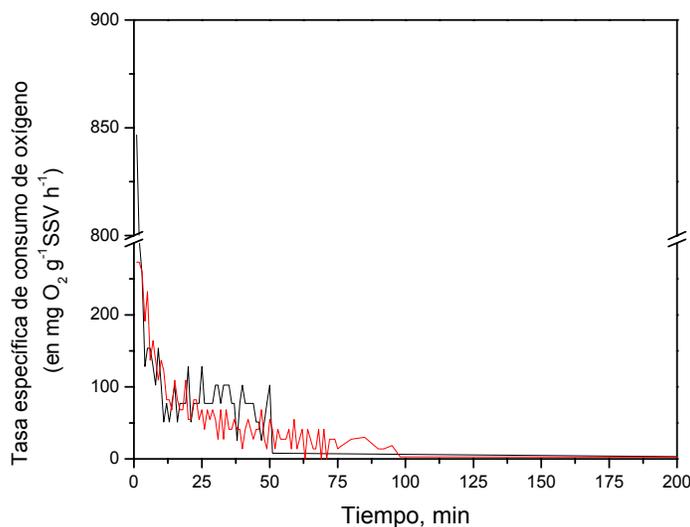
---

---

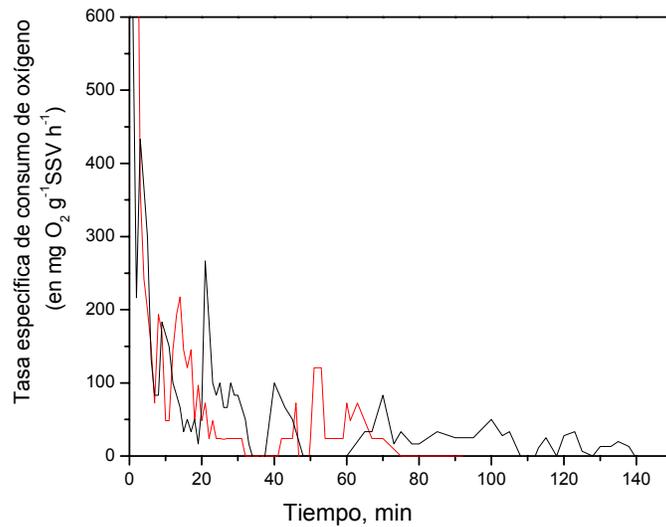
decidió realizar un experimento respirométrico en el cual, se evaluó la tasa de consumo de oxígeno disuelto a través del tiempo, en ensayos con y sin columna de aire en el matraz donde se realizó dicho experimento.

En la Figura 27 se observan los resultados obtenidos para JH, donde se aprecia que existe un mayor consumo de oxígeno en el sistema con columna de aire que en el sistema sin columna. Este resultado, sugiere que se lleva a cabo un proceso de difusión de oxígeno en ambos sistemas después de los 10 minutos. Sin embargo, la tasa de consumo relacionada con el proceso difusivo se mantuvo estable en un intervalo más grande para el sistema con columna de aire. Transcurridos 80 minutos ambos experimentos presentaron una tasa de consumo de oxígeno mínima e igual a  $2 \text{ mg O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ SSV h}^{-1}$ .

Se puede apreciar que la tasa de consumo de oxígeno es mucho mayor en M2 que en JH, al minuto 80 sólo se tenían  $2 \text{ mg O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ SSV h}^{-1}$  y en menos de 140 min ya no se detectaba oxígeno en el medio, mientras que en JH ocurrió hasta el minuto 450 (Figura 28). Las desviaciones estándares para cada Figura se localizan en el Anexo 1.



**Figura 27.** Consumo de oxígeno para el consorcio JH (---) sin columna de aire, (---) con columna de aire



**Figura 28.** Consumo de oxígeno para el consorcio M2 (---) sin columna de aire, (---) con columna de aire

Estas diferencias permiten establecer que existen bacterias hidrolíticas o acidogénicas que consumen el oxígeno hasta niveles donde se sustituye este aceptor de electrones por otros compuestos como N, Fe, Mn,  $\text{SO}_4^{2-}$ . Lo anterior genera condiciones de anaerobiosis óptimas para la activación de las bacterias con ARS en los consorcios JH y M2. También se puede concluir que existe mayor actividad de bacterias hidrolíticas, o acidogénicas, en M2 que en JH. Lo anterior debido al menor tiempo en el cual se consumió el oxígeno presente que constata lo mencionado en la sección 5.4.3. En dicha sección se observó una mayor producción de sulfuro en M2, utilizando como donador de electrones al BIOSL, quien al contar con una mayor actividad de bacterias hidrolíticas, o acidogénicas, facilita el desdoblamiento de moléculas orgánicas para la posterior utilización por bacterias con ARS, reflejándose lo anterior en una mayor velocidad de producción de sulfuro.

---

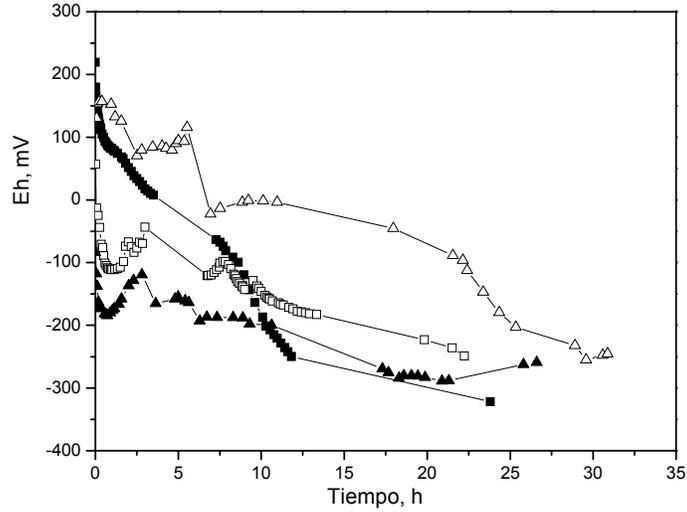
---

#### **5.4.5. Variación del Eh utilizando como donador de electrones el medio Postgate y el biosólido liofilizado**

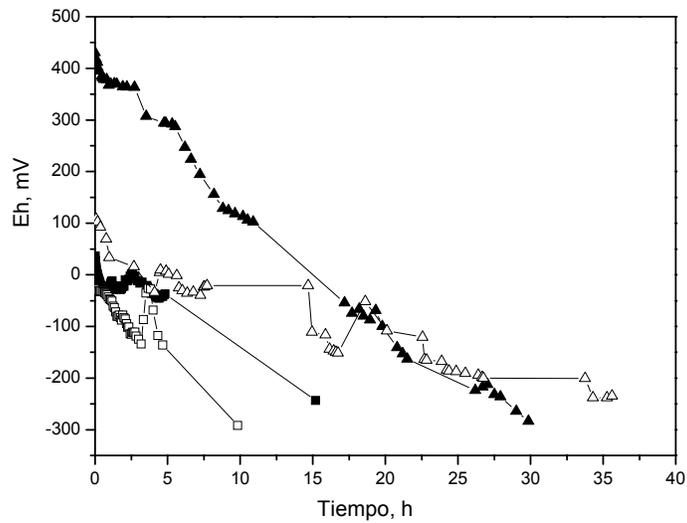
Una vez evidenciada que se presentan condiciones óptimas para que se lleve a cabo la actividad sulfatorreductora, se estableció como parámetro de ARS la evolución del Eh.

La Figura 29 muestra las variaciones del Eh para el inóculo JH y en la Figura 30 se muestran las variaciones del Eh para el inóculo M2. En estas figuras, se aprecia que existen fluctuaciones en el decaimiento del Eh, cabe resaltar que la ARS ocurre aproximadamente a -240 mV. Así bien, estas fluctuaciones posiblemente se deban, en primera instancia, al proceso de difusión del oxígeno presente en la columna de aire al seno de la solución, y en segundo lugar a la forma en que posiblemente se esté degradando la fuente de carbono, lo que podría activar a microorganismos específicos que promueven la disminución del Eh. La secuencia de degradación de la fuente de carbono está relacionada con que en la comunidad reductora de sulfatos (RS) existen distintos géneros de bacterias que se activan preferentemente en presencia de algún sustrato determinado. Por ejemplo, los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus* y *Desulfobacter* prefieren lactato, mientras que los géneros *Desulfococcus* y *Desulfobacterium* optan por el propionato (Celis, 2004).

Utilizando como donador de electrones al BIOSL, la disminución del Eh es más lenta, lo cual puede estar relacionado con la complejidad del sustrato que es independiente de que exista o no columna de aire en el sistema.



**Figura 29.** Decaimiento del potencial de óxido reducción en medios Postgate y BIOSL en medio basal A, para el consorcio JH; (□) con columna de aire en medio Postgate (180 mg SSV L<sup>-1</sup>), (Δ) con columna de aire con BIOSL (190 mg SSV L<sup>-1</sup>), (■) sin columna de aire en medio Postgate (150 mg SSV L<sup>-1</sup>), (▲) sin columna de aire con BIOSL (180 mg SSV L<sup>-1</sup>).



**Figura 30.** Decaimiento del potencial de óxido reducción en medios Postgate y BIOSL en medio basal A, para el consorcio M2; (□) con columna de aire en medio Postgate (190 mg SSV L<sup>-1</sup>), (Δ) con columna de aire con BIOSL (145 mg SSV L<sup>-1</sup>), (■) sin columna de aire en medio Postgate (160 mg SSV L<sup>-1</sup>), (▲) sin columna de aire con BIOSL (175 mg SSV L<sup>-1</sup>).

---

---

#### 5.4.6. Cinética de adsorción de sulfuro sobre el biosólido liofilizado

Con los resultados anteriores se tenía corroborado que los consorcios bacterianos JH y M2 presentaban ARS, así como bacterias hidrolíticas o acidogénicas. Además, se comprobó que alcanzaban potenciales de óxido-reducción de  $-240$  mV/NHE, y que pueden utilizar BIOSL como fuente de carbono.

Por lo tanto, se prosiguió a evaluar el comportamiento del sulfuro en presencia del BIOSL, ya que en la sección 5.4.3, se observó que no se alcanzaba la misma producción de sulfuro con medio postgate que con BIOSL, y de acuerdo a Bagreev *et al.* (2001), esto se puede deber a la fisisorción del sulfuro sobre el BIOSL. Lo anterior, probablemente relacionado a su gran volumen de poro, a su composición química (la cual puede contener grupos funcionales como carboxilos, quinonas, fenólicos entre otros) que puede acrecentar el fenómeno de adsorción.

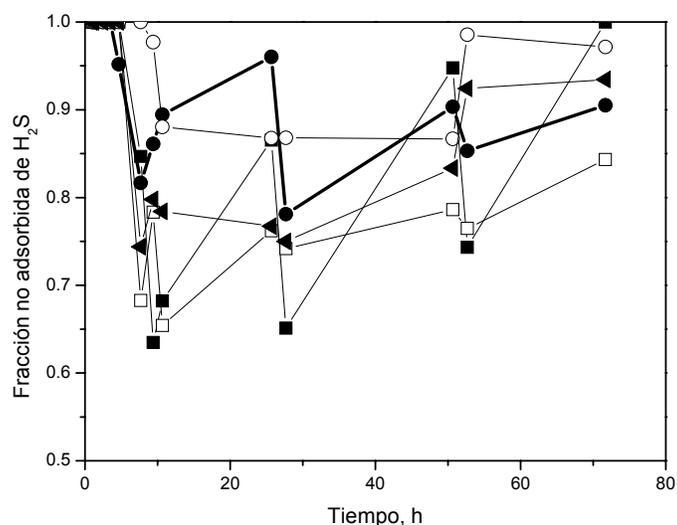
Así pues, en la Figura 31 se aprecia el comportamiento del sulfuro a diferentes concentraciones (3.6, 9.5, 14.8, 18.1 y 21 mM  $H_2S$ ) en presencia de una concentración fija de biosólido liofilizado (350.1 mg DQO  $L^{-1}$ ). El resto de las concentraciones evaluadas se muestran en el Anexo I (Figura 1).

En general, se observa que a menores concentraciones de sulfuro (3.6 y 4.8 mM  $H_2S$ ) se adsorbe una mayor cantidad del mismo, que va en orden del 15.8 al 30.1 % del total de sulfuro introducido, y el menor porcentaje de adsorción se observó en los 9.5 y 18.1 mM  $H_2S$ .

Se estimó que este fenómeno de fisisorción varía con el tiempo. Las oscilaciones observadas sobre el porcentaje adsorbido se pueden justificar debido a que en el momento de la toma de muestra, para determinar sulfuro en el seno de la solución, es necesario agitar la botella serológica con la finalidad de tomar una muestra representativa de la solución. Probablemente este comportamiento podría minimizarse si las botellas se mantuvieran en agitación constante, pero recordando que los datos generados en el presente trabajo de tesis, son para el escalamiento de una BRP este fenómeno es difícil

de controlar ya que el único movimiento que puede alterar la zona reactiva de la BRP es el flujo de agua que la atraviese.

En la Tabla 11, se indican los porcentajes de adsorción para las demás concentraciones, apreciándose, en general, el mismo comportamiento mencionado anteriormente.



**Figura 31.** Comportamiento de la adsorción del H<sub>2</sub>S sobre el BIOSL, variando distintas concentraciones de sulfuro; (■) 3.6 mM H<sub>2</sub>S, (●) 9.5 mM H<sub>2</sub>S, (□) 14.8 mM H<sub>2</sub>S, (○) 18.1 mM H<sub>2</sub>S y (▲) 21 mM H<sub>2</sub>S.

Tabla 11. Porcentaje de adsorción del sulfuro a distintas concentraciones

<i>H<sub>2</sub>S [mM]</i>	<i>Porcentaje adsorbido</i>
10.2	11.37
14.8	22.35
17.4	13.73
19.2	15.65
21	13.98
23.6	10.66

Por lo que, para los fines experimentales posteriores, fue necesario considerar el porcentaje de adsorción del sulfuro en el BIOSL, tomando en cuenta que la

---

---

concentración máxima de sulfuro producido por ambos consorcios bacterianos (JH y M2) es de 10 mM H<sub>2</sub>S. Por lo cual se emplearan los resultados de adsorción de sulfuro en el BIOSL a la concentración de 9.5 mM de H<sub>2</sub>S para corregir la adsorción de sulfuro en el BIOSL en los experimentos posteriores (ver Figura 31).

#### **5.4.7. Evaluación del comportamiento del biosólido liofilizado en medio líquido**

La materia orgánica del BIOSL está compuesta por ácidos húmicos y fúlvicos principalmente, los cuales proporcionan características particulares como pH, acidez, solubilidad, textura entre otros. Como se puede observar en la Figura 32, este material también proporciona un color particular, el cual probablemente pudo causar alguna interferencia al momento de cuantificar el sulfuro en el seno de la solución.



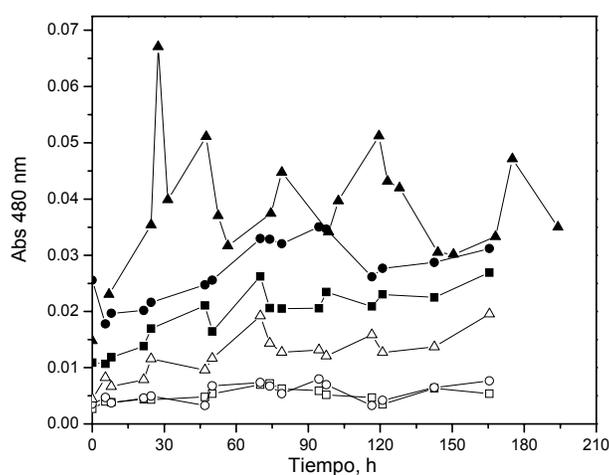
**Figura 32.** Apariencia del biosólido liofilizado en el medio líquido.

Por lo tanto, es necesario estimar las interferencias del BIOSL, variando la concentración del mismo en presencia de los consorcios JH y M2, pero en ausencia de sulfato (medio basal A1), con la finalidad de asegurar que lo cuantificado a 480 nm es la influencia de la materia orgánica.

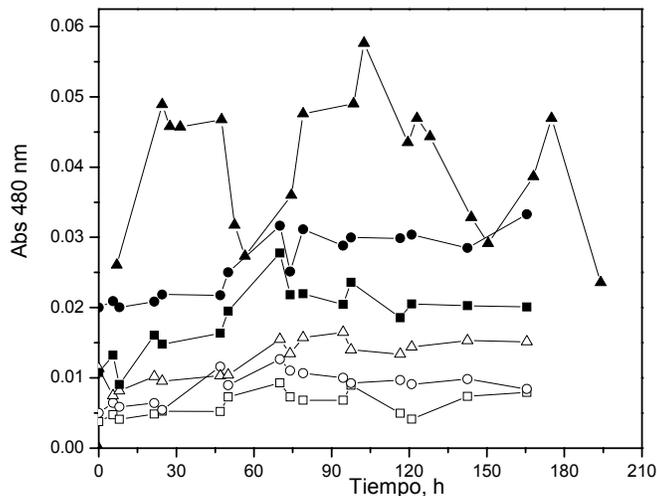
En la Figura 33, se muestra el comportamiento que presentó el BIOSL con el consorcio JH, donde se observó que para concentraciones  $\leq$  a 182 mg DQO L<sup>-1</sup> no existe una interferencia significativa del BIOSL durante la cuantificación de sulfuro. Lo anterior, si lo comparamos con la función obtenida en la calibración

(sección 5.4.1.), se observó que no es representativo el valor de absorbancia registrada a dichas concentraciones de BIOSL. Sin embargo, para concentraciones por arriba de 90 mg DQO L<sup>-1</sup> este material comienza a tener una mayor interferencia. El mismo comportamiento se observó con el consorcio M2 (ver Figura 34), por lo que se concluye que el comportamiento del BIOSL es independiente del inóculo empleado para el experimento.

Por lo anterior y a un pH de 7 se puede considerar que la interferencia principal es la solubilización de los ácidos fúlvicos presentes en el BIOSL, los cuales representan entre el 11.8 y el 18.9 % de carbono (fracción soluble) (Stevenson, 1982). Considerando que esta fracción aporta el 53.9 % de carbono, el 46.1 % restante (fracción insoluble) constituye a la materia orgánica insoluble, así como a material inorgánico relacionado con el contenido de cenizas (Stevenson, 1982; Gaffney *et al.*, 1996). Debido a la capacidad del BIOSL para adsorber sulfuro, y ya que los ácidos fúlvicos que lo conforman causan interferencia en la cuantificación en solución de sulfuro, fue necesario realizar ajustes de las respuestas de sulfuro biogénico aparentemente generado y estimar la producción de sulfuro biogénico producido “realmente” (Anexo 2). El objetivo de estos ajustes fue estimar la cantidad de sulfuro biogénico disponible para la precipitación de sulfuros metálicos.



**Figura 33.** Influencia de la materia orgánica soluble en JH: (□) 22.7 mg DQO L<sup>-1</sup>, (○) 49.7mg DQO L<sup>-1</sup>, (Δ) 91.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (■) 182.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (●) 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup> y (▲) 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup>.



**Figura 34.** Influencia de la materia orgánica soluble en M2: (□) 22.7 mg DQO L<sup>-1</sup>, (○) 49.7 mg DQO L<sup>-1</sup>, (△) 91.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (■) 182.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (●) 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup> y (▲) 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup>.

## 5.5. Determinación de parámetros cinéticos en un sistema en lote

### 5.5.1. Cinéticas con sulfuro y biosólido liofilizado

Para estimar las constantes cinéticas de velocidad de producción de sulfuro ( $q_{max}$ ) y de afinidad por el sustrato ( $K_s$ ), fue necesario realizar cinéticas independientes con distintas concentraciones de BIOSL: 22.7, 49.7, 91.0, 182.0, 350.1 y 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup>, las cuales fueron empleadas en la sección anterior y descritas previamente (cf. Sección 4.7).

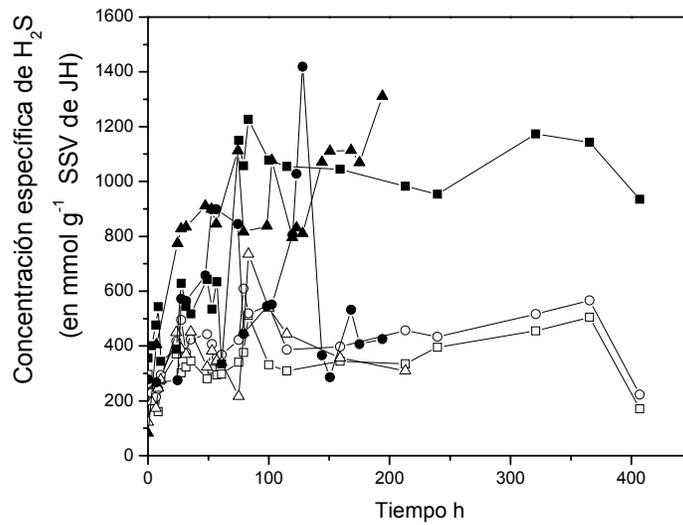
Para cada cinética se generó una gráfica de la concentración específica de sulfuro contra tiempo, como se muestra en las Figuras 35 (para JH) y 36 (para M2). La producción aparente de sulfuro biogénico con respecto al tiempo obtenido en estos sistemas en lote, para los consorcios JH y M2 hasta un tiempo de 35 y 31.5 h respectivamente, se muestran el Anexo 2. En el caso del consorcio JH, y en las concentraciones de BIOSL de 350.1 y 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup>, se consideró hasta un tiempo de 74.5 h. Considerando los interferencias

---

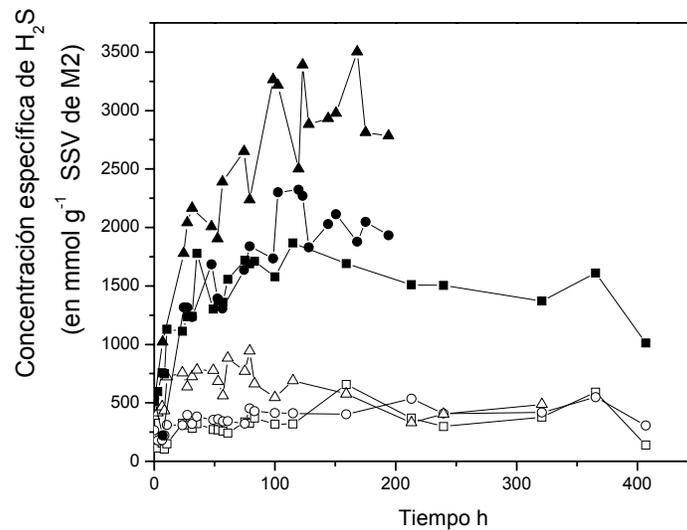
---

relacionadas a la presencia de la materia orgánica soluble del BIOSL y la adsorción del sulfuro en éste, se determinaron las funciones de ajuste que permitieron realizar las correcciones del valor de concentración específica aparente de sulfuro biogénico para estimar el valor real por corrección de las interferencias anteriormente identificadas (cf. 5.4.6 y 5.4.7). Las funciones de ajuste se presentan en el Anexo 3.

En primer lugar se consideró la adsorbancia del sulfuro en el BIOSL, la cual fue estimada en 9.5 mM H<sub>2</sub>S y esta contribución se adiciono al valor de absorbancia para las concentraciones 22.7, 49.7, 91.0 y 182.0 mg DQO L<sup>-1</sup>. En segundo término se sustrajo el valor de absorbancia correspondiente a la presencia de BIOSL pero solamente para las concentraciones superiores a 91 DQOL<sup>-1</sup> (ver Anexo 3). Una vez obtenido ambos ajustes se prosiguió a hacer la suma algebraica de las absorbancias para establecer la absorbancia real y, por consiguiente, la concentración real de sulfuro producido por ambos consorcios bacterianos, los cuales se representan en las Figuras 35 (para JH) y 36 (para M2). En las Figuras A.3.1. y hasta A.3.12. se muestran las concentraciones específicas de H<sub>2</sub>S para cada concentración de DQO e inóculo empleado con los ajustes anteriormente mencionados mostrados en la Tabla A.3.1.



**Figura 35.** Producción de sulfuro biogénico "real" obtenido con el consorcio JH a distintas concentraciones de BIOSL: (□) 22.7 mg DQO L<sup>-1</sup>, (○) 49.7 mg DQO L<sup>-1</sup>, (Δ) 91.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (■) 182.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (●) 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup> y (▲) 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup>.



**Figura 36.** Producción de sulfuro biogénico "real" obtenido con el consorcio M2 a distintas concentraciones de BIOSL: (□) 22.7 mg DQO L<sup>-1</sup>, (○) 49.7 mg DQO L<sup>-1</sup>, (Δ) 91.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (■) 182.0 mg DQO L<sup>-1</sup>, (●) 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup> y (▲) 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup>.

---

---

Las representaciones gráficas anteriormente mencionadas (Figuras A.3.1 hasta A.3.12) permitieron definir la velocidad inicial específica que corresponde al 25% del consumo del sustrato, en donde se considera el sistema no presenta limitación por sustrato. Estas velocidades ( $q$ ) fueron obtenidas con una regresión lineal y los valores se reportan en la Tabla A.3.2 y son las que se emplearon para el cálculo de la velocidad máxima específica ( $q_{\max}$ ) y la constante de afinidad al sustrato ( $K_s$ ).

Para JH se observa que existe, en la mayoría de los sistemas analizados, una correlación proporcional entre la concentración de BIOSL y la producción de sulfuro para una concentración de biomasa determinada, pero a 182.0 mg DQO L<sup>-1</sup> se obtiene mayor producción que a 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup>. Lo anterior puede deberse a que independientemente de la normalización de la velocidad de producción de sulfuro en el sistema, la concentración inicial de inóculo influye la velocidad inicial calculada. En el caso de los microcosmos inoculados con M2, éstos presentan, en todo los casos, una correlación proporcional entre la concentración de BIOSL y la producción real de sulfuro.

Para obtener el valor de la velocidad máxima específica de producción de sulfuro ( $q_{\max}$ ), las velocidades específicas ( $q$ ) obtenidas; y corregidas por las interferencias de adsorción de sulfuro sobre BIOSL y absorción de longitud de onda del BIOSL a 480 nm, se ajustaron mediante el modelo matemático propuesto por Monod (ecuación 28). Este ajuste permitió, además, generar la constante de afinidad al sustrato ( $K_s$ ).

$$q = \frac{q_{\max} \cdot S}{K_s + S} \quad (28)$$

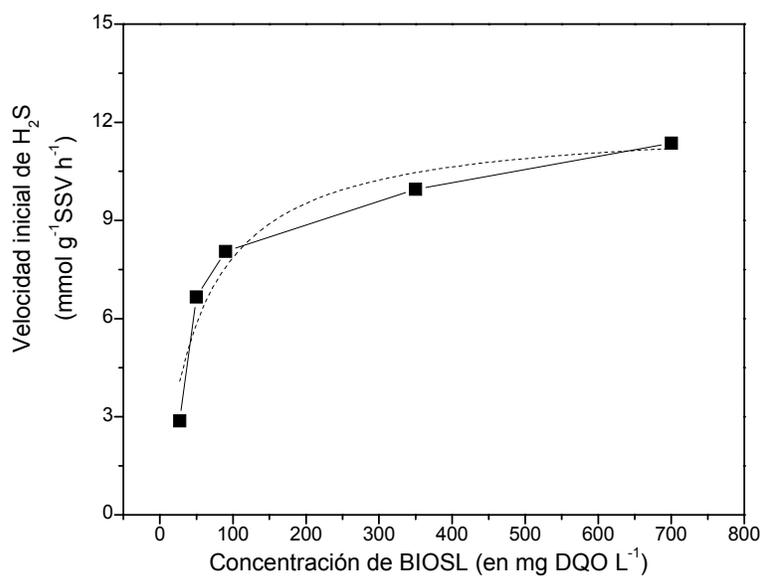
Donde:

$q$  = Actividad sulfatorreductora (mmol H<sub>2</sub>S mg<sup>-1</sup>SSV h<sup>-1</sup>)

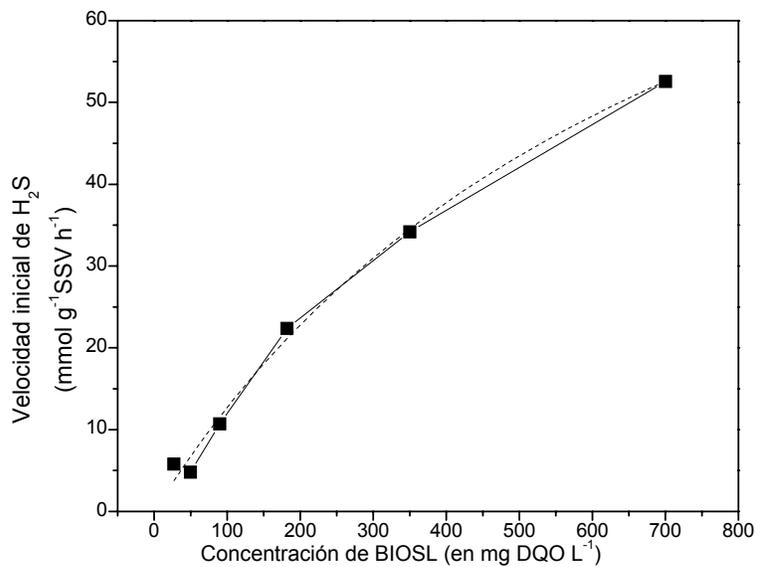
$q_{\max}$  = Actividad sulfatorreductora máxima (mmol H<sub>2</sub>S mg<sup>-1</sup> SSV h<sup>-1</sup>)

$S$  = Concentración de sustrato (mg DQO L<sup>-1</sup>)

$K_s$  = Constante de afinidad por sustrato (mg DQO L<sup>-1</sup>).



**Figura 37.** Velocidad máxima específica de producción real de sulfuro biogénico para el consorcio JH a diferentes concentraciones de BIOSL (■). La línea punteada representa el ajuste con el Modelo tipo Monod ( $R^2=0.93$ ).



**Figura 38.** Velocidad máxima específica de producción real de sulfuro biogénico para el consorcio M2 a diferentes concentraciones de BIOSL (■). La línea punteada representa el ajuste con el Modelo tipo Monod ( $R^2=0.99$ ).

---

---

Para JH se obtuvo una correlación de  $R^2$  igual a 0.938 (Figura 37). Con dicho ajuste se encontró para  $q_{\max}$  un valor de  $\sim 12 \text{ mmol H}_2\text{S g}^{-1}\text{SSV h}^{-1}$  y para  $K_s$  de  $53 \pm 15 \text{ mg DQO L}^{-1}$ .

Mientras que para M2 se obtuvo un ajuste de 0.994 (Figura 38), una  $q_{\max}$  de  $\sim 110.01 \text{ mmol H}_2\text{S g}^{-1}\text{SSV h}^{-1}$  y para  $K_s$   $766.42 \pm 155 \text{ mg DQO L}^{-1}$ .

Como se puede observar, JH presenta una menor  $K_s$ , lo cual indica que presenta mayor afinidad a las condiciones iniciales del sustrato. Lo anterior era de esperarse, ya que se tienen las condiciones ambientales adecuadas para que este consorcio bacteriano, con mayor cantidad de bacterias con ARS, se activara. Caso contrario se observa con el consorcio M2, donde la  $K_s$  es 14.4 veces mayor indicando una menor afinidad a las condiciones iniciales del sustrato. Lo anterior debido, probablemente, a que existe mayor variabilidad metabólica microbiana pero no que presenten precisamente ARS. Comparado estos valores de  $K_s$  con otros trabajos donde utilizaron como fuente de carbono etanol y en donde se reportan valores de  $250 \text{ mg DQO L}^{-1}$  (González, 2007), se observa que utilizando el BIOSL la afinidad es muy baja debido a la complejidad del material orgánico.

Sin embargo, la  $q_{\max}$  es mayor para M2 lo que indica nuevamente que esta respuesta podría ser atribuida a una mayor diversidad metabólica, la cual presenta una mayor capacidad de degradación del BIOSL (lípidos, proteínas) a compuestos más sencillos (alcoholes, ácidos orgánicos, etc.), y que en el caso de JH este consorcio se ve más afectado, debido a que no contiene la diversidad metabólica microbiana antes mencionada. La hipótesis anterior solamente podrá ser demostrada una vez que se realice el análisis microbiológico sobre ambos consorcios lo cual queda fuera de los alcances de esta tesis.

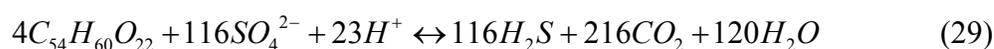
De acuerdo a lo reportado por Stevenson (1982) se puede considerar la siguiente composición básica para el BIOSL:  $C_{54}H_{60}O_{22}$ . Esta composición del BIOSL se utilizó para determinar la relación molar BIOSL/ $\text{SO}_4^{2-}$ . La fórmula química del compuesto orgánico se tomó con base a la coloración

---

---

característica que presentan los ácidos fúlvicos hidrolizados a un pH cercano a 7 (Stevenson, 1982). Además, de acuerdo al valor estimado de la  $K_s$  se considera que el BIOSL es un sustrato de lenta degradación.

Considerando una oxidación completa del BIOSL (ecuación 29), se obtiene una relación de 0.25, sin embargo, considerando solamente una oxidación incompleta esta relación es de 0.090 (ecuación 30). La relación experimental encontrada para dicho experimento fue de 0.0976, indicándonos que en ambos consorcios se cuenta con bacterias con ARS que oxidan la materia orgánica incompletamente. Lo anterior justifica porque no se alcanza la producción teórica de sulfuro esperada cuando se considera la oxidación completa.



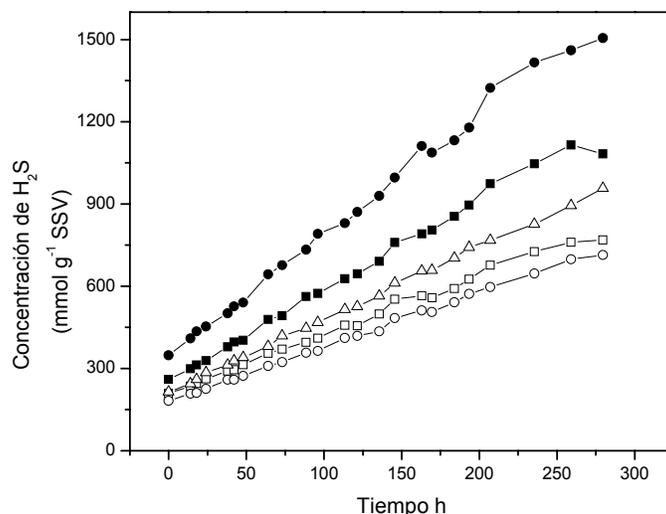
### **5.5.2. Evaluación del H<sub>2</sub>S como agente inhibidor en los consorcios JH y M2 en presencia de biosólido liofilizado**

Las concentraciones de sulfuro empleadas para evaluar la inhibición de este compuesto en presencia de BIOSL fueron las siguientes: 68, 170, 272, 340, 510 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup>. En la Figura 39 se muestran los resultados de la producción de sulfuro para JH, y en la Figura 40 los resultados para M2. En éstas se aprecia una mayor generación de sulfuro en el consorcio JH con respecto a M2.

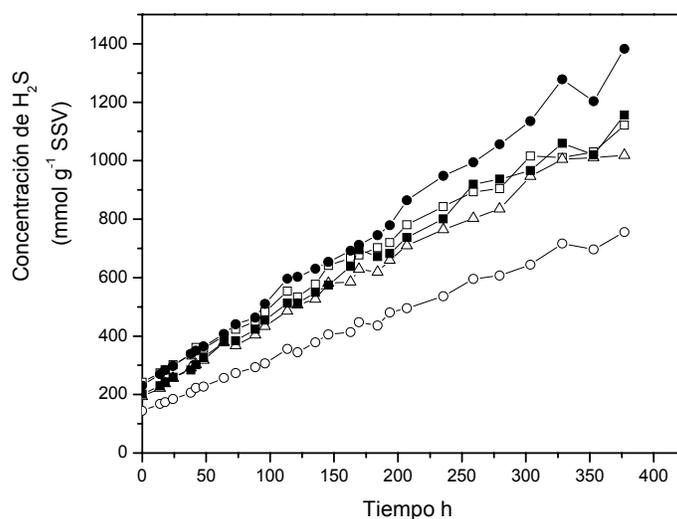
A partir de los perfiles de producción de sulfuro se calculó la velocidad específica de producción de sulfuro, a partir de una regresión lineal sobre los valores obtenidos en la fase exponencial de cada cinética evaluada. Para cada uno de los experimentos se determinó, además, la concentración de sulfuro no dissociado (H<sub>2</sub>S) aplicando la ecuación de Van't Hoff (ecuación 31).

En donde pK<sub>a1</sub> es igual a -log K<sub>a1</sub> y corresponde a un valor de 6.97 para la primera constante de ionización (K<sub>a1</sub>) del H<sub>2</sub>S (González, 2007) siendo, en dicha ecuación, ST la concentración de sulfuro total.

$$H_2S = \frac{ST}{1 + 10^{(pH - pka_1)}} \quad (31)$$



**Figura 39.** Perfiles de concentración de sulfuro de JH con respecto al tiempo a diferentes concentraciones de sulfuro como agente inhibidor: 30.8 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (□ ; 175 mg SSV L<sup>-1</sup>); 77.2 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (○ ; 225 mg SSV L<sup>-1</sup>); 123.5 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (Δ ; 200 mg SSV L<sup>-1</sup>); 154.4 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (■ ; 175 mg SSV L<sup>-1</sup>) y 231.7 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (● ; 150 mg SSV L<sup>-1</sup>).



**Figura 40.** Perfiles de concentración de sulfuro de JH con respecto al tiempo a diferentes concentraciones de sulfuro como agente inhibidor: 30.8 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (□ ; 150 mg SSV L<sup>-1</sup>); 77.2 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (○ ; 275 mg SSV L<sup>-1</sup>); 123.5 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (Δ ; 225 mg SSV L<sup>-1</sup>); 154.4 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (■ ; 225 mg SSV L<sup>-1</sup>) y 231.7 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> (● ; 170 mg SSV L<sup>-1</sup>).

---

---

El pH, considerado en el cálculo, fue el tomado al momento de inocular cada experimento e igual a 7. La determinación del sulfuro no disociado es considerada como la más inhibitoria para bacterias con ARS (González, 2007). En la Tabla 12, se muestran los valores de sulfuro total inicial, sulfuro no disociado y las velocidades específicas de producción de sulfuro para cada uno de los consorcios. Se observa que para ambos consorcios las velocidades específicas de producción de sulfuro se mantiene aproximadamente constantes, siendo para JH igual a  $2.91 \pm 0.98 \text{ mmol H}_2\text{S g}^{-1} \text{ SSV h}^{-1}$  y para M2 igual a  $2.43 \pm 0.47 \text{ mmol H}_2\text{S g}^{-1} \text{ SSV h}^{-1}$ .

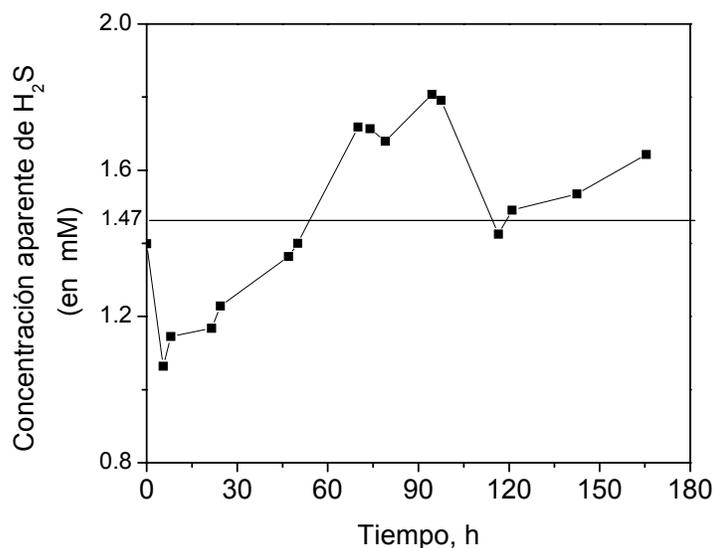
Estos resultados parecen sugerir que no existe un efecto inhibitorio del sulfuro (total o no disociado) sobre los consorcios microbianos empleados en este trabajo, cuando se emplea como sustrato el BIOSL y que las velocidades específicas aparentes de producción son independientes, tanto de tipo de comunidades empleadas, así como de la concentración inicial de sulfuro introducido al sistema. De hecho, este resultado difiere de lo que se esperaba observar sobre la respuesta de las comunidades microbianas en presencia del agente inhibitorio introducido al sistema, por lo que resulta imposible aplicar el modelo de inhibición no competitivo inicialmente propuesto (ecuación 18, cf. Sección 3.7) descrito para establecer la constante de inhibición del sulfuro.

De hecho, el comportamiento observado en las velocidades específicas de producción de sulfuro indica que no existen diferencias significativas con respecto al consorcio utilizado, sugiriendo además que la presencia de BIOSL mantiene la velocidad específica de producción constante. Además, se observa un incremento gradual sobre las velocidades específicas en función de la concentración inicial de sulfuro introducida en el sistema, lo cual probablemente esté relacionado con la constante de partición del sulfuro entre la solución y el BIOSL y que establece una concentración en equilibrio de sulfuro en solución. Inclusive el efecto de adsorción sobre el BIOSL se ve reflejado desde el tiempo inicial, en donde se determinó que independientemente de las concentraciones iniciales de inhibidor empleadas; y del consorcio microbiano utilizado, se alcanzo siempre una concentración inicial "aparente" del sulfuro remanente en solución que parecería

---

---

corresponder a la concentración de equilibrio, entre la fase fluida y el BIOSL, igual a  $1.45 \pm 0.2 \text{ mg L}^{-1}$ . Sin embargo, de acuerdo a los experimentos presentados en la sección 4.6.3.; relativos a la absorción de la materia orgánica soluble a 480 nm, y a los resultados de los mismos (cf. Sección 5.4.7.), se observa que el valor aparente de sulfuro en el sistema atribuido a la absorción de  $350 \text{ mg L}^{-1}$  de BIOSL en el sistema corresponde a una lectura de  $1.47 \pm 0.24 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 41). Este resultado permite concluir que la lectura asignada inicialmente a una concentración remanente de sulfuro en el sistema, en equilibrio con el BIOSL, corresponde más bien a la respuesta de la materia orgánica soluble, y que todo el sulfuro incorporado al inicio de los experimentos fue completamente adsorbido por el BIOSL. Por lo tanto, se concluye además que, no es posible estimar la constante de inhibición a sulfuro con el protocolo experimental realizado ya que no existió una concentración soluble inicial de sulfuro a la cual los consorcios microbianos hayan estado expuestos, sugiriendo evaluar la toxicidad de este compuesto sin la presencia de BIOSL en un trabajo posterior.



**Figura 41.** Concentración aparente de sulfuro en solución atribuido a la respuesta de una concentración de  $350 \text{ mg BIOSL L}^{-1}$ . Valor promedio  $1.47 \pm 0.24 \text{ mg L}^{-1}$

A pesar de los resultados anteriormente mencionados, si se observan diferencias significativas entre las velocidades específicas calculadas bajo el esquema del protocolo de inhibición y las obtenidas en la sección anterior (cf. 5.5.1), lo que sugiere que la respuesta de la velocidad inicial específica de producción de sulfuro está relacionada exclusivamente con el valor inicial del potencial químico de sulfuro que presenta el BIOSL en cada uno de los protocolos, sugiriendo que un mayor potencial químico de sulfuro en el BIOSL controla la velocidad específica de producción de sulfuro y la mantiene constante e independiente del consorcio microbiano.

Tabla 12. Concentraciones de sulfuro total (ST), sulfuro no disociado (H<sub>2</sub>S) y velocidad de producción de sulfuro.

<i>Sulfuro total (mg ST L<sup>-1</sup>)</i>	<i>Sulfuro no disociado (mg H<sub>2</sub>S L<sup>-1</sup>)</i>	<i>q (mmol H<sub>2</sub>S g<sup>-1</sup> SSV h<sup>-1</sup>) para JH</i>	<i>q (mmol H<sub>2</sub>S g<sup>-1</sup> SSV h<sup>-1</sup>) para M2</i>
68	32.82	2.12	2.50
170	80.06	1.99	1.68
272	131.30	2.65	2.35
340	164.13	3.43	2.66
510	246.20	4.35	2.96
Promedio de las velocidades de producción de H <sub>2</sub> S		2.91 ± 0.98	2.43 ± 0.47

### 5.6. Estabilización de metales pesados por actividad reductora de sulfatos

De acuerdo con los resultados obtenidos en la sección 5.5.1. (Figuras 37 y 38) se concluyó que la máxima velocidad de producción de sulfuro se alcanzó a 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup> de BIOSL para JH y a 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup> para M2. Por consiguiente, se evaluó la estabilización de metales pesados provenientes del residuo M3 empleando los consorcios JH y M2 con ARS y utilizando como donador de electrones el BIOSL (350.1 mg DQO L<sup>-1</sup>), mediante el diseño experimental mostrado en la Tabla 4 (cf. Sección 4.8.).

---

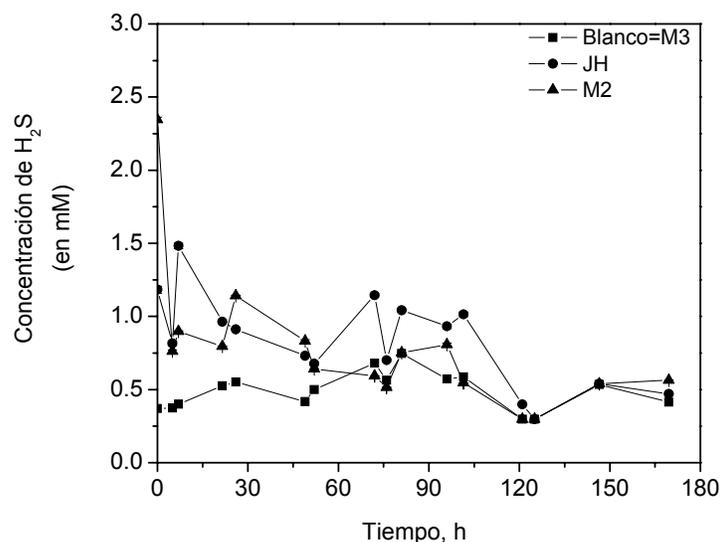
---

En el microcosmos 1 se evaluó el comportamiento de los consorcios (JH y M2) en presencia de M3, con la finalidad de determinar si existía la posibilidad de que la escasa materia orgánica existente en el residuo M3 tuviese un aporte significativo para mantener a los consorcios con ARS. Como se aprecia en la Figura 42 el líquido no presentaba ninguna coloración, lo que de primera instancia indicó que no había ARS ya que usualmente se presenta una turbidez importante como se muestra en la Figura 20.

Al determinar la concentración de sulfuro en el seno del fluido, y usar como control positivo una botella serológica sin ningún consorcio sulfato-reductor, se encontraron los perfiles que se muestran en la Figura 43 para el consorcio JH y M2. Se aprecia que al inicio del experimento se cuantificó sulfuro en el seno de la solución lo cual es normal ya que es inevitable la introducción de sulfuro disuelto al momento de tomar el inóculo e introducirlo en otro sistema experimental, pero a las 120 h la concentración de sulfuro disminuyó y alcanzó el valor del control. Por otro lado, podemos ver que en menos de 30 h la concentración disminuyó por debajo de 1 mM  $H_2S$ , pudiendo decir, que al momento de consumirse el poco sulfuro introducido al sistema experimental, por su precipitación con algún metal que constituye a M3 no existió evidencia de producción de sulfuro. Lo anterior indicó que no hay ARS debido a que M3 no aporta suficiente materia orgánica para que se lleve a cabo la reducción de sulfato.



**Figura 42.** Botellas serológicas apreciándose el microcosmos 1 (MC1), microcosmos 2 (MC2) y microcosmo 3 (MC3).



**Figura 43.** Evaluación de los consorcios sulfatorreductores JH (140 mg SSV L<sup>-1</sup>) y M2 (180 mg SSV L<sup>-1</sup>) en presencia del residuo minero-metalúrgico M3 (MC1).

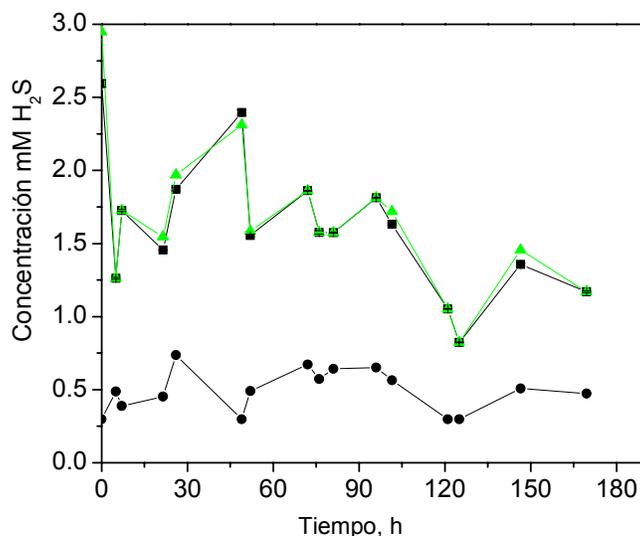
Posteriormente, se evaluó el comportamiento del BIOSL y M3 con la finalidad de apreciar la existencia de ARS en ambos sustratos sólidos (MC2). Apreciándose claramente (Figura 44) que existe alguna sustancia orgánica soluble que puede absorber a 480 nm provocando una interferencia en la cuantificación del sulfuro disuelto. Se evaluó el comportamiento por separado de M3 y BIOSL y se encontró que M3 no causa ninguna interferencia significativa en la cuantificación de sulfuro disuelto, por su parte, el BIOSL presentó el mismo perfil, tanto sólo como en presencia de M3.

Debido a esto, no se puede descartar que exista ARS proveniente en este caso particular del BIOSL. Sin embargo, dado que no existe una tendencia de decaimiento drástica, tampoco se puede asegurar que lo cuantificado corresponda a la producción de sulfuro. Lo anterior, se sustenta en el hecho de que, conforme a la ecuación 9, el sulfuro debería de ser utilizado en la precipitación de metales y teóricamente no se cuantificaría este compuesto en solución. De esta forma, se puede inferir que los 2 mM de H<sub>2</sub>S cuantificados no corresponden a sulfuro en el sistema, sino más bien a la materia orgánica

---

---

soluble proveniente del BIOSL, la cual genera una interferencia positiva en el sistema.



**Figura 44.** Evaluación de la respuesta de absorbancia para sistemas conteniendo: M3+BIOSL (-■-); solamente M3 (-●-) y solamente BIOSL (-▲-).

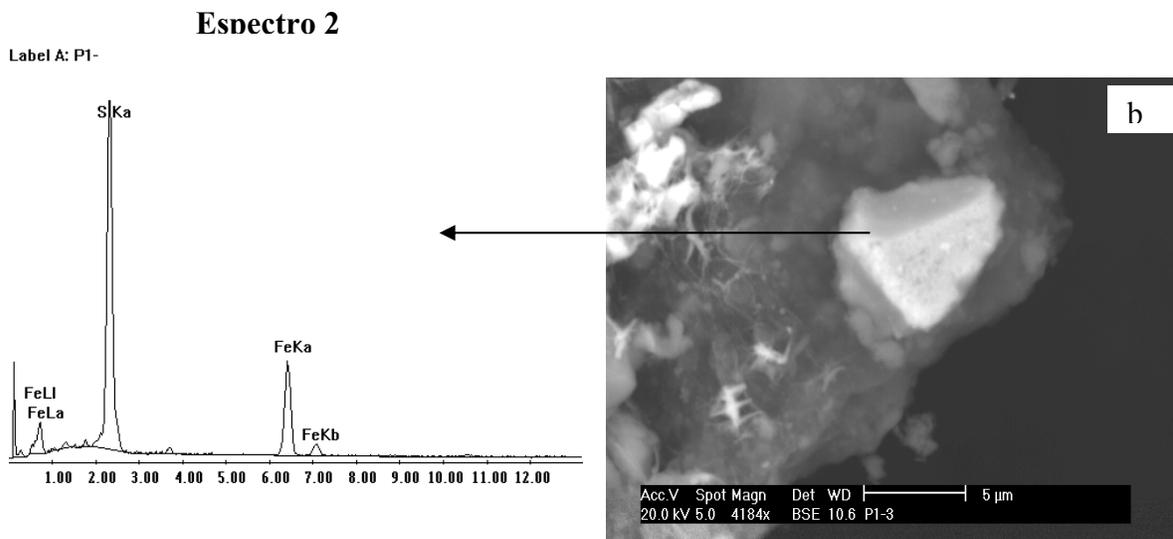
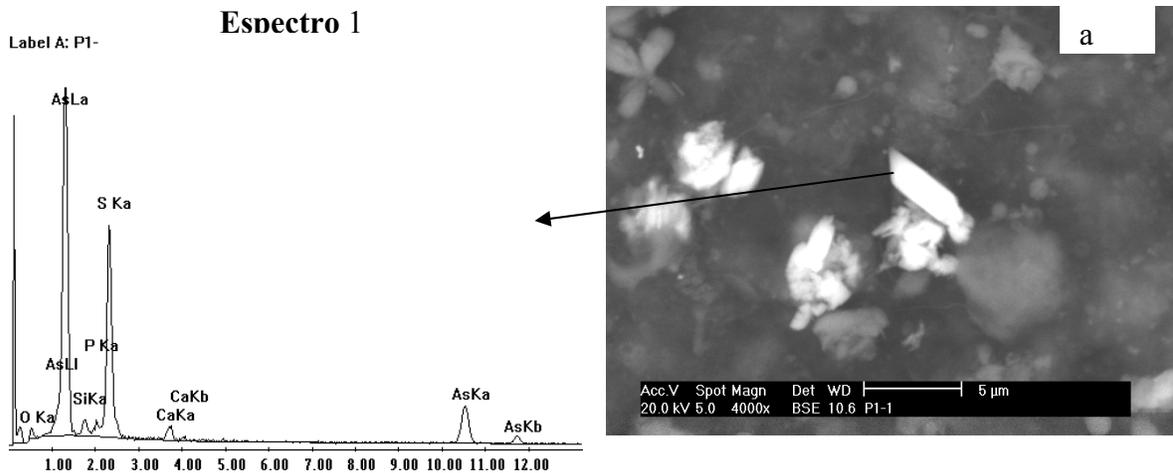
De acuerdo a las características climatológicas del sitio de estudio, éste es clasificado como un clima de tipo semiárido templado, con una temperatura promedio anual de 14°C, con periodos de lluvias entre junio y septiembre y con una precipitación promedio anual de 470 mm. Por lo anterior, se decidió variar el contenido volumétrico de agua con el objeto de correlacionar la variación de la bioaccesibilidad de los metales pesados en función de los ciclos de inundación y sequía. La variable que se cuantificó, durante el transcurso de la prueba, fue la producción de sulfuro en solución, por lo que sólo se evaluó en el sistema inundado.

Considerando los resultados obtenidos en el balance de metales, se tomaron 5 g de M3, se adicionaron 15.78 mM  $\text{SO}_4^{2-}$  y 350.1 mg DQO  $\text{L}^{-1}$ . Lo anterior se consideró para cada experimento y la variable a manipular fue el contenido volumétrico de agua, el cual se modificó en 1, 30 y 70 % de humedad e inundación, de acuerdo a los resultados obtenidos en el contenido volumétrico de agua para M3 y el BIOSL (Figura 45).



**Figura 45.** Variación del contenido volumétrico de agua en el microcosmos 3. Donde los escenarios de porcentaje de humedad se variaron en 1% (2), 30% (4); 70% (8) e inundado (10)

El objetivo del experimento fue cuantificar la concentración de metales pesados y metaloides que serían estabilizados por medio de la ARS. El tiempo en el cual se evaluó el MC3 se determinó en un experimento previo, para ambos consorcios empleando el medio basal A, bajo las mismas condiciones establecidas en la sección 4.8. Transcurridos 45 días, se apreció la formación de un precipitado amarillo, y una vez que se desmontó el sistema experimental, éste se analizó por EDS acoplado al MEB (sección 4.8.). El microanálisis y las partículas obtenidas con el MEB se observan en la Figura 46. En ésta, se aprecia la presencia de sulfuro de arsénico y de hierro. Las contribuciones porcentuales del contenido atómico de los elementos que constituyen estas partículas, permiten suponer que la fase de sulfuro de arsénico corresponde a partículas de rejalgar (Anexo 5) y en el caso del hierro, considerando además la morfología de la partícula, parece corresponder a pirita ( $\text{FeS}_2$ ). Por lo tanto, en base al resultado preliminar obtenido con respecto al arsénico, se procedió a preparar el microcosmos MC3 y darle seguimiento en el transcurso de 30 días.



**Figura 46.** Fotomicrográficas obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo. (a) Aglomerado de rejalgar y (b) partícula de pirita.

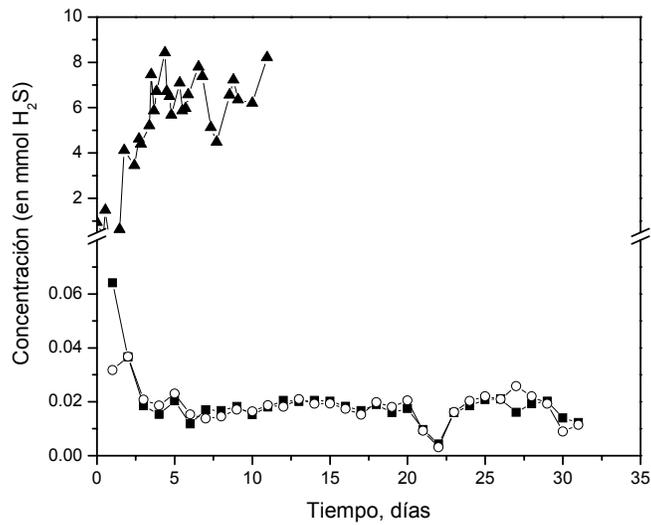
En base a los balances de masa de los metales presentes en las cuatro primeras fracciones de la ESS catiónica (para metales) y ESS aniónica (para arsénico), que indicaron la cantidad de metales que podían ser estabilizados en el residuo M3, se introdujo en el sistema una cantidad de sulfatos suficiente para observar el exceso de sulfuro producido posterior a la estabilización. Sin embargo, como se aprecia en la Figura 47, en ambos consorcios se observó la misma tendencia durante los primeros 21 días, con una marcada disminución

---

---

de sulfuro en los primeros 3 días. Después del día 22 la cantidad de sulfuro desaparece completamente indicando que, probablemente, se seguía llevando a cabo la precipitación de sulfuros metálicos u otro proceso que consume el sulfuro producido. Sin embargo, esta respuesta en concentración de sulfuro podría deberse a la presencia de materia orgánica soluble, lo anterior considerando las interferencias determinadas por la presencia del BIOSL (ver Figura 44) y que corresponde a estimaciones máximas de  $\text{H}_2\text{S}$  del orden de 0.5 a 1.5 mM. El comportamiento se mantuvo similar hasta detener el experimento. Se asumió que el sulfato se consumió completamente ya que no se cuantificó el remanente esperado a partir del balance de metales (sección 5.3), esto indica que se pudo subestimar la concentración de metales que podrían ser estabilizados e inclusive que el  $\text{SO}_4^{2-}$  podría haber quedado como el reactivo limitante en este tipo de sistemas. Lo anterior, se puede concluir en base al comportamiento observado con el inóculo JH sin presencia de M3, en donde la máxima concentración de sulfuro determinada fue de 8 mM (Figura 47).

Con el transcurso del tiempo, en este experimento y con ambos consorcios, se comenzó a observar la formación de un precipitado color amarillo (ver Figura 48), lo que indicó la generación de sulfuros de arsénico (rejalgar).



**Figura 47.** Comportamiento del sulfuro en el microcosmos 3 (inóculo+residuo+BIOSL). JH+M3+BIOSL (-■-); M2+M3+BIOSL (-○-) y JH+BIOSL (▲).



**Figura 48.** Precipitado amarillo generado bajo las condiciones del microcosmos 3 con el consorcio JH.

Transcurrido el tiempo establecido para el experimento, las 24 muestras se procesaron como se mencionó en la sección 4.8.

El pH del sobrenadante de JH fue de  $7.33 \pm 0.09$  y un Eh  $-185.23 \pm 26.41$  mV. En el caso de los microcosmos que contenían el inóculo M2, el sobrenadante del experimento finalizó con un pH de  $7.17 \pm 0.12$  y un Eh de  $-206.22 \pm 13.63$ . En la Tabla 13, se observan las concentraciones de metales disueltos provenientes de la digestión total del BIOSL y del sobrenadante de las muestras inundadas.

Tabla 13. Concentración de EPT en el sobrenadante y el biosólido liofilizado

Elemento	Sobrenadante mg kg <sup>-1</sup>		BIOSL mg kg <sup>-1</sup>
	JH	M2	
As	1,878.3 ± 749.2	2,241.7 ± 1590.3	6,300 ± 3.5
Cd	0.92 ± 0	0.61 ± 0.6	234 ± 2.5
Fe	114.0 ± 17.1	126.3 ± 30.9	16,183.33 ± 321.5
Cu	4.8 ± 6.3	4,8 ± 5.5	320.33 ± 2.5
Pb	0 ± 0	0 ± 0	1,195 ± 21.8
Zn	18.4 ± 5.1	16.2 ± 6.3	6,766.66 ± 115.5
Eh (mV)	-185.23	-206.22	

Los resultados anteriores indican que existe una concentración elevada de As en el sobrenadante, mientras que el resto de los metales no se encuentran en solución, presuponiendo la formación de precipitados de sulfuros metálicos. Sin embargo, la formación de complejos metálicos con el sustrato orgánico no se descartó debido a que en la digestión total del BIOSL, se ve una clara tendencia a la concentración de metales en este sustrato. Sin embargo, debido a que no se separó el BIOSL para cada muestra ya que de las 24 muestras de mezclaron para generar una muestra compuesta, por lo que, no se puede generalizar la cantidad de metal adsorbida de acuerdo al contenido volumétrico de agua. El resultado anterior permite suponer que se podría considerar al BIOSL como un adsorbente, el cual se puede separar del resto de la matriz por flotación. Este comportamiento puede considerarse como una opción de extracción de metales que se encuentren en solución.

---

---

Además, probablemente, la concentración de metales en el sobrenadante se debe también a la deficiencia de sulfatos introducidos en el medio basal B.

En la Tabla 14, se muestran los resultados de las ESS para As para el residuo M3 después de su exposición a la ARS de los consorcios JH y M2. Se encontró que para ambos consorcios existe una partición del arsénico en el siguiente descendente: materia orgánica y sulfuro (MOS)>óxidos de hierro y manganeso (OFM)> carbonatos (CAR) > residual (RES)>soluble (SOL)> intercambiable (INT).

En la Tabla 15 se aprecian la distribución de plomo en el residuo M3 expuesto a la ARS de ambos consorcios, y determinado por la ESS catiónica. La partición de plomo en este residuo presentó el siguiente orden descendente: MOS>OFM>RES>CAR>INT>SOL.

Lo anterior permite corroborar que el As y Pb están mayormente asociados a la fracción de materia orgánica y sulfuros, seguida de óxidos de Fe-Mn. El cadmio presenta una mayor afinidad a CAR>OFM>MOS>INT>RES>SOL en ambos consorcios. La diferencia del hierro varía en las más bajas afinidades a la fracción SOL e INT, pero las demás fracciones se asocian a MOS>RES>OFM>CAR. El cobre en ambos consorcios se comporta de forma similar presentando mayor afinidad a MOS>RES>OFM. Sin embargo, en el consorcio JH se cuantificó Cu en la fracción CAR, mientras que en el consorcio M2 no se cuantificó. Por último, el zinc fue el que no presentó un comportamiento similar, en JH se asocia a las fracciones en el siguiente orden: MOS>OFM>CAR>RES>SOL>INT; mientras que para M2 su asociación es la siguiente: OFM>CAR>MOS>RES>INT>SOL. Los resultados de Fe, Cd, Cu, y Zn se muestran en el Anexo 1.

Ahora bien se sumaron los resultados de cada fracción para cada porcentaje de humedad para posteriormente comparar la concentración del metal al inicio y al final del experimento. En el caso de las muestras que presentaron inundación, se adicionó la concentración del metal en solución a la concentración final del experimento, con la finalidad de realizar el balance final de metales en el sistema, y así poder conocer el porcentaje de estabilización del metal (ecuación 29).

Tabla 14. Partición de arsénico en el residuo M3 modificado por ARS con los consorcios JH y M2 (Determinado por ESS-aniónica).

<b>% (JH)</b>	<b>SOL</b>	<b>INT</b>	<b>CAR</b>	<b>OFM</b>	<b>MOS</b>	<b>RES</b>
<b>Humedad</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>
1	366.2±1.8	115.4±20.9	1135.8±15.9	2587.5±17.7	4462.5±88.4	826.2±192.7
30	546.2±1.8	210.6±6.9	1303.7±26.6	3437.5±123.7	3700.0±141.5	1843.7±171.5
70	472.5±0	202.5±20.1	1362.5±60.7	3175.0±141.4	4566.6±1263	907.5±469
Inundado	531.2±1.8	177.0±12.0	773.7±51.3	2625.0±141.4	2912.5±88.4	547.5±14.1
<b>% (M2)</b>						
<b>Humedad</b>						
1	252.5±7.5	175.1±7.2	1507.5±28.2	3162.5±17.6	3525±282.8	655±194.4
30	595±31.8	10.4±0.6	1665±24.7	3137.5±17.6	6150±176.7	1536.2±79.5
70	570±14.1	262.5±0	1615±72.1	2537.5±123.7	3725±318.1	935±197.9
Inundado	255±35.3	97±16.2	781±93.6	247.4±20.25	777.8±52	643.4±74

Tabla 15. Partición de plomo en el residuo M3 modificado por ARS con los consorcios JH y M2 (Determinado por ESS-catiónica).

<b>% (JH)</b>	<b>SOL</b>	<b>INT</b>	<b>CAR</b>	<b>OFM</b>	<b>MOS</b>	<b>RES</b>
<b>Humedad</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>	<b>(mgkg<sup>-1</sup>)</b>
1	ND	ND	101.1±8.9	283.7±8.8	565±42.4	102.1±20.3
30	ND	ND	99.9±1.8	251.6±4.7	481.2±68.9	117.7±8.8
70	ND	ND	112.8±7.5	246.7±4.5	805.8±33.3	74.1±33.6
Inundado	ND	ND	47.1±11	285.7±1.7	518.7±30	70.2±0.3
<b>% (M2)</b>						
<b>Humedad</b>						
1	ND	ND	92.5±1.4	229.1±23.5	525±3.5	119.5±21.2
30	ND	ND	96.5±4.9	276.2±5.3	826.2±90.1	165.8±8.3
70	ND	ND	118.8±1.5	225.7±13.4	675±53	101.1±1.5
Inundado	ND	ND	87.8±3	212.2±13	857.5±14.1	130.3±44.7

$$\% \text{Estabilización} = \left\{ \left[ ESS_{in} - (ESS_f + SN) \right] \bullet 100 / ESS_{in} \right\} \quad (29)$$

Donde:

ESS<sub>in</sub>= Resultado inicial de la extracción secuencial catiónica antes de la actividad biológica (mg kg<sup>-1</sup>).

---

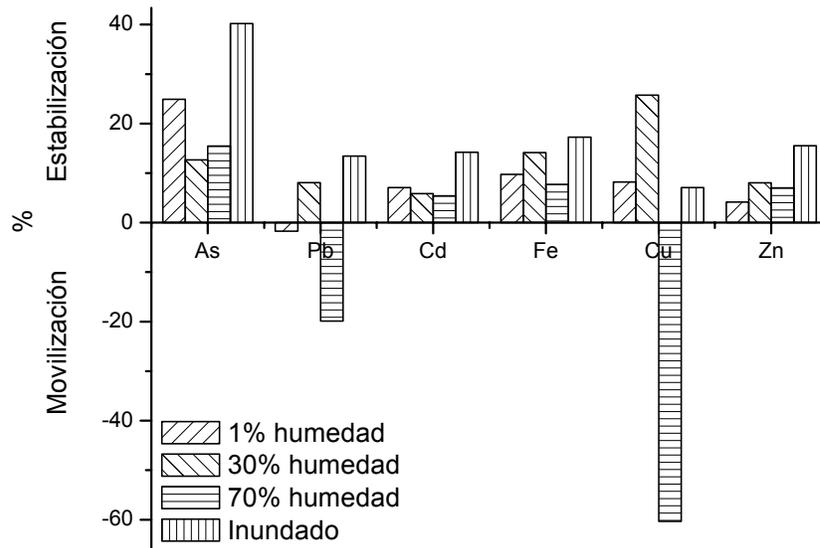
---

ESS<sub>f</sub>= Resultado final de la extracción secuencial catiónica después de la actividad biológica (mg kg<sup>-1</sup>).

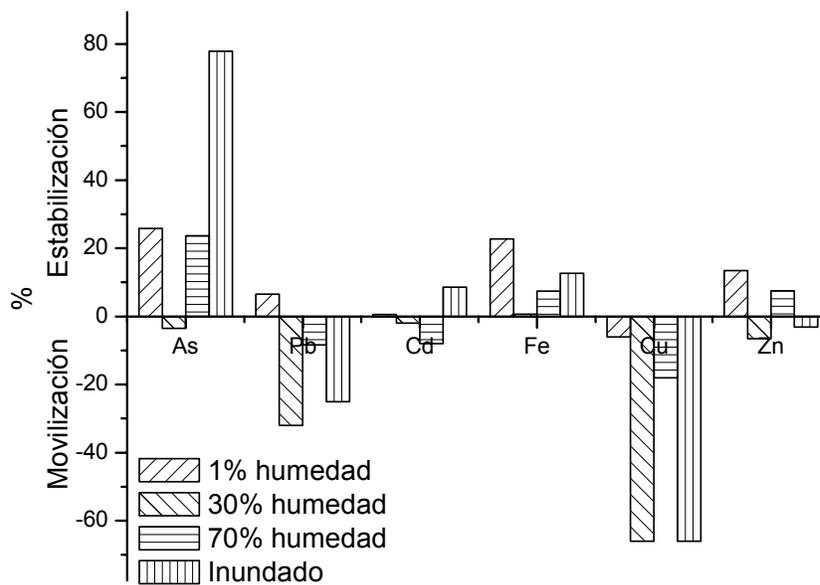
*SN* = Concentración del metal en el sobrenadante referido al sólido (mg kg<sup>-1</sup>).

En la Figura 49, se muestran los porcentajes de estabilización de As, Pb, Cd, Fe, Cu y Zn para el consorcio JH bajo condiciones de inundación. En esta figura, se aprecian porcentajes de estabilización de 40.1, 14.1, 17.2, y 15.54% para As, Cd, Fe y Zn respectivamente. El Cu presenta la mayor estabilización (25.7 %) con el 30 % de humedad.

La Figura 50, muestra los resultados de estabilización de metales en presencia del consorcio bacteriano M2, observándose claramente que bajo condiciones de inundación se obtiene el 77.84 y 8.6% de estabilización de As y Cd respectivamente. Con respecto al Cu, debido a que no se contó con suficiente muestra, no es posible establecer el porcentaje estabilizado. El Fe presentó la mayor estabilización (22.7%) al 1% de humedad. Por su parte el Zn en condiciones de inundación presenta una variación negativa del 3%, pero esto posiblemente se deba a la heterogeneidad del residuo, así que se podría considerar que en dichas condiciones se obtuvo una estabilización completa.



**Figura 49.** Porcentaje de estabilización y movilidad de metales en el residuo M3 expuesto a la ARS del consorcio bacteriano JH.



**Figura 50.** Porcentaje de estabilización y movilidad de metales en el residuo M3 expuesto a la ARS del consorcio bacteriano M2.

---

---

En el caso del plomo e independientemente del consorcio empleado, se observa porcentajes de movilización de hasta un 38%. Lo anterior, indica que probablemente se presente destrucción de fases cristalinas estables (silicatos), las cuales contienen plomo que no fue cuantificado inicialmente con la ESS inicial pero que se cuantificó en la ESS final. Lo anterior debido a que la ARS promueve la destrucción de las fases estables, por lo tanto, el sistema con ARS lo hace más bioaccesible.

De acuerdo a la NOM-147-SEMARNAT-1993 que normaliza la bioaccesibilidad del plomo con glicina se calculó la disminución de la bioaccesibilidad de Pb y As. Esta norma permite una concentración soluble de 5 mg L<sup>-1</sup> de As y Pb en el extracto.

Para calcular la bioaccesibilidad del As, en el residuo expuesto a la ARS del consorcio JH, se consideró el escenario inundado (JH) La concentración inicial de As, antes de la exposición al sistema de estabilización, se determinó que era de 134 mg L<sup>-1</sup>, esto es, 27 veces más que la concentración de As permitido por la normatividad.

Sumando las fracciones SOL, INT, CAR se obtuvieron 1,481.9 mg As kg<sup>-1</sup> M3, equivalentes a 14.81 mg As L<sup>-1</sup>, lo que indicó que existe una disminución de 119.18 mg As L<sup>-1</sup>. Esto se ve reflejado en un menor riesgo de salud a la que puede estar expuesta la población que entre en contacto con M3 estabilizado. Aunque la disminución de la concentración de As es considerable, por normatividad, aún se considera como un residuo peligroso.

Sumando el arsénico contenido en las fracciones SOL, INT, CAR y OFM se encontró una concentración de 4, 106.9 mg As kg<sup>-1</sup> M3. Al emplear este valor, y considerando la concentración total inicial 13,443.4 mg As kg<sup>-1</sup> M3 (Tabla 5), se encontró que el porcentaje de bioaccesibilidad disminuyó en un 69.4 % para el As, quedando ésta en 17.7% para el residuo estabilizado.

Para el Pb se sumó la fracción CAR y OFM dando un total de 344.5 mg Pb kg<sup>-1</sup> M3 en el sistema que contenía 70 % de humedad para M2, la concentración de Pb inicial fue de 1,301.7 mg Pb kg<sup>-1</sup> M3, equivalente a 13 mg Pb L<sup>-1</sup> y decayó hasta 3.43 mg Pb L<sup>-1</sup>, considerando la fracción carbonatada se obtiene 1.2 mg Pb L<sup>-1</sup>. Para el plomo se logró estabilizar de 9.6 a 11.8 mg Pb L<sup>-1</sup> lo que hace al

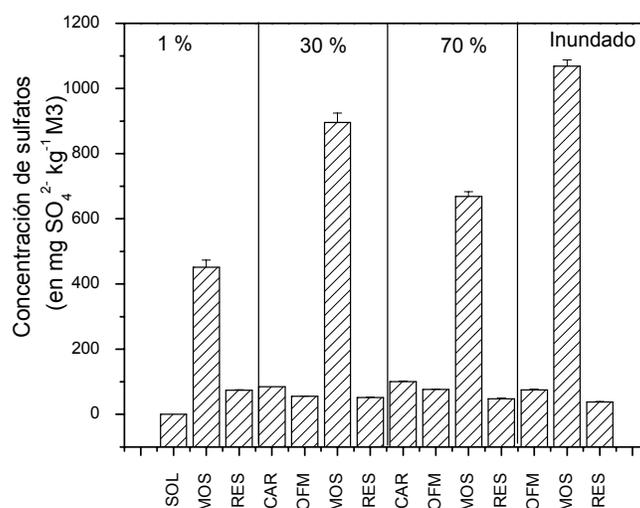
residuo no peligroso en cuanto a la concentración de plomo. Además, la bioaccesibilidad decayó en un 66.9%; de nueva cuenta se disminuye el riesgo en salud a la cual puede estar expuesta la población que entre en contacto directo con el residuo estabilizado.

La cuantificación de sulfatos provenientes del sobrenadante de la ESS catiónica se observa en la Figura 51 para el consorcio JH, y en la Figura 52 para el consorcio M2.

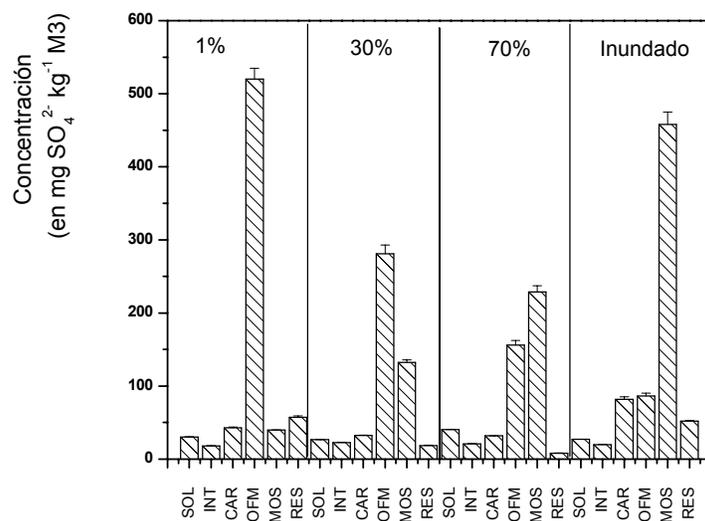
Para el consorcio JH se cuantificó la mayor concentración de sulfatos en la fracción asociada a materia orgánica y sulfuros, indicándonos indirectamente la formación de sulfuros metálicos (ecuación 8); la fracción RES, CAR y OFM son las que complementan la cuantificación total de los sulfatos.

Para M2, se presenta la mayor cuantificación en las fracciones asociadas a OFM y MOS. El sulfato restante se asocia principalmente a las condiciones de destrucción de carbonatos.

Comparando ambas gráficas, se puede dilucidar que existe una mayor ARS en el consorcio JH que en M2 por la cuantificación de sulfatos asociados a la fracción de MOS. Lo anterior, asociado a una mayor cuantificación de sulfatos, ya que es una medida indirecta de la producción de sulfuro para cada uno de los inóculos.



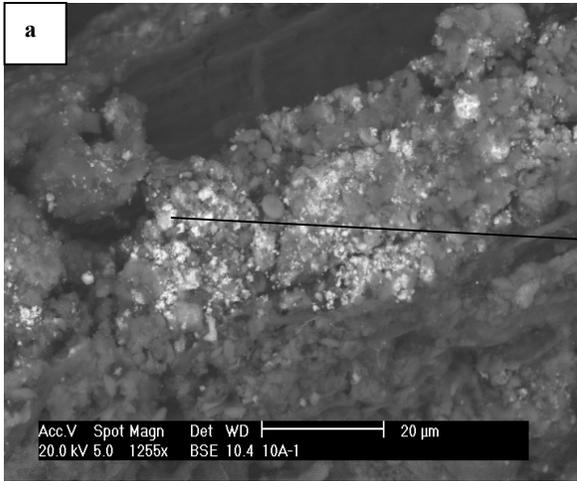
**Figura 51.** Concentración de sulfato presente en el residuo M3 de la ESS para el consorcio JH de acuerdo a la humedad en el sistema.



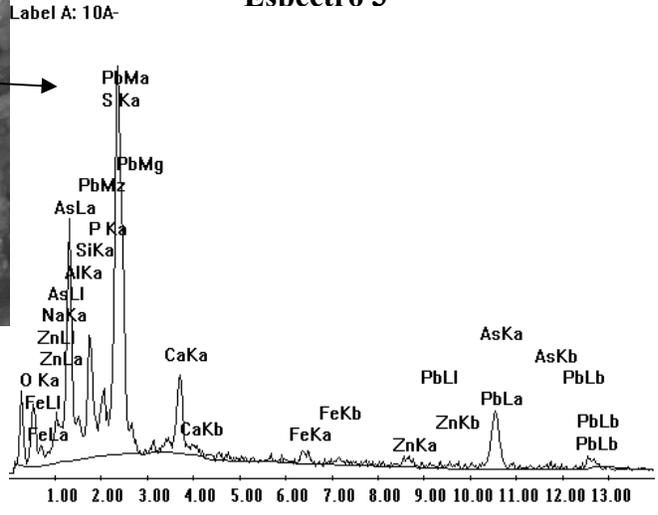
**Figura 52.** Concentración de sulfato presente en el residuo M3 de la ESS para el consorcio M2 de acuerdo a la humedad en el sistema.

Teniendo en cuenta todo el balance de metales finales del microcosmos 3, se prosiguió a la identificación por MEB del precipitado amarillo formado en las muestras inundadas. Se encontraron diferencias de tamaño de partículas de las asociaciones arsénico-azufre en función del consorcio empleado, siendo para JH de 5  $\mu\text{m}$  y para M2 de 10  $\mu\text{m}$ .

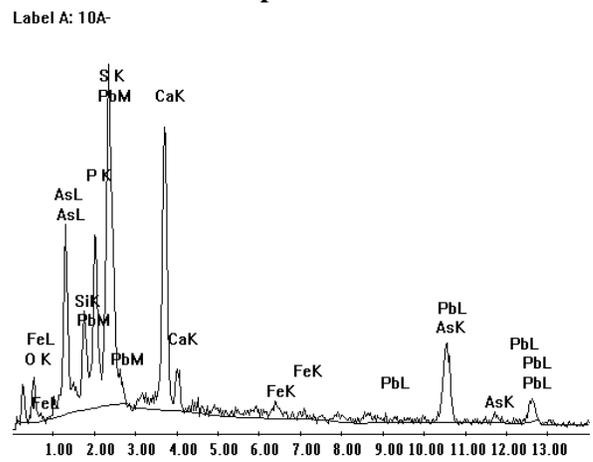
En la plantilla 1, se puede observar el precipitado formado por el consorcio JH, apreciándose distintos tonos, donde el color blanco brillante está asociado principalmente a sulfuros metálicos y óxidos metálicos (b, c y d), además de apreciarse silicatos complejos de Fe-Zn-Ca-Pb (a). El precipitado formado por el consorcio bacteriano M2, presenta una composición similar (Plantilla 2), solo que, la presencia de sulfuros metálicos tales como galena (h) y rejalgar (e, f y g) se encuentran en agregados de mayor tamaño, por lo que, se eliminan un poco de interferencias de la matriz al momento de cuantificarlos, caso que no ocurre para JH debido al tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$  (b).



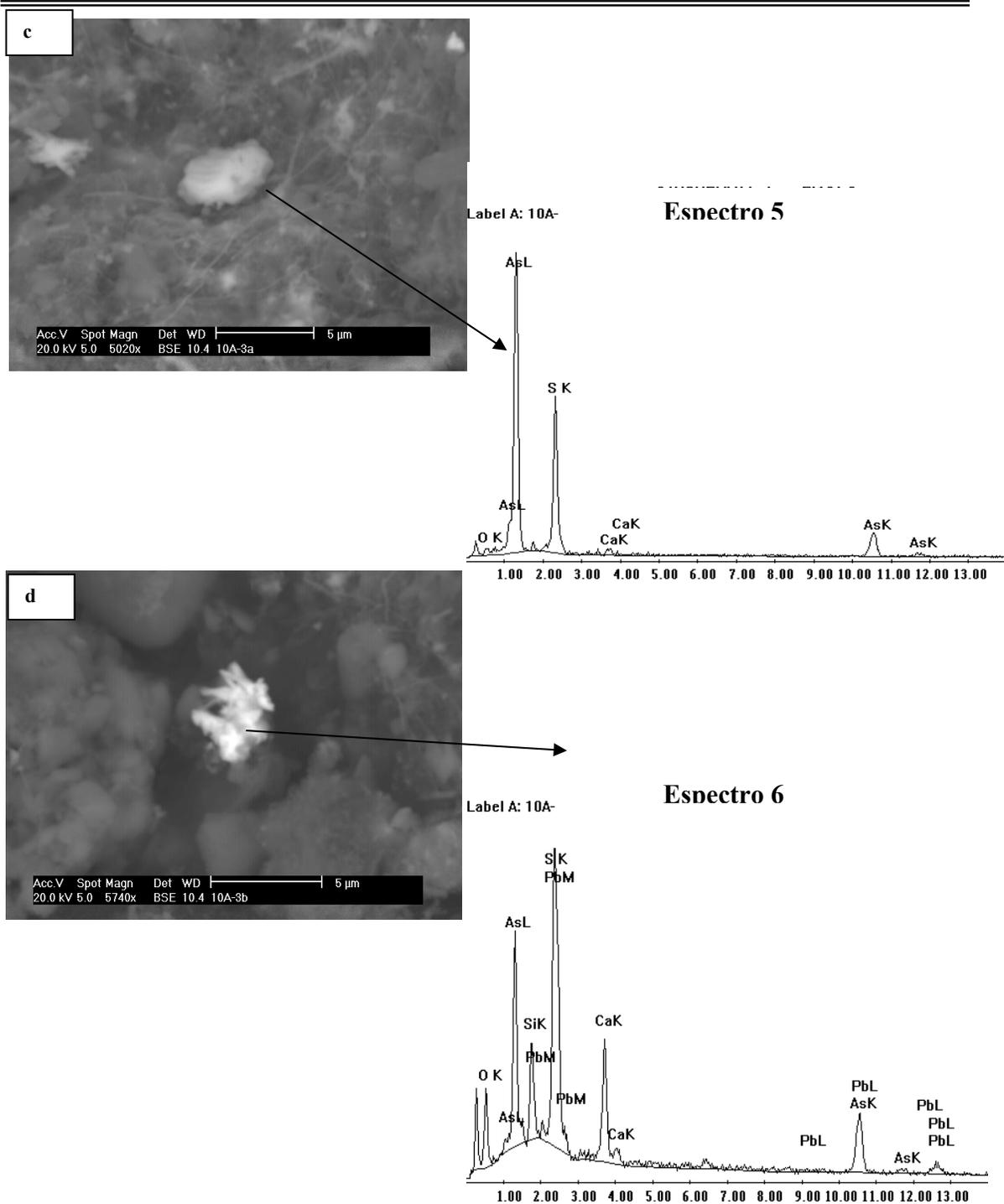
**Espectro 3**



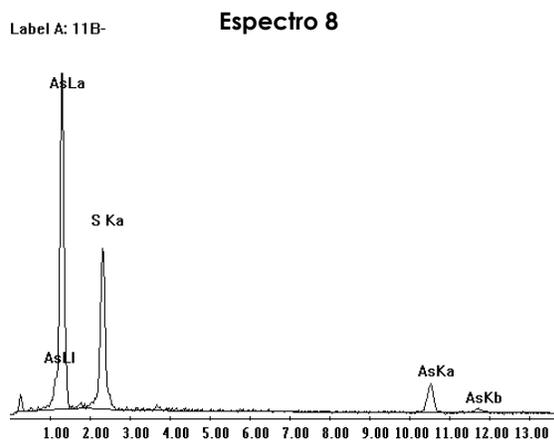
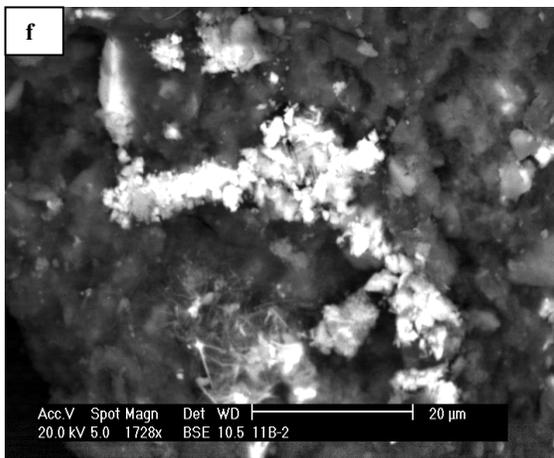
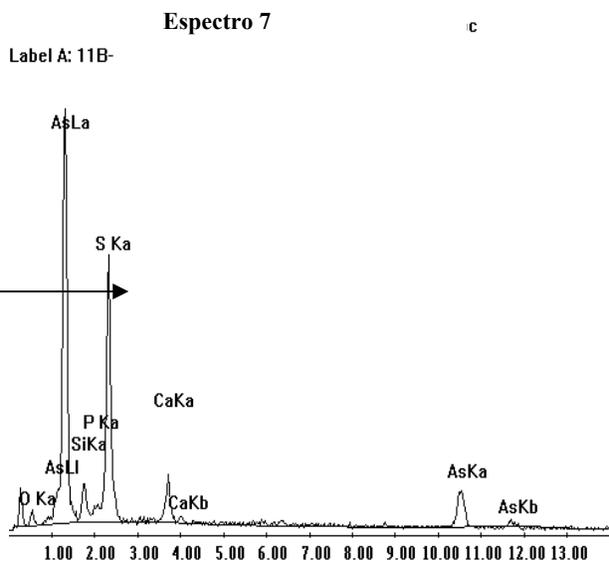
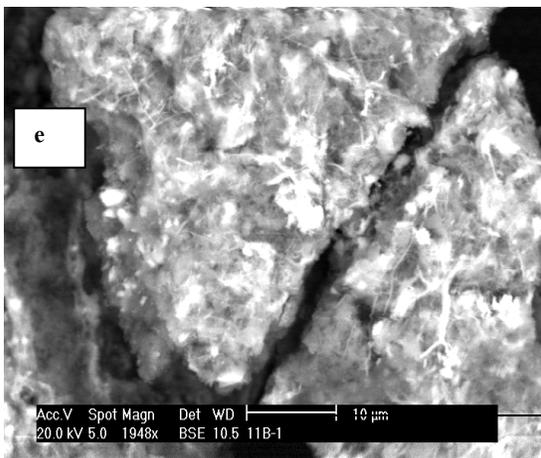
**Espectro 4**



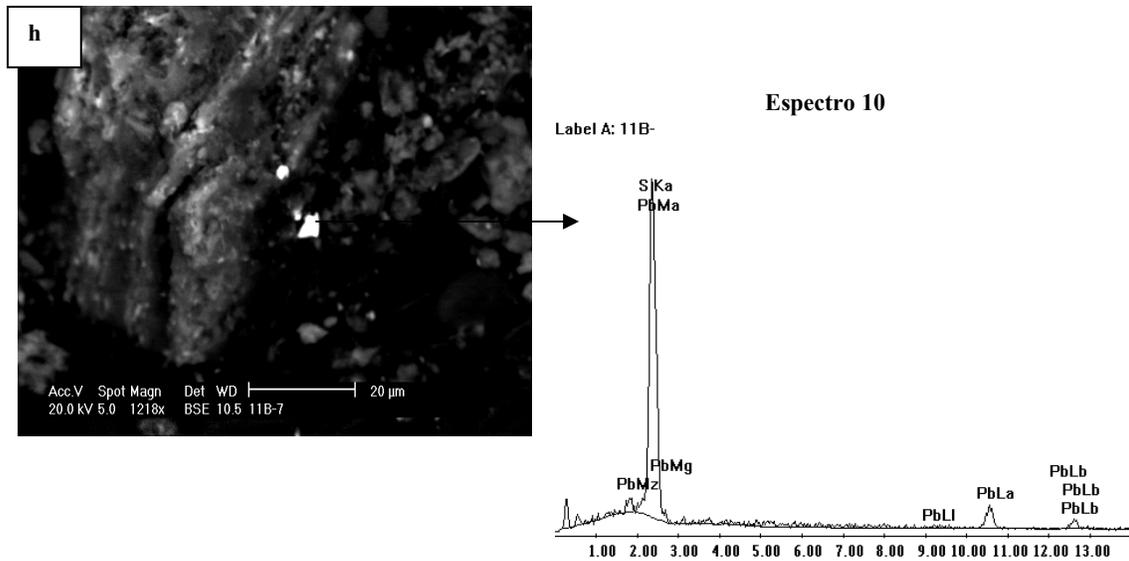
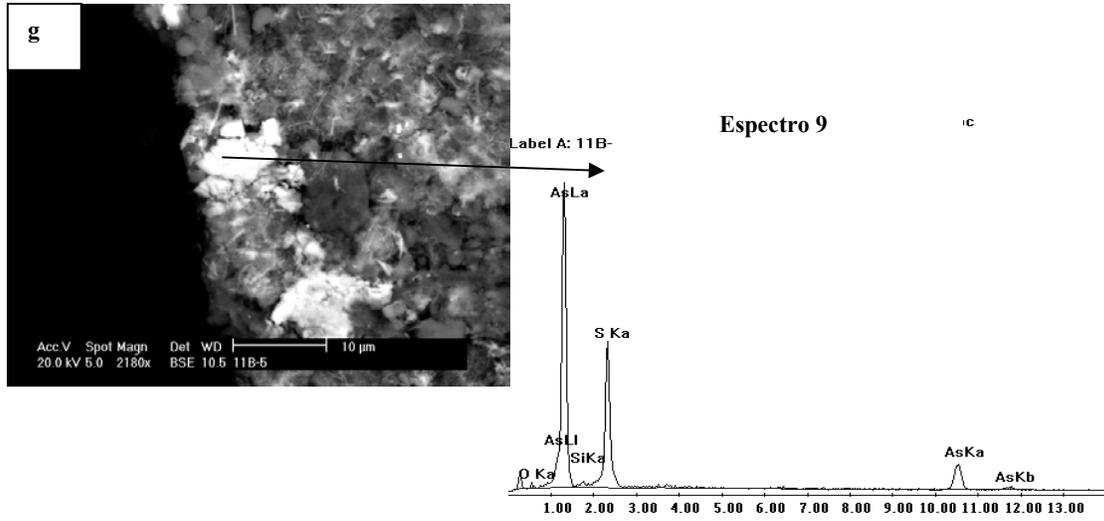
**Plantilla1.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo producido por el consorcio JH: (a y b) óxidos de Zn - Fe y silicatos complejo.



**Plantilla1.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo producido por el consorcio JH: (c, d) rejalgar y óxidos de As-Pb.



**Plantilla 2.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo producido por el consorcio M2: (a) óxidos de As y (e,f y g) rejalgar.



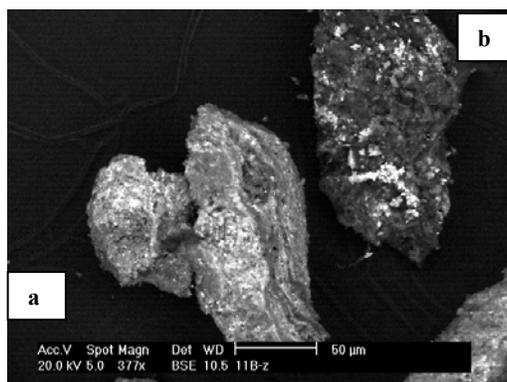
**Plantilla 2.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS del precipitado amarillo producido por el consorcio M2: (e,f y g) rejalgara y galena (h).

---

---

En el Anexo 6, se encuentran más fotomicrografías referentes al precipitado formado y su cuantificación atómica. Encontrándose nuevamente formaciones de óxidos As-Fe, óxidos-Zn, óxidos complejos de Fe-As-Pb y agregados de Fe-Zn-As-Si-Ca-Cu que se puede considerar como arsenopirita asociadas a sulfuros polimetálicos dentro de una matriz silicia.

Lo anterior comprueba que con ambos consorcios se presentan las condiciones ambientales reductoras para la formación de sulfuros metálicos, observándose en el caso del arsénico, principalmente, el rejalgar.



**Figura 53.** Fotomicrografía obtenida por MEB bajo el modo electrones retrodispersos, del residuo minero-metalúrgico (a) y el BIOSL (b).

En la Figura 53, se puede ver claramente la diferencia de los dos soportes sólidos empleados en el experimento. Se muestra en color más claro el residuo M3 (a) y en tonalidad oscura el BIOSL (b). Pudiendo apreciarse claramente que la tonalidad brillante incrustada en ambos soportes, pertenecen a los sulfuros minerales formados y principalmente a rejalgar.

Posteriormente se tomaron muestras correspondientes al microcosmos 3, para someterlas a ESS catiónica y analizarlas posteriormente por DRX. Estos resultados se presentan en el Anexo 7. En cada uno de los difractogramas se muestra el residuo M3 antes de someterse a actividad biológica, seguido del residuo al término de los 30 días que duró el experimento de exposición a la ASR de los inóculos empleados (Act. Bio). Posteriormente, el residuo M3 sometido a ESS hasta la fracción de carbonatos (CAR), y por último el residuo M3 sometido a ESS obteniendo de la destrucción de OFM.

---

---

En la Figura A.7.1. y A.7.2, se muestran los resultados obtenidos para JH y M2 respectivamente. En estos se mantuvo una humedad de 1%, encontrándose principalmente calcita ( $Cal=CaCO_3$ ), cuarzo ( $Q=SiO_2$ ), clinocrisolita ( $Cli=(MgFe)_3(SiAl)_3O_7(OH)_4$ ) y caminita ( $C=(SO)_4^2(OH)_2$ ) en M3. En el caso del residuo bajo Act. Bio, para CAR, se encontraron aparte de las anteriores la gismondita ( $G=CaAl_2Si_2O_8 \cdot 4H_2O$ ) e illita ( $I=KNaMgFeAlSiO \cdot H_2O$ ) y para OFM sólo se encontró Q, I y G.

Las muestras que contenían el 30 % de humedad (Figura A.7.3. y A.7.4.), muestran que para M3 y Act. Bio se observó Cal, Q, C y Cli, para CAR se observó C, Cal, I y G y en OFM se aprecia Q, I y G.

Para el 70 % de humedad, se aprecian las mismas fases que en seco, y en 30 % de humedad, sólo se aprecia una fase nueva que es la wustita ( $W=FeO$ ) en M3 (Figura A.7.5. y A.7.6.).

Para el sistema inundado, se observa (Figura A.7.7. y A.7.8.) la Cal, Q, Cli, C para M3 y Act. Bio. Sin embargo, para CAR y OFM se encontró Cal, I y Q. Lo que varía en las distintas fases cristalinas es la intensidad de los picos que va disminuyendo de acuerdo a la fracción analizada de la ESS catiónica antes y después, de la actividad biológica.

Con mayor claridad se aprecia la destrucción de los óxidos amorfos de Fe en el sistema inundado para ambos consorcios; lo que da un indicio más de la redistribución de elementos como el plomo. Esta redistribución se debe a que la actividad bacteriana presente debilita la estructura cristalina de estas fases, haciéndolas más susceptibles a ser removidas. Caso que no ocurre con el residuo M3, antes de someterlo a actividad bacteriana (Figura 13).

Por último, se procesaron las muestras del residuo M3 para analizarlas con el EDS acoplado al MEB. Lo anterior con el fin de conocer otras fases que se formaron y las cuales se muestran en las Plantillas 3 a la 8. En la plantilla 3 se encuentra el residuo M3 después de la actividad biológica con el consorcio JH. El principal mineral portador de S es la pirita, que se encuentra en tamaños promedio de 50 micras en forma libre. La galena, esfalerita y calcopirita se encuentran ocluidas en los no metálicos en tamaños menores de 3 micras. Hay abundancia de óxidos de Pb, Fe y As con asociaciones frecuentes a sílice,

---

---

óxidos de calcio y feldespatos. El Cu – Zn metálico no son frecuentes y se asocian a los óxidos de calcio en forma de oclusión.

Para M2 se encontraron minerales abundantes de silicatos de Ca, Fe del tipo de la hedenbergita ó andradita. Las cloritas son las segundas en proporción, seguidos de la sílice ( $\text{SiO}_2$ ) y apatita ( $\text{CaPO}_4$ ). Los óxidos de Fe se encuentran como oclusión en silicatos y cloritas; mientras que los óxidos de Zn – As están ocluidos en silicatos y cloritas. También se observan óxidos de calcio, zircón ( $\text{ZrSiO}_4$ ), esfalerita ( $\text{ZnS}$ ), rejalgar ( $\text{AsS}$ ) en los bordes de granos entre apatita y silicatos de Ca y Fe (Plantilla 4).

En la plantilla 5, se observa la composición del residuo M3 después de haberlo sometido a la ESS hasta la destrucción de carbonatos. JH presenta sulfuros; calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) deficiente en Cu (del cual solo 25% del 34% es usualmente cuantificable), rejalgar ( $\text{AsS}$ ) asociado a cloritas, esfalerita ( $\text{ZnS}$ ) y sulfuro de hierro ( $\text{FeS}_2$  ó  $\text{FeS}$ ); además de óxidos de Fe-As, Fe-As-Zn y Pb-As donde el primero es el más abundante; y otros compuestos no metálicos tales como Cal, Q, y óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ) que son poco abundantes. Se presentan contenidos de P, S, Ti y Zn; donde el contenido de P puede deberse a la presencia de apatita,  $\text{CaPO}_4$ , y la de S y Zn puede deberse a presencia de sulfuros metálicos como es el caso de la esfalerita,  $\text{ZnS}$  (Plantilla 6). Además de óxidos de FeO, Fe-Zn y Pb-As, el rejalgar se encuentra en un buen número de partículas de silicatos en los bordes de los granos, en tamaños menores de 5 micras y Q que se encuentra libre o asociado a silicatos.

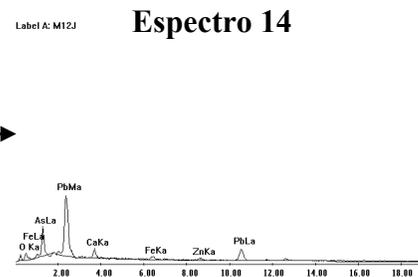
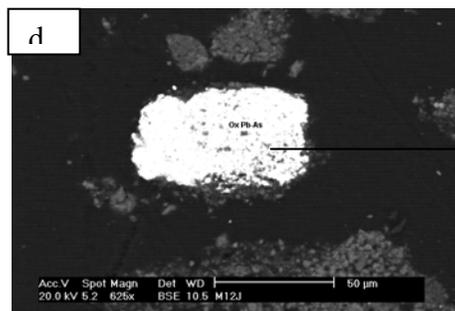
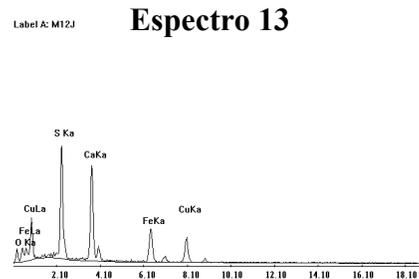
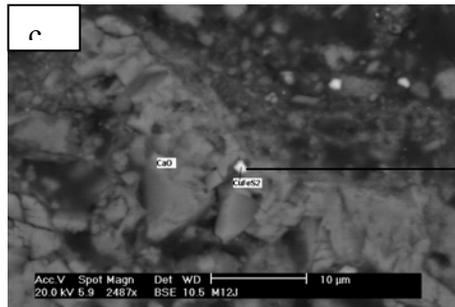
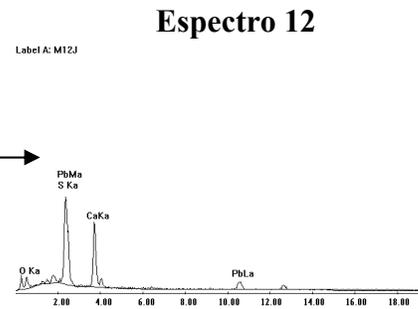
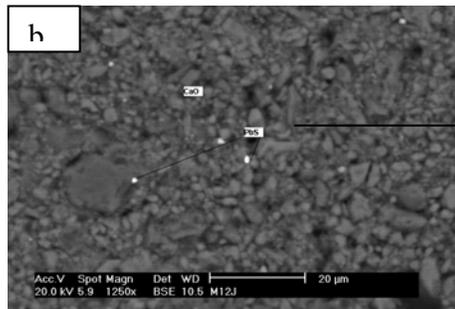
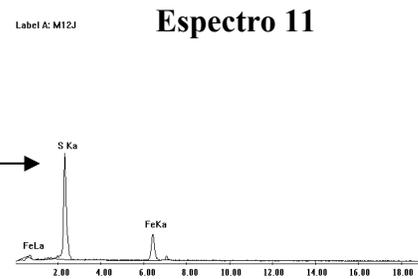
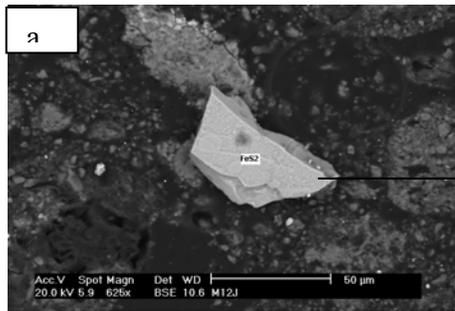
En la plantilla 7 se tienen los resultados de la ESS hasta la destrucción de óxidos Fe-Mn, para ambos consorcios, donde, JH presenta compuestos de azufre como; esfalerita, pirita ( $\text{FeS}_2$ ), óxidos de Fe-As-Pb con contenidos de azufre en solución; se les localiza en forma de oclusión o asociación con los silicatos. Cuando estos sulfuros se asocian u ocluyen en los óxidos Fe – As, el S está presente como solución sólida en los óxidos; además de compuestos de feldespatos de Na y K, Q, silicatos de Fe y caolinita ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ).

En M2 se aprecian óxidos de Fe-As, Pb-As y FeO, también  $\text{FeTiO}_3$ . Sin embargo, no se encuentra una composición definida que determine a un mineral específico sino que son mezclas de óxidos formando menas complejas;

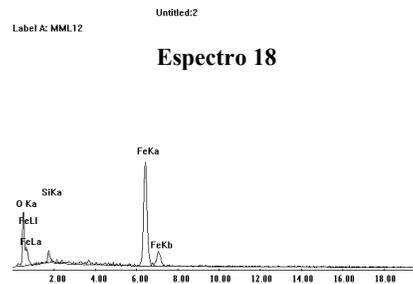
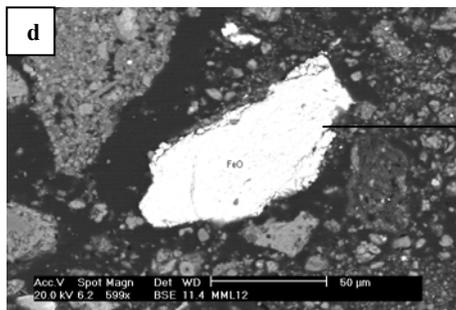
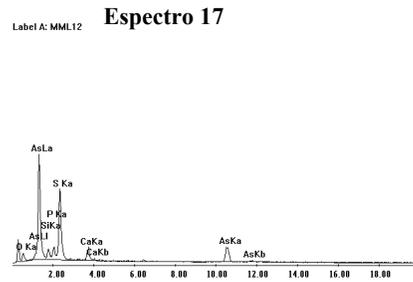
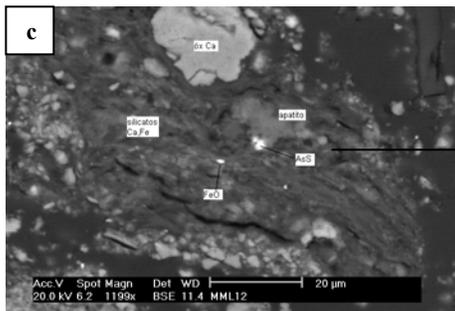
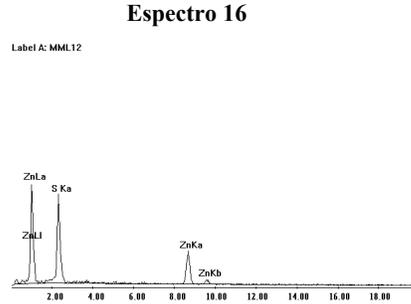
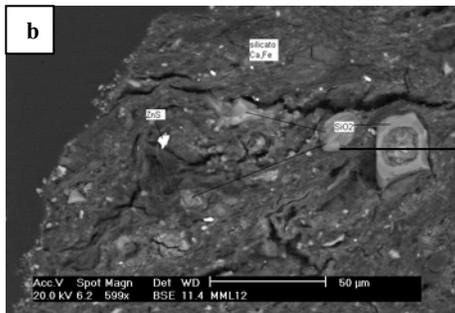
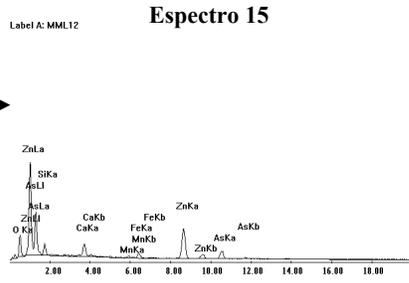
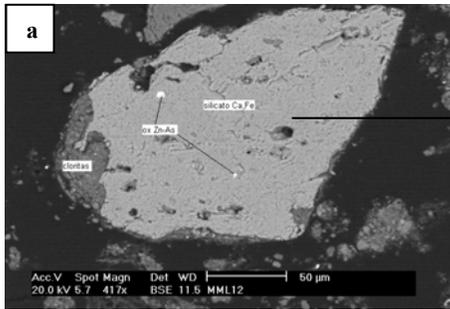
---

---

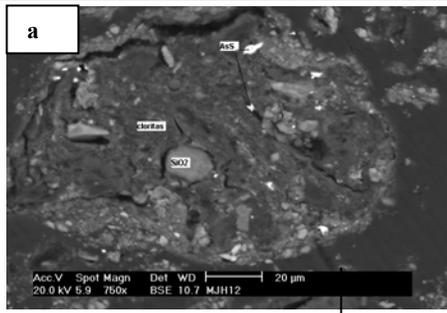
asociados entre sí y a los no metálicos presentes. Hay abundancia de silicatos de Ca, Fe del tipo de la hedenbergita ó andradita. La ilmenita no es abundante y solamente se observa ocluida en los no metálicos. No se detecta presencia de minerales portadores de azufre (Plantilla 8). El resto de las fotomicrografías se encuentran en el Anexo 6. El microanálisis químico puntual de los espectros presentados a lo largo del trabajo de tesis se encuentra en el Anexo 5.



**Plantilla 3.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, después de la actividad del consorcio JH: (a) pirita, (b) galena ocluida en óxidos de calcio, (c) calcopirita y (d) óxido de Pb-As.

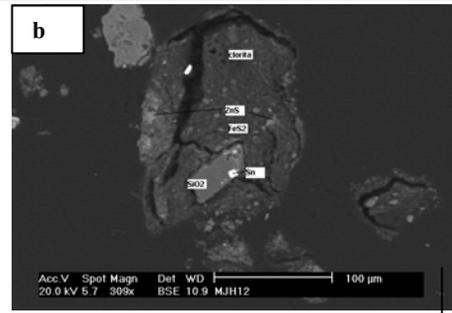
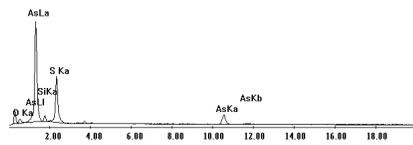


**Plantilla 4.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, después de la actividad del consorcio M2: (a) silicatos de Ca, Fe del tipo andradita ó hedenbergita asociados a cloritas, (b) esfalerita, cuarzo y silicato; (c) rejalgar y (d) óxido de hierro.



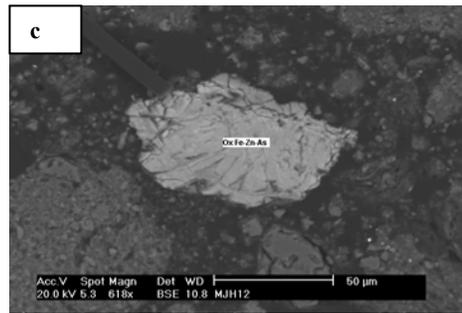
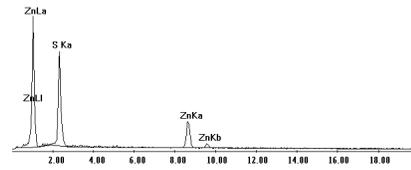
Label A: MJH12

**Espectro 19**



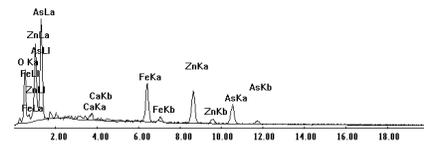
Label A: MJH12

**Espectro 20**



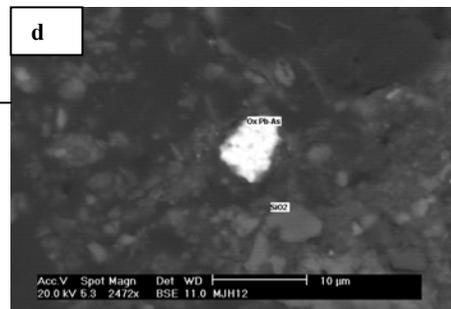
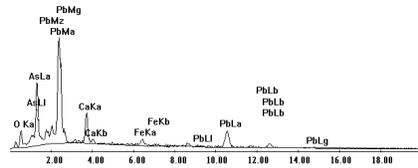
Label A: MJH12

**Espectro 21**

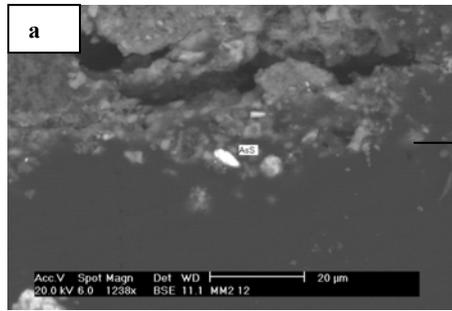


Label A: MJH12

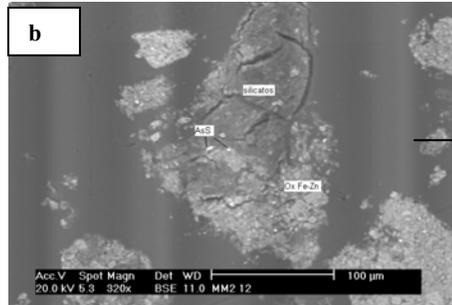
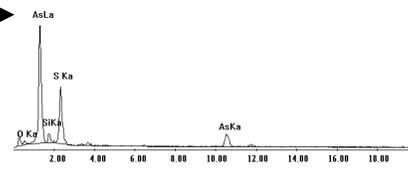
**Espectro 22**



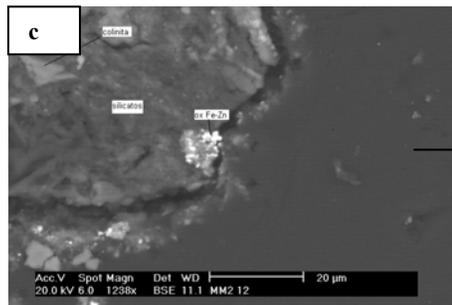
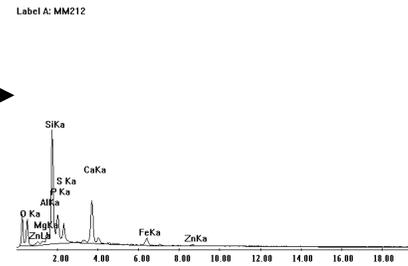
**Plantilla 5.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de carbonatos para el consorcio JH: (a) rejalar, (b) esfalerita, sulfuro de hierro, (c) óxido Fe-Zn-As y (d) óxidos Pb-As.



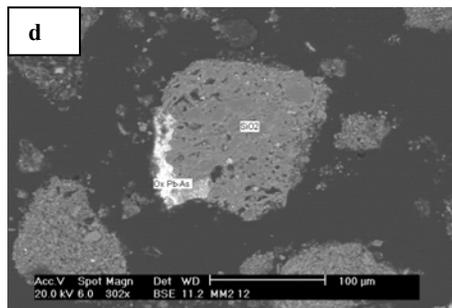
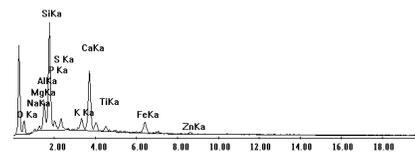
Label A: MM212 **Espectro 23**



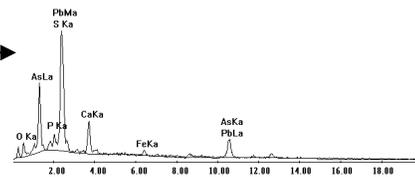
Label A: MM212 **Espectro 24**



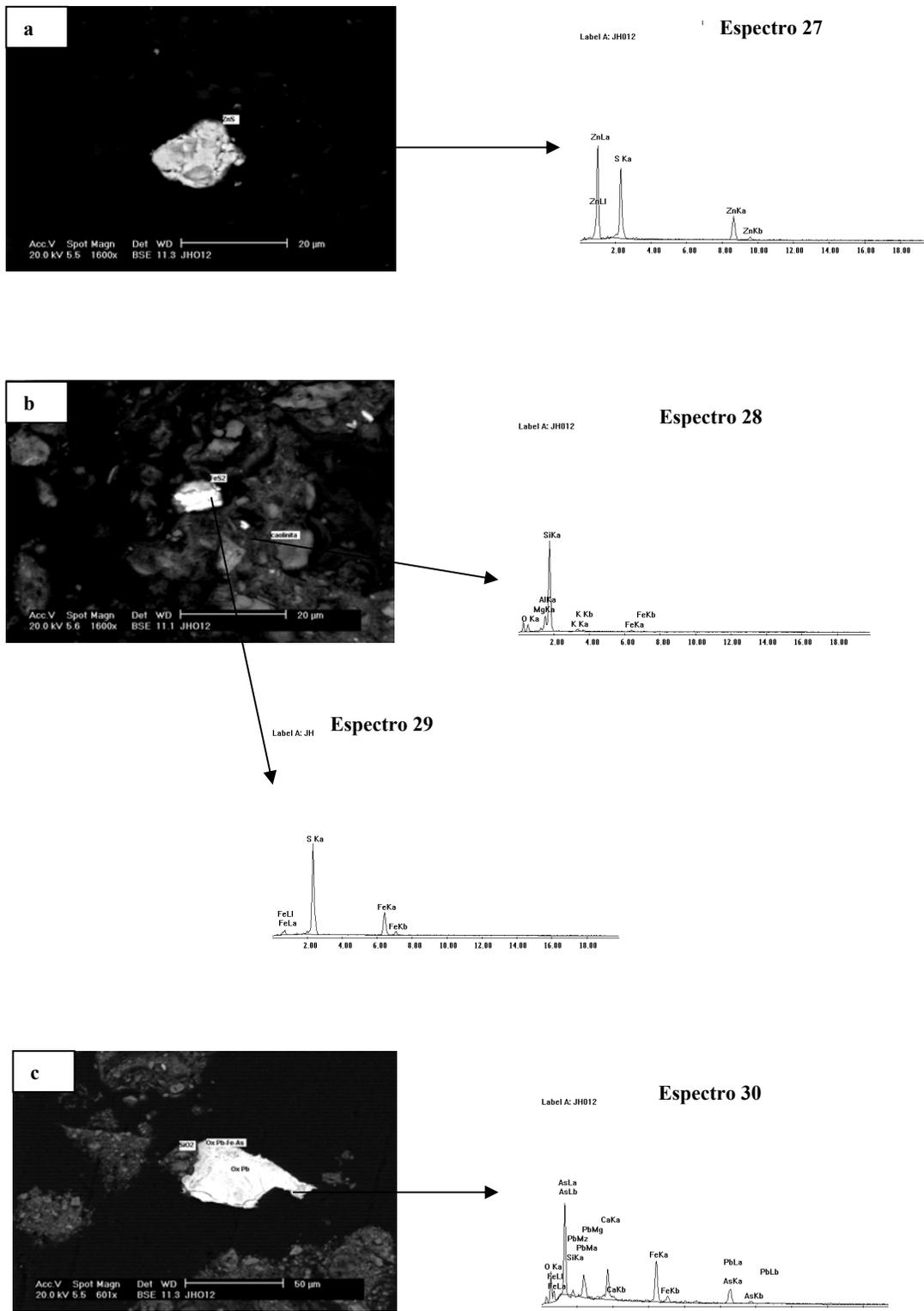
Label A: MM212 **Espectro 25**



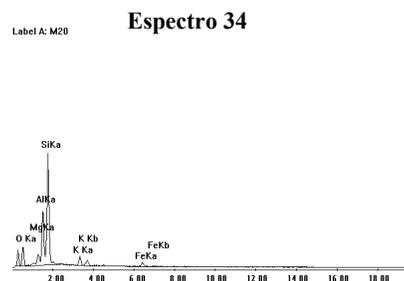
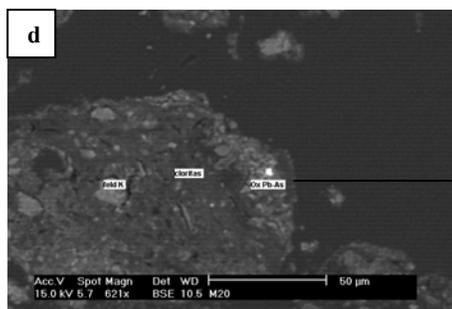
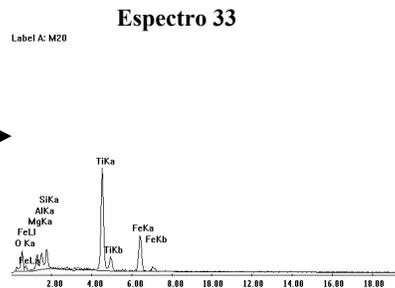
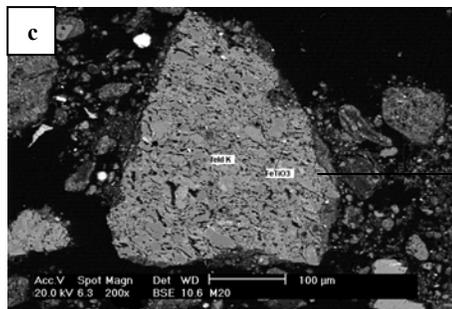
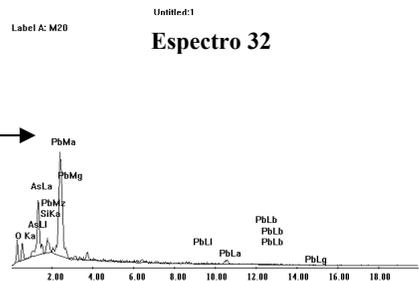
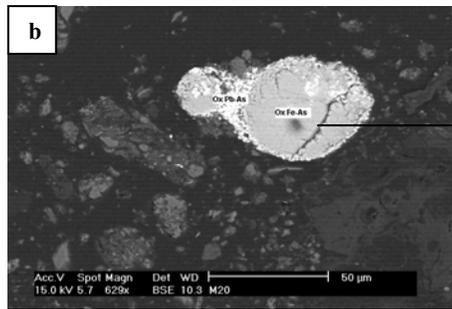
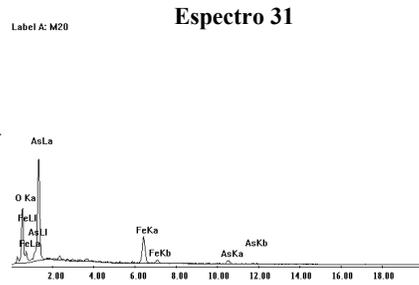
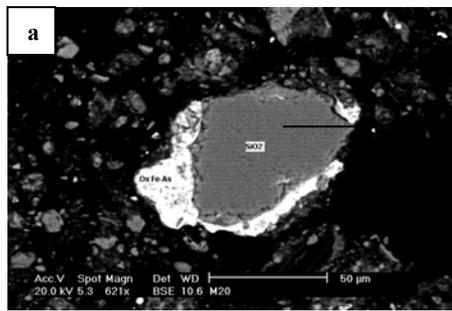
Label A: MM212 **Espectro 26**



**Plantilla 6.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de carbonatos para el consorcio M2: (a y b) rejalgar, (b) silicatos, (b y c) óxido Fe-Zn y (d) óxido Pb-As.



**Plantilla 7.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de óxidos Fe-Mn para el consorcio JH: (a) esferita, (b) sulfuro de Fe y (c) óxidos de Pb.



**Plantilla 8.** Fotomicrografías obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS, con la destrucción de óxidos Fe-Mn para el consorcio M2: (a) óxidos Fe-As asociados a sílice, (b) óxidos Pb-As, (c) silicatos del tipo de las cloritas entremezclados con feldespatos K. Se observa oclusión de óxido de Pb – As.



---

---

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1. Conclusiones

1. El residuo minero-metalúrgico M3 presenta una elevada concentración de arsénico, plomo y hierro, principalmente. Debido a las condiciones en las que estos elementos se encuentran asociados al suelo o residuo, presentan un elevado nivel de bioaccesibilidad, haciendo que el residuo sea clasificado como peligroso. Este material podría estar asociado a un nivel de riesgo hacia la población que entre o esté en contacto con él; por lo cual se requieren medidas de control sobre el residuo M3.
2. Los consorcios bacterianos (JH y M2), aislados de suelos impactados por la actividad minera y con elevadas concentraciones de EPT bioaccesibles. Presentaron actividad reductora de sulfatos en presencia de un medio de cultivo mineral específico empleando como donador de electrones un sustrato sólido de lenta degradación denominado biosólido. Este biosólido liofilizado (BIOSL) fue obtenido de un sistema de tratamiento aerobio de aguas residuales del parque Tangamanga I en San Luis Potosí, S.L.P.
3. La mayor actividad sulfatorreductora en presencia del BIOSL se observó con el consorcio microbiano M2 ( $\sim 110 \text{ mmol H}_2\text{S g}^{-1}\text{SSV h}^{-1}$ ), y ésta probablemente se pueda atribuir a una mayor diversidad microbiana. Se encontró que este consorcio tenía una actividad hidrolítica mayor que en el consorcio JH, que por sus características fisiológicas y metabólicas pueden degradar sustratos complejos como el BIOSL y favorecer una mayor actividad sulfatorreductora.
4. El biosólido está conformado por sustancias similares a los ácidos fúlvicos, lo que genera interferencia en la cuantificación del sulfuro

---

---

de hidrógeno en solución. Estos compuestos, además, fungen como adsorbente del sulfuro biogénico en un 17 %, apreciándose una mayor adsorción a bajas concentraciones de sulfuro. De igual forma, se determinó que tiene la capacidad de estabilizar metales disueltos, y que debido a su baja densidad puede ser separado por flotación en un sistema inundado.

5. La afinidad al sustrato (BIOSL) por el consorcio JH fue mayor, presentando una constante de afinidad, expresada en términos de mg DQO, de 53.07 mg DQO L<sup>-1</sup>. Mientras que para el consorcio M2 se determinó una de 766.42 mg DQO L<sup>-1</sup>. Se comprobó que en ambos consorcios existen bacterias sulfato reductoras que degradan el sustrato de forma incompleta, probablemente hasta acetato. Además, ambos consorcios presentan diferencias significativas con respecto a las velocidades iniciales específicas máximas de producción de sulfuro; siendo de 12 mmol H<sub>2</sub>S g<sup>-1</sup> SSV h<sup>-1</sup> para JH y de 110 para M2 mmol H<sub>2</sub>S g<sup>-1</sup> SSV h<sup>-1</sup>. Lo anterior sugiere que el consorcio microbiano JH presenta una concentración mayor de comunidades con ARS con respecto a M2, y que este último presenta un mayor número de comunidades hidrolíticas.
6. El sulfuro como inhibidor de los consorcios JH y M2 en presencia de BIOSL no presentó el comportamiento esperado, ya que, el sulfuro introducido se adsorbió completamente en el BIOSL, por lo tanto, no fue posible hacer la estimación de la constante de inhibición por sulfuro en los dichos consorcios.
7. Las velocidades específicas de producción de sulfuro en el protocolo experimental de inhibición indicó son constantes e independientes del consorcio microbiano, lo cual sugiere que el potencial químico de sulfuro en el BIOSL determina la velocidad específica de producción, y

---

---

que presenta diferencias significativas con los protocolos establecidos para con concentraciones iniciales menores de sulfuro en el BIOSL

8. Las interacciones de los consorcios JH y M2 en presencia del residuo M3 permitieron comprobar, en el microcosmos 1, que el residuo M3 no contiene materia orgánica suficiente para sostener a una comunidad microbiana sulfatorreductora. De igual forma se apreció que en los tiempos de experimentación (180 horas) el BIOSL no cuenta con actividad reductora de sulfatos propia (microcosmos 2).
9. En lo que se refiere a la estabilización de metales del residuo M3, se obtuvieron porcentajes de estabilización para As aceptables, con JH 40.1% mientras que en M2 77.84% bajo condiciones de inundación, aun cuando existió una deficiencia de sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). Los análisis del MEB muestran la aparición de rejalgar, pirita, esfalerita, óxidos complejos de As-Pb, Fe-Zn-As, Pb-As, Pb, cuarzo, silicatos, feldespatos.
10. Considerando las primeras cuatro fracciones de las ESS aniónica o catiónica para el cálculo de la movilidad de As o Pb respectivamente, se lograron estimar las disminuciones de la bioaccesibilidad y las concentraciones máximas del lixiviado de la NOM-052 para los escenarios inundados. Los cálculos muestran que se disminuyó en 69.6% la bioaccesibilidad del As y en 66.7 % la del Pb. La concentración móvil del residuo disminuyó desde  $\sim 133 \text{ mg As L}^{-1}$  hasta  $14.81 \text{ mg As L}^{-1}$ . En el caso del plomo, las concentraciones finales móviles obtenidas van de 1.2 a  $3.43 \text{ mg Pb L}^{-1}$ , que con respecto a las concentraciones iniciales representó una disminución de  $6.57 \text{ mg Pb L}^{-1}$
11. Por todo lo anterior se comprueba que es factible estabilizar y recuperar metales bajo condiciones sulfato-reductoras. Sin embargo, para optimizar el proceso y definir el tren de tratamiento del sistema, es necesario profundizar más sobre el comportamiento del sustrato de

---

---

lenta degradación en sistemas en continuo, verificando además el valor de concentración de sulfatos en solución que permitan definir el término de la estabilización de metales por generación en solución del sulfuro biogénico producido.

## **6.2. Recomendaciones**

1. Se sugiere que se lleve a cabo la identificación microbiológica de las bacterias presentes en los consorcios JH y M2, para explicar con mayor claridad sus comportamientos, y establecer las rutas metabólicas correspondiente con mayor detalle.
2. Es necesario complementar con el análisis elemental del BIOSL, así como análisis estructural del mismo para conocer la concentración real del carbono orgánico que contienen y conocer los grupos funcionales que lo conforman. Lo anterior podría complementarse con un análisis de infrarrojo o resonancia magnética nuclear.
3. Debido a que en esta tesis se observó que comunidades con mayor diversidad generan mejores condiciones de ARS empleando el biosólido, se sugiere que se lleven a cabo cinéticas microbianas mezclando los consorcios JH y M2 para evaluar su comportamiento y, posiblemente, tener mejores resultados. Considerando principalmente las constantes de inhibición obtenidas y las velocidades máximas de producción de sulfuro.
4. Para poder cerrar los balances de azufre dentro de los sistemas en lote se sugiere que se determine el sulfuro gaseoso por cromatografía de gases, así como la dinámica de producción de los productos de degradación del biosólido, medidos específicamente como ácidos

---

---

grasos volátiles, que corresponden al sustrato preferente de las comunidades microbianas sulfato reductoras.

5. Implementar una metodología para inocular siempre la misma concentración de biomasa.
6. Se deberá de analizar en el MEB las muestras con 1, 30 y 70 % de humedad obtenidas en los microcosmos de esta tesis para concluir si existen variaciones con respecto al sistema inundado.
7. Para conocer las constantes de inhibición para los consorcios JH y M2 es necesario utilizar otro tipo de sustrato orgánico como fuente de carbono, para no tener interferencias por adsorción de la fracción soluble de sulfuro y evaluación de su efecto sobre las velocidades de producción del mismo.

---

---

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. APHA-AWWA-WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21<sup>st</sup> Edition, American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, Baltimore, D.C., 2-56(a), 2-79(b), 4-188 (c) y 5-14 (d), 2005.
2. Azadpour-Keeley A., Russell H.H., y Sewell G. W., Ground Water Issue, Microbial Processes Affecting Monitored Natural Attenuation of Contaminants in the Subsurface, United States Environmental Protection Agency, 1996.
3. Bagreeev A., Bashkova S., Locke D.C., y Bandosz T. J., Sewage Sludge-Derived materials as efficient adsorbents for removal of hydrogen sulfide, *Environmental Science and Technology*, 35, 1537-1543, 2001.
4. Benner S. G., Blowes D. W., Gould W. D., Herbert R. B. y Ptacek C. J., Geochemistry of a permeable reactive barrier for metals and mine drainage, *Environmental Science and Technology*, 33 2793-2799, 1996.
5. Benner S.G., Blowes D. W., Ptacek C. J. y Mayer K. U., Rates of sulfate reduction and metal sulfide precipitation in a permeable reactive barrier, *Applied Geochemistry* 17, 301-320, 2002.
6. Blowes D.W, Ptacek C.J., Benner S. G., McRae C.W.T., Bennett T. A. y Puls R.W., Treatment of inorganic contaminants using permeable reactive barriers, *Journal of Contaminant Hydrology* 45, 123-137, 2000.
7. Bohinski R. C., Bioquímica, 5<sup>ta</sup> Edición, Pearson Educación, México, 1991.

- 
- 
8. Cardona Gallo S. A., Sistema de Barrera, Sistema de barreras reactivas permeables para tratar agua subterránea contaminada con diesel, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, 2006.
  9. Celis García M. L. B., Bioeliminación de óxidos de azufre de efluentes, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, D. F., Tesis Doctoral, 2004.
  10. Cord-Ruwisch R., A quick method for the determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria, *Journal of Microbiological Methods* 4, 33-36, 1985.
  11. Cortina J. L., González P. M. y García B.G., Evaluación de materiales reactivos en la eliminación de sulfatos de aguas ácidas de minas; Aplicación a barreras reactivas permeables. Escola Técnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona, 1996.
  12. Costello C., Acid Mine Drainage: Innovative Treatment Technologies, US, EPA, Office of Solid Waste and Emergency Response, October, 2003.
  13. Dean W.E. JR., Calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods, *Journal of Sedimentary Petrology*, 44, 242-248, 1974.
  14. Del Lobo M. del C., Boletín Tecnologías de remediación Fuente: Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaría. Fecha de publicación 10 Marzo del 2004  
[www.estrucplan.com.mx/Articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=750](http://www.estrucplan.com.mx/Articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=750)

≧

- 
- 
15. Doshi, S. M., Bioremediation of acid mine drainage using sulfate-reducing bacteria, U.S. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response, August 2006.
  16. EPA, Environmental Protection Agency, Permeable reactive barrier technologies for contaminant remediation Work Assignment Manager Subsurface Protection and Remediation Division National Risk Management Research Laboratory, Robert W. Puls, 1998.
  17. EPA, Environmental Protection Agency, Field applications of in situ remediation technologies: permeable reactive barriers, Office of solid waste and emergency response, Technology innovation office, 2001.
  18. EPA, Environmental Protection Agency, Monitored natural attenuation of inorganic contaminants in ground water, Volume 2. Assessment for Non-Radionuclides including arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, nickel, nitrate, perchlorate and selenium, 2007.
  19. FRTR (Federal Remediation Technologies Roundtable), Evaluation of Permeable Reactive Barrier Performance, December 9, 2002. <[www.frtr.gov](http://www.frtr.gov)>
  20. Gaffney J.S., Marley N.A. y Clark Eds. S.B., Humic and fulvic acids, isolation, structure and environmental role, American Chemical Society, Chicago, 1996.
  21. García Arreola M. E., Estudio de la distribución y especiación de arsénico en suelos de Villa de la Paz, SLP., Tesis de Maestría, UASLP, 2008.

- 
- 
22. Gibert O., Pablo J., Ayora C. y Cortina J. L., Evaluation of municipal compost/limestone/iron mixtures as filling material for permeable reactive barriers for in-situ acid mine drainage treatment, *Journal of Chemical Technology Biotechnology* 78, 489-496, 1996.
23. González B. M., Determinación de parámetros cinéticos y de inhibición por sulfuro en un reactor UASB sulfato-reductor, Tesis de Maestría, IPICYT, 2007.
24. INE, Instituto Nacional de Ecología, Libro 16 y gaceta 155, 2005, 2006. <[www.ine.gob.mx](http://www.ine.gob.mx)>.
25. Jenkins D., Snoeyink V. L., Química del Agua, Ed., Limusa, S.A. de C. V., Grupo Noriega Editores, 1999.
26. Kaksonen A. H., Franzman P.D. y Puhakka J. A., Effects of hydraulic retention time and toxicity on ethanol and acetate oxidation in sulphate-reducing metal-precipitating fluidized-bed reactor. *Biotechnology Bioengineering*, 86, 333-342, 2004.
27. Keon N. E., Swartz C. H., Brabander D. J., Harvey C. y Hemond H. F., Validation of an arsenic sequential extraction method for evaluating mobility in sediments, *Environmental Science Technology*, 35, 2778-2787, 2001.
28. Krinsky S. y Wrubel R., Standardized Microcosms in Microbial Risk Assessment, *Biological Bioscience*, 45, 9-27, 1995.
29. Labastida-Núñez I., Evaluación a escala laboratorio de bacterias sulfato reductoras en la estabilización de la fracción soluble de plomo, en un suelo impactado por la minería, Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de San Luis Potosí México, 2007a.

- 
- 
30. Labastida-Núñez I., Flores A. y Briones R., Selecting Samples in Treatability Tests for Metallic Stabilization. International Conference on Water Pollution in Natural Porous media of different scales. Assesment of fate, impact and indicators. WAPO, 2007b.
31. Lillo Javier; Peligros geoquímicos: arsénico de origen natural en las aguas, Universidad Complutense de Madrid, 2007.  
<[www.ucm.es/info/crismine/Ambiente\\_Serena/Peligros\\_As\\_2.pdf](http://www.ucm.es/info/crismine/Ambiente_Serena/Peligros_As_2.pdf)>.
32. Logan V. M., Reardon F. F., Figueroa L. A., McLain J. E. T. y Ahmann D. M., Microbial community activities during establishment, performance, and decline of bench-scale passive treatment systems for mine drainage, *Water Research* 39, 4537-4551, 2005.
33. López Pamo E., Tratamientos pasivos de drenajes ácidos de mina estado actual y perspectivas de futuro. *Boletín Geológico y Minero*, 113(1), 3-21, 2002.
34. Martens T. N., Multivariate Calibration, Wiley: New York, 1989.
35. Massart D.L., Vandeginste B.G.M., Buydens L.M.C, S. de Jong, P.J. Lewi y J. Smeyers-Verbeke. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A and B. Elsevier, Amsterdam, 1997.
36. MMP, Ministerio de Energía y Minas República del Perú. Guía ambiental para el manejo de drenaje ácido de minas  
<[www.minem.gob.pe/archivos/dgaam/legislacion/guias/manedrenaje.pdf](http://www.minem.gob.pe/archivos/dgaam/legislacion/guias/manedrenaje.pdf)> Revisado mayo 2008.
37. Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, "Que establece criterios para determinar las concentraciones de

---

---

remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y vanadio”.

38. Pelallo Martínez N.A., Comportamiento químico del arsénico en sedimentos de sistemas acuáticos contaminados. Tesis de Maestría, UASLP, San Luis Potosí, México, 2006
39. Pérez Rodríguez R. Y., Comportamiento geoquímica de plomo en sedimentos acuáticos contaminados con residuos mineros, Tesis de Maestría, UASLP, 2007.
40. PND, Primer Informe de Ejecución del Plan Nacional de Desarrollo 2007-2012  
[pnd.calderon.presidencia.gob.mx/index.php?page=primer-informe-de-ejecucion](http://pnd.calderon.presidencia.gob.mx/index.php?page=primer-informe-de-ejecucion) >. Revisado Mayo 2008.
41. Razo S. I., Evaluación de la contaminación por metales y del riesgo en salud en un sitio minero de sulfuros polimetálicos: Caso de Villa de la Paz-Matehuala, S.L.P. (México). Tesis de Maestría. CIEP-Facultad de Ingeniería, UASLP, San Luis Potosí, 2002.
42. Razo I. Carrizales L., Castro J., Díaz-Barriga F. y Monroy M., Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate mining area in Mexico Water, Air and Soil Pollution 152, 129–152, 2004.
43. Razo S. I. Identificación de áreas prioritarias de restauración de suelos contaminados por arsénico y metales pesados en el sitios minero y metalúrgico de Villa de La Paz-Matehuala, S.L.P. (México), Tesis doctoral, CIEP-Facultad de Ingeniería, UASLP, San Luis Potosí, 2006

- 
- 
44. Rittmann B. E., y McCarty P. L., Environmental Biotechnology: Principles and Applications, Primera Ed., McGraw-Hill, 2001
45. SE, Secretaria de Economía Informe de la Minería Mexicana 2006, Dirección General de Promoción Minera, 2006. <[www.economia.gob.mx](http://www.economia.gob.mx)> Dirección General de Promoción Minera.
46. Smedley P. L. y Kinniburgh D. G., A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters, *Applied Geochemistry*, 17, 517-568, 2002.
47. Stevenson F. J., Humus chemistry: Genesis, composition, reactions, Primera Ed., Wiley-Interscience publication, John Wiley & Sons, 1982.
48. Stumm W. y Morgan J. J., Aquatic Chemistry, Chemical Equilibria and rates in natural waters, Tercera Ed., Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, INC, 1996.
49. Suárez Herrera M, Ramírez E., y Lara A. Tecnologías utilizadas en la remediación de sitios contaminados. II Congreso de Ciencias Farmacéuticas de la Conferencia Hispanoamericana de Facultades de Farmacia (COHIFFA) y el VIII Congreso Regional de Químicos Fármaco Biólogos. REVISTA SALUD PUBLICA Y NUTRICIÓN Edición Especial No. 11-2006
50. Tessier A, Campbell PGC y Bisson M. Sequential extraction procedure for speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 5, 844-851, 1979.
51. TSU, Truman State University, CHEM 222 Lab Manual, Spectrophotometric determination of the pKa of Bromothymol Blue,

- 
- 
- <<http://www2.truman.edu/~blamp/chem222/manual/pdf/pka1.pdf>>, Acceso: Octubre 2005.
52. Vázquez Rodríguez G., Movilización de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en la rizósfera de *Viguera dentata*, una especie vegetal tolerante de suelos de Villa de la Paz, Matehuala, S.L.P., 2007. Tesis de Maestría, UASLP, San Luis Potosí, 2007.
53. Valcárcel M., Principios de Química Analítica, Springer-Verlag Ibérica, Segunda Ed., Barcelona, 1999.
54. Volke Sepúlveda T., Tecnologías de remediación para suelos contaminados /México: INE-SEMARNAT, 64 pp. 2002,
55. Waybrant K.R., Blowes D. W. y Ptacek C. J., Selection of reactive mixtures for use in permeable reactive walls for treatment of mine drainage, *Environmental Science and Technology*, 32, 1972-1979, 1998.
56. WHO, World Health Organization, Environmental Health Criteria Series No. 166 y 224: Arsenic, International Programme on Chemical Safety, pp 174, 180, 1996 y 2001.
57. Xiandong L., y Thornton I., Chemical partitioning of trace and major elements in soils contaminated by mining and smelting activities. *Applied Geochemistry*, 16, 1693-1706, 2001.



## 8. Anexos

**Anexo 1.** Intervalos de desviaciones estándar, concentraciones de sulfuro adsorbido y resultados de las extracciones secuenciales para Cd, Fe, Zn y Cu.

**Tabla A.1.1.** Intervalo de las desviaciones estándar obtenidas la variación de BIOSL para cada inóculo

% y fuente de Carbón	JH	M2
100 - Postgate	0.09 - 2.4	0.91-8.0
50postgate+50BIOSL	0.09 - 2.4	0.094 -2.09
100-BIOSL	0.051 - 5.17	0.053 - 4.38
200-BIOSL	0.67 - 4.0	0.21 - 7.3

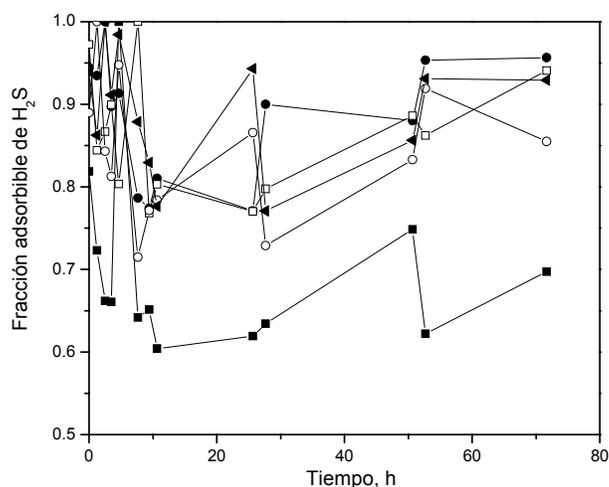


Figura A.1.1. Comportamiento de la adsorción del H<sub>2</sub>S sobre el biosólido, variando distintas concentraciones de sulfuro; (■) 4.3 mM H<sub>2</sub>S, (●) 10.2 mM H<sub>2</sub>S, (□) 17.4 mM H<sub>2</sub>S, (○) 19.2 mM H<sub>2</sub>S y (▲) 23.6 mM H<sub>2</sub>S

**Tabla A.1.2.** Intervalo de las desviaciones estándar obtenidas en las Figuras 34 y 35

mg DQO L <sup>-1</sup>	JH	M2
22.7	64.7-107	22.1-96.6
49.7	41.2-113.8	26.46-48.9
91.0	14.0-178.2	15.3-154.7
182.0	29.0-175.5	65.8-245.7
350.1	40.6-119.0	90.1-564.8
700.2	39.0-308.8	184.7-698.9

**Tabla A.1.3.** Intervalo de las desviaciones estándar obtenidas en las Figuras 36 y 37

mg DQO L <sup>-1</sup>	JH	M2
22.7	0.69-4.13	0.19-53.5
49.7	1.35-62.2	0.18-26.5
91.0	0.01-95.6	0.82-53.5
182.0	0.18-95.81	1.0-76.5
350.1	1.94-311.0	0.39-108.8
700.2	0.38-1.3	0.08-1.2

**Tabla A.1.4.** Intervalo de las desviaciones estándar obtenidas en las Figuras 40 y 41

Concentración H <sub>2</sub> S (mM)	JH	M2
2	0.24-0.95	0.10-0.43
5	0.13-0.71	0.01-0.87
8	0.01-0.84	0.09-1.12
10	0.007-0.85	0.12-0.24
15	0.21-1.66	0.05-2.4

**Tabla A.1.5.** Resultados de la ESS del consorcio JH para el cadmio (mg kg<sup>-1</sup> M3)

% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	1±0	12.5±2.5	164.8±6.8	157.2±18.2	26.7±0.3	4.1±1.9
30	0.88±0.17	12.2±0.3	166.2±1.7	166.1±2.8	21.5±1.7	4.0±0.6
70	ND	13.7±0.9	164.2±3.8	162.3±8.3	29.6±11.2	3±1.1
Inundado	1.25±0	1.7±0	3±0.2	283.7±5.3	43.6±3.1	5±0.9

**Tabla A.1.6.** Resultados de la ESS del consorcio JH para el hierro (mg kg<sup>-1</sup> M3)

% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	MI	7.1±0.3	23.1±2.3	1378.7±100.7	7725±70.7	8575±282.8
30	48.3±11.5	6.7±0.3	20±1.7	1552.5±180.3	4350±176.7	10862.5±618.7
70	48.3±0	6.8±0.5	25.6±0.7	1520±28.3	8525±150.4	7983.3±208
Inundado	42.2±11.5	7.1±0.7	72.2±2.8	1331.2±1.8	7350±318.2	7425±282.9

**Tabla A.1.7.** Resultados de la ESS del consorcio JH para el cobre (mg kg<sup>-1</sup> M3)

% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	MI	MI	MI	7±1.4	89.3±5.8	31.3±0.9
30	MI	MI	MI	5.5±0.7	64.8±4.4	33±0.7
70	1.75±0	MI	MI	5.8±0.5	182.6±13.1	32.8±1.2
Inundado	ND	MI	MI	2.1±0.3	102.7±12.3	24.5±0.3

**Tabla A.1.8.** Resultados de la ESS del consorcio JH para el zinc (mg kg<sup>-1</sup> M3)

% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	11±2.4	32.7±8.6	2076.2±139.6	4087.5±123.7	1195±31.8	260±31.8
30	9.9±0.5	43.8±5.4	2370±74.2	3775±247.4	910±116.6	241.2±19.4
70	7.1±0.8	36.6±1.9	2458.7±37.1	3662.5±88.3	1027.5±49.5	241.2±44.1
Inundado	10.7±6	10.9±0.5	1120±17.6	4262.5±194.4	1123.7±26.5	222.5±47.5

**Tabla A.1.9.** Resultados de la ESS del consorcio M2 para el cadmio (mg kg<sup>-1</sup> M3)

% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	ND	16.5 ±1.4	203.1±1.9	142.7±1.4	24.1±1.5	5.6±0.8
30	ND	18.8±1.5	185.8±19.2	150±7	40.6±1.5	6.8±0.1
70	ND	18.5±0.3	205.3±3	154±2.1	43.2±1.4	5.6±0.5
Inundado	ND	1.7±0.8	7.75±1.7	250±7	88±19.4	12.8±4

**Tabla A.1.10.** Resultados de la ESS del consorcio M2 para el hierro (mg kg<sup>-1</sup> M3)

% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	3.9±0.6	4.5±0.7	19.5.5±0.3	1227.5±42.4	8125±98.9	5775±120.2
30	2.9±0.5	4.5±0.8	28.3±0.3	1478±5.3	6425±282.8	11550±495
70	2.9±0.3	4.2±0.8	44.3±12.5	1337.5±53	8062.5±97.2	8712.5±371.2
Inundado	2.9±0.2	4.2±0	99.3±4.7	1238.7±8.8	10962.5±113.7	4825±233.4

**Tabla A.1.11.** Resultados de la ESS del consorcio M2 para el cobre (mg kg<sup>-1</sup> M3)

% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	ND	ND	12.8±0.8	5±0.7	97.2±5.6	33.5±6.3
ND	ND	ND	8±0.3	4.1±0.8	170.7±5	49±2.4
70	ND	ND	5.5±0	4.2±0.3	118.2±7.7	37.5±3.5
Inundado	ND	ND	3.25±0.1	1.8±0.1	188.1±23.8	38.8±12.1

**Tabla A.1.12.** Resultados de la ESS del consorcio M2 para el zinc (mg kg<sup>-1</sup> M3)

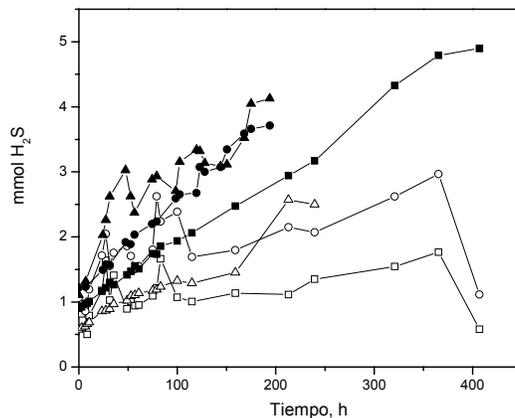
% Humedad	SOL	INT	CAR	OX-Mn-Fe	Mat. Sulfuro	RE
1	5.1±2.2	43.3±1.9	1945±74.2	3741.6±14.4	1007.5±49.5	176.7±6.5
30	11.7±1.9	62.5±4.7	2375±212.1	4175±212.1	1541.2±167.9	352.5±7
70	8.7±0.6	80±17.1	2521.2±76	3387.5±53	1151.2±93.6	240±28.2
Inundado	6±2.4	32.2±3.1	1791±267	4262.5±300	1806.2±178	342.5±134.3

---

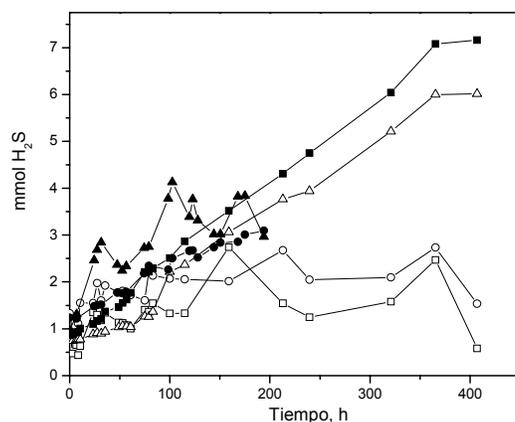
---

## ANEXO 2

Producción de sulfuro con distintas concentraciones de biosólido liofilizado (BIOSL).



**Figura A.2.1.** Producción de sulfuro en presencia del medio basal A y distintas concentraciones de BIOSL para el consorcio JH; ( $\square$ ) 22.7 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (244 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\circ$ ) 49.7 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (311 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\Delta$ ) 91.2 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (466 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\blacksquare$ ) 182 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (333 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\bullet$ ) 350.1 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (233 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ) y ( $\blacktriangle$ ) 700.2 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (233 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ )



**Figura A.2.2.** Producción de sulfuro en presencia del medio basal A y distintas concentraciones de BIOSL para el consorcio M2; ( $\square$ ) 22.7 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (333 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\circ$ ) 49.7 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (400 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\Delta$ ) 91.2 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (511 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\blacksquare$ ) 182 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (422 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ), ( $\bullet$ ) 350.1 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (154 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ ) y ( $\blacktriangle$ ) 700.2 mg DQO  $\text{L}^{-1}$  (154 mg SSV  $\text{L}^{-1}$ )

### ANEXO 3

**Tabla A.3.1.** Términos de ajuste utilizados en la obtención de los parámetros cinéticos  $K_s$  y  $q_{max}$  para los consorcios JH y M2.

[BIOS] (mg DQO L <sup>-1</sup> )	Tiempo (h)	Abs inicial (nm)	Absorbancia corregida		Abs final (nm)
			Abs mat. Org. (nm)	Abs adsorción (nm)	
<b>Consortio JH</b>					
22.7	0-407	Arrojada por el UV-Vis	No se hizo ajuste	$y = y^o * (A + (B * x))$	$Abs_{final} = Abs_{inicial} - Abs_{mat.org} + Abs_{adsorción}$
49.7	0-407		No se hizo ajuste		
91.0	0-407		$y = A + (B * x)$ $y = y^o + Ae^{(x/t)}$		
182.0	0-407		$y = a(x - b)$ $y = A + (B * x)$		
350.1	0-194		$y = A + (B * x)$	No se hizo ajuste	
700.2	0-194		$y = y^o + \frac{2A}{\pi} \frac{w}{4(x - x_c)^2 + w^2}$	No se hizo ajuste	
<b>Consortio M2</b>					
22.7		Arrojada por el UV-Vis	No se hizo ajuste		$Abs_{final} = Abs_{inicial} - Abs_{mat.org} + Abs_{adsorción}$
49.7			No se hizo ajuste		
91.0			$y = A + (B * x)$ $y = y^o + Ae^{(x/t)}$		
182.0			$y = a(x - b)$ $y = A + (B * x)$		
350.1			$y = A + (B * x)$	No se hizo ajuste	

700.2			$y = y^0 + \frac{2A}{\pi} \frac{w}{4(x-x_c)^2 + w^2}$	No se hizo ajuste	
-------	--	--	---	-------------------	--

### Velocidades de producción de sulfuro utilizadas para calcular la $K_s$ y $q_{max}$ para los consorcios JH y M2.

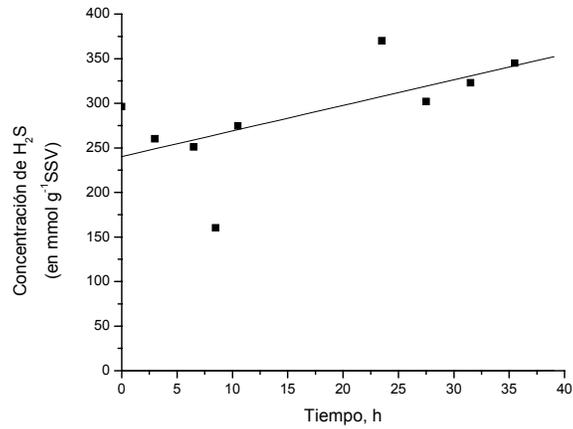
Los valores de absorbancia obtenidos experimentalmente se procesaron para hacer el ajuste de la absorbancia por materia orgánica y por adsorción del sulfuro sobre el BIOSL. Para ambos consorcios se realizó el mismo procesamiento de datos. Para 22.7 mg DQO L<sup>-1</sup> de BIOSL se ajustó cada absorbancia experimental con el arreglo matemático que aproximó el comportamiento de la materia orgánica en solución, de igual manera la absorbancia experimental se ajustó al arreglo matemático que aproximó el comportamiento de la adsorción del H<sub>2</sub>S sobre el BIOSL. Se realizaron las sumas algebraicas correspondientes de las absorbancias para obtener la absorbancia teórica calculada y finalmente determinar la concentración de H<sub>2</sub>S. La concentración de H<sub>2</sub>S obtenida, fue dividida entre las concentraciones de biomasa, expresada en mg SSV L<sup>-1</sup> (JH o M2). De esta forma se obtuvieron los perfiles de concentración que se observan en las Figuras A.3.1 a la A.3.12.

La velocidad específica de producción de H<sub>2</sub>S se calculó para cada concentración de DQO y para cada inóculo, empleando una regresión lineal y obteniendo el valor de velocidad de la pendiente de la curva a un tiempo determinado (Tabla A.3.2).

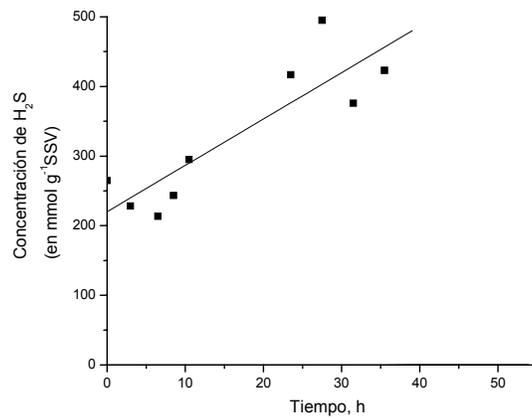
**Tabla A.3.2.** Velocidades específicas de producción de H<sub>2</sub>S para los consorcios JH y M2 a una concentración dada de BIOSL

mg DQO L <sup>-1</sup>	JH (mmol H <sub>2</sub> S g <sup>-1</sup> SSV h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	h	M2 (mmol H <sub>2</sub> S g <sup>-1</sup> SSV h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	h
22.7	2.87	0.621	35.5	5.81	0.777	31.5
49.7	6.66	0.871	35.5	4.82	0.762	31.5
91	8.05	0.931	35.5	10.7	0.809	31.5
182	4.31*	0.578	35.5	22.39	0.909	31.5
350.1	9.95	0.907	74.5	34.18	0.899	31.5
700.2	11.36	0.884	74.5	52.57	0.993	31.5

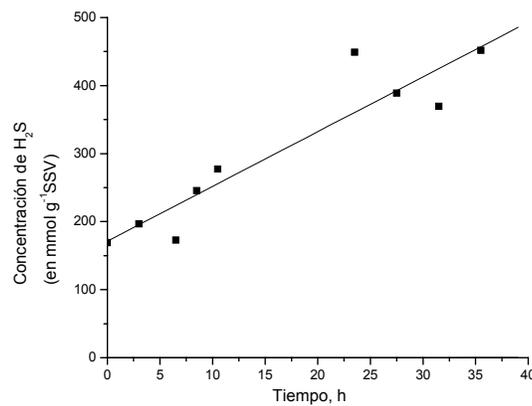
\* Fue eliminado al momento de hacer el ajuste de Monod debido a que posiblemente los artificios matemáticos empleados no lograron hacer una buena aproximación.



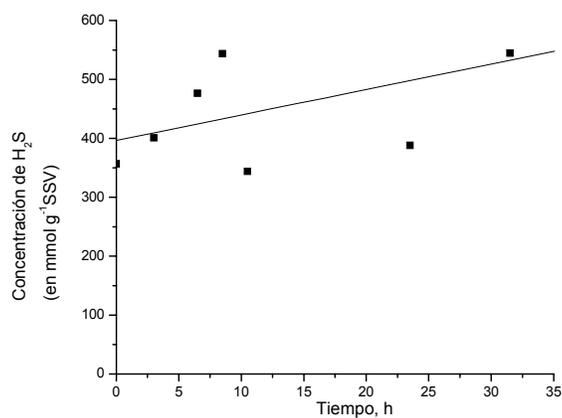
**Figura A.3.1.** Concentración específica de sulfuro con 22.7 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo JH



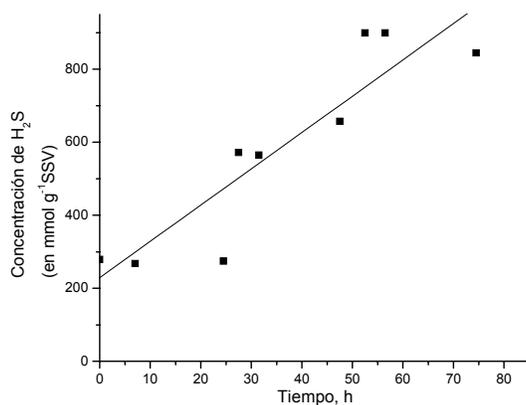
**Figura A.3.2.** Concentración específica de sulfuro con 49.7 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo JH



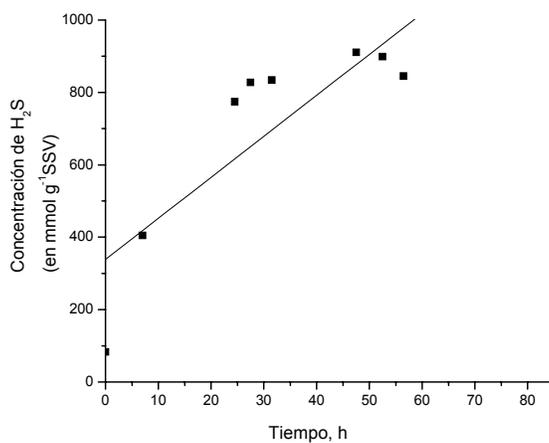
**Figura A.3.3.** Concentración específica de sulfuro con 90 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo JH



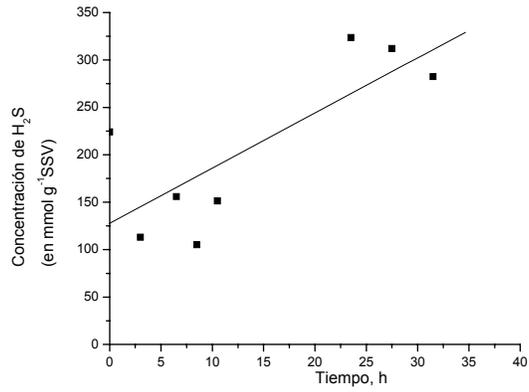
**Figura A.3.4.** Concentración específica de sulfuro con 182 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo JH



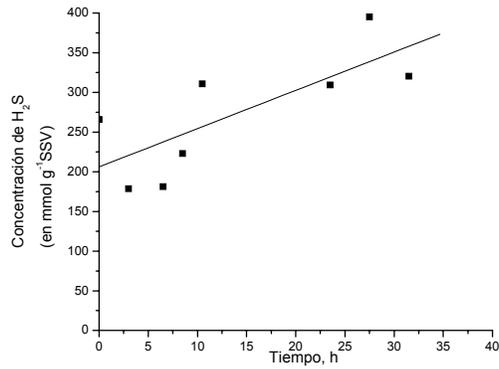
**Figura A.3.5.** Concentración específica de sulfuro con 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo JH



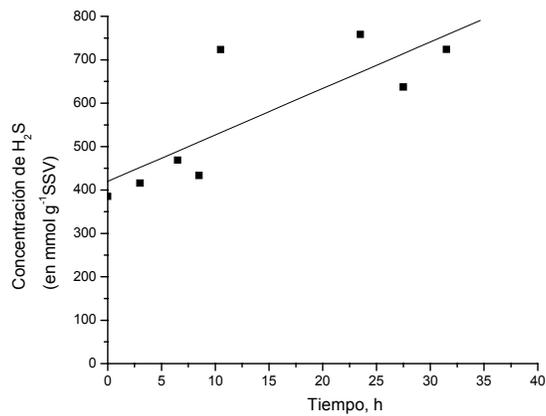
**Figura A.3.6.** Concentración específica de sulfuro con 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo JH



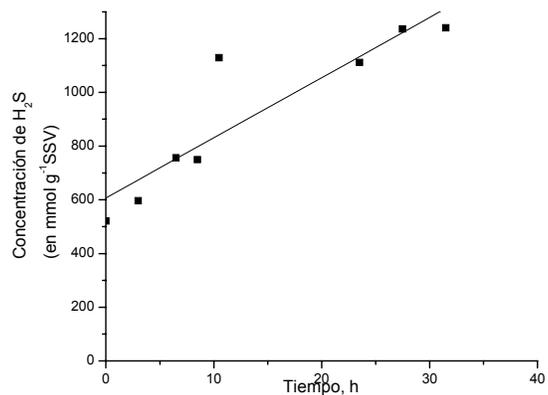
**Figura A.3.7.** Concentración específica de sulfuro con 22.7 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo M2



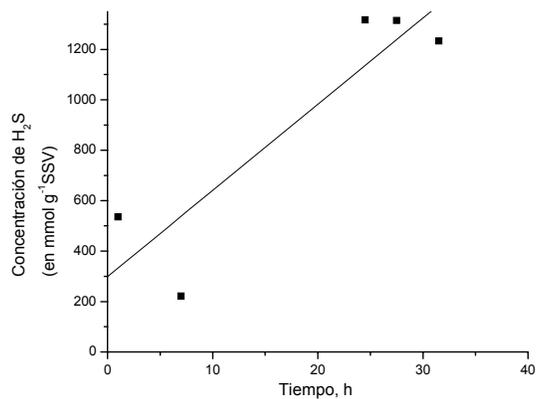
**Figura A.3.8.** Concentración específica de sulfuro con 49.7 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo M2



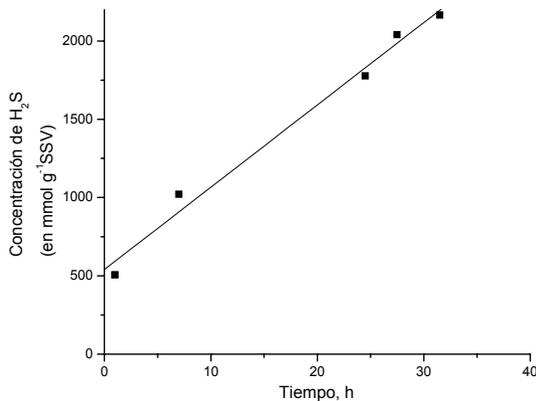
**Figura A.3.9.** Concentración específica de sulfuro con 90 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo M2



**Figura A.3.10.** Concentración específica de sulfuro con 182 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo M2



**Figura A.3.11.** Concentración específica de sulfuro con 350.1 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo M2



**Figura A.3.12.** Concentración específica de sulfuro con 700.2 mg DQO L<sup>-1</sup> para el inóculo M2

---

---

## ANEXO 4

Linealización de la ecuación de inhibición no competitiva

$$q = -\frac{q_{\max} \cdot S}{(K_s + S)\left(1 + \frac{I}{K_I}\right)}$$

Agrupando términos:

$$c = \frac{q_{\max} \cdot S}{(K_s + S)}$$

Despejando:

$$q = \frac{c}{\left(1 + \frac{I}{K_I}\right)} = \frac{c}{\left(\frac{K_I + I}{K_I}\right)} = -\frac{cK_I}{K_I + I}$$

Linealizando ecuación anterior:

$$\frac{1}{q} = -\frac{K_I + I}{cK_I} = -\frac{1}{c} - \frac{I}{cK_I}$$

Donde:

$$\text{Ordenada en el origen} = -\frac{1}{c}$$

$$\text{Pendiente (m)} = -\frac{I}{K_I c} \therefore K_I = -\frac{1}{m \cdot c}$$

## ANEXO 5

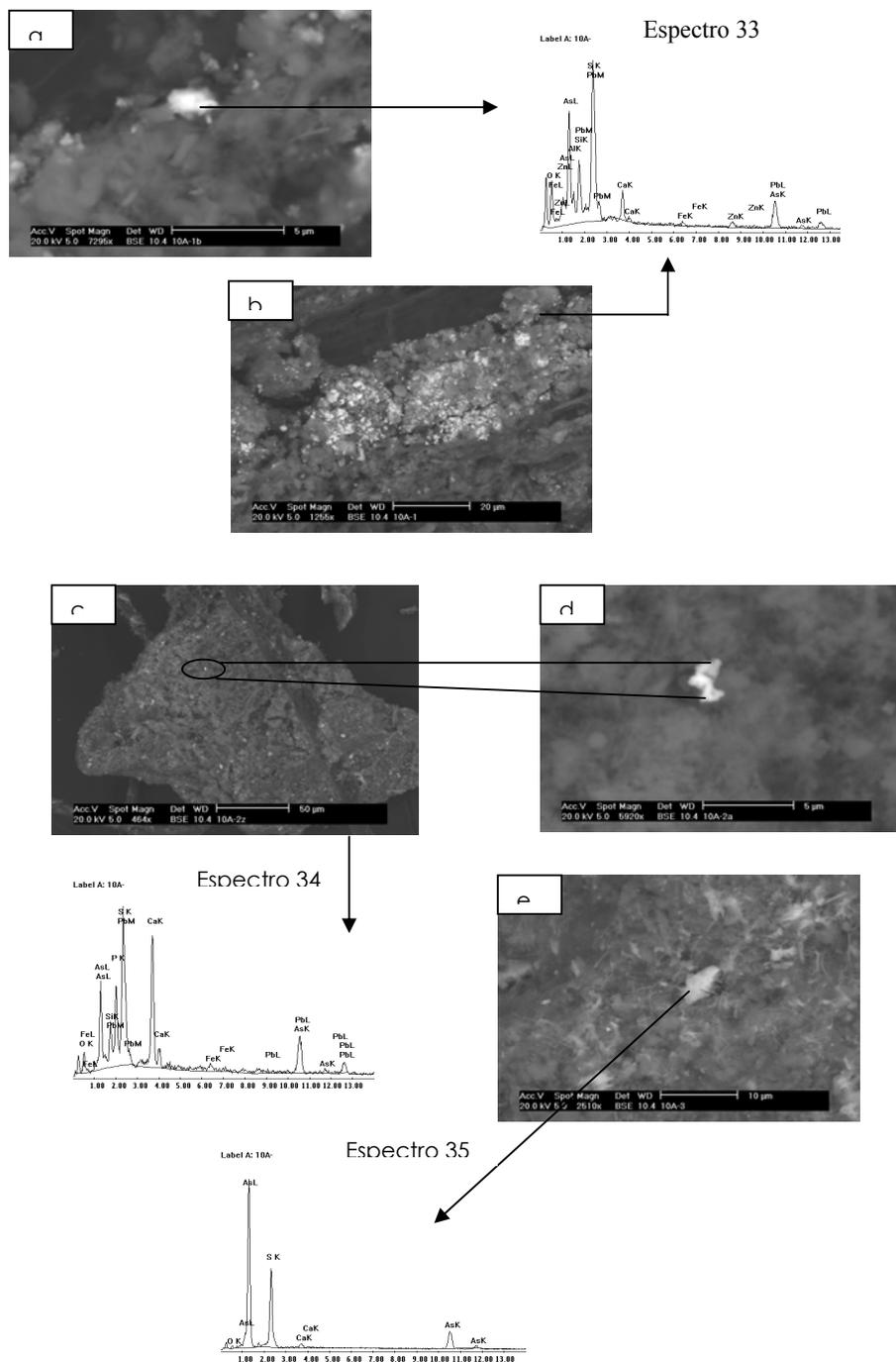
**Tabla A.5.** Resultados del microanálisis químico cuantitativo puntual, realizado por espectrometría de rayos-X (EDS) acoplado a microscopio electrónico de barrido (MEB).

Espectro	% en peso																		
	Al	As	Ca	Cu	F	Fe	K	Mg	Mn	Na	O	P	Pb	S	Si	Zn	Zr	Ti	Total
1		40.25	2.08								9.68	3.06		40.28	4.68				100
2						33.23								66.77					100
3	4.8	25.5	5.4			1.7				2.7	26.6	5.73	1.3	14	11.8	2			101.53
4	5.95	4.43	5.08			1.23					43.98		21.84	5.38	9.78	2.33			100
5	50.55		1.89								7.07			40.49					100
6	9.64		11.64								44.49		19.86	5.15	9.25				100.03
7		34.22	4.92								11.81	3.54		37.31	8.19				99.99
8		48.9												51.1					100
9		46.49									5.53			45.62	2.37				100.01
10											15.49		44.46	40.04					99.99
11						49.98								50.02					100
12			16.86								7.88		70.22	5.04					100
13			21.85	28.35		20.21					9.43			20.16					100
14		48.67				31.92					19.41								100
15		30.11	3.51			2.9			1.09		11.18				4.2	47.02			100.01
16														29.28		70.72			100
17		60.41	3.86								6.4	4.29		21	4.04				100
18						80.62					16.49				2.89				100
19		67.2									5.72			23.35	3.73				100
20														32.81		67.19			100
21		37.6	1.79			15.55					15.68					29.38			100
22		15.31	4.43			2.09					7.23		70.94						100
23		68.03									4.58			22.43	4.96				100
24	26.47		15.54			6.72		1.32			25.65	9.98		6.64		4.47			96.79
25	7.23		21.18			10.74	3.82	1.17		0.95	14.86	2.72		3.68	26.76	4.1		2.79	100
26		53.13	7.96			3.08					9.08	3.85	19.98	2.91					99.99
27														32.21		68.77			100.98
28						49.25								50.72					99.97
29	10.18					5.34	2.8	2.4			17.55				61.72				99.99

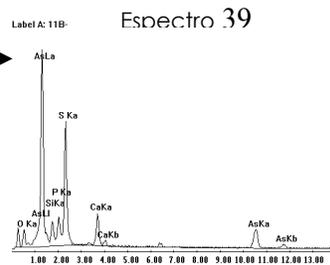
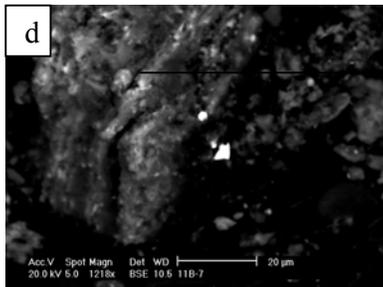
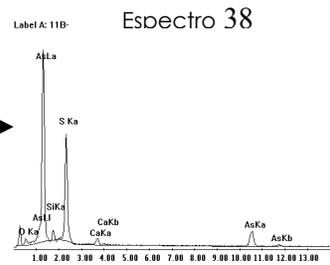
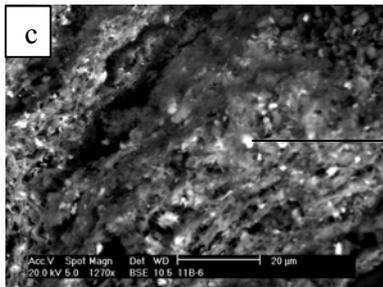
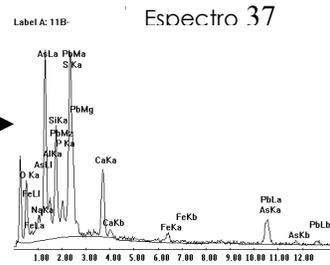
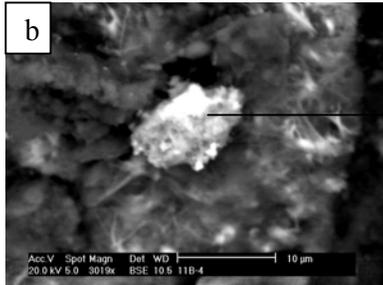
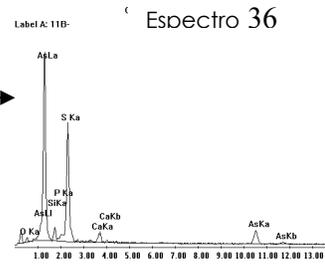
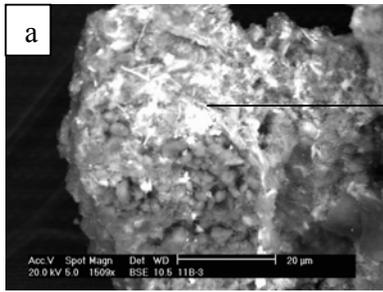
30		6.38	5.32			14.93				10.34		62.45		0.58				100
31		47.48				33.18				19.34								100
32		5.66								2.18		91.54		0.62				100
33	13.3									26.76				45.72				100
34	18.45					11.1	5.39	4.24		16.56				44.25				99.99
35	5.95	4.43	5.08			1.23				43.98		21.84	5.38	9.78		2.33		100
36		7.23	20.24			1.61				20.72	9.65	25.38	9.1	6.06				99.99
37		9.64	11.64							44.49		19.86	5.12	9.25				100
38		31.1	3.74							10.82	3.22		44.19	6.94				100.01
39	4.77	4.13	7.7			1.54			5.02	38.41	3.7	12.93	10.63	11.16				99.99
40		35.4	2.19							15.3			41.73	5.38				100
41		26.31	6.37							24.38	7.49		27.75	7.7				100
42	5.54	17.74	13.01			17.39	1.49	7.35		19.21	1.62			11.35		4.92		99.62
43										30.24				69.76				100
44	5.1		4.45			5.62		12.69		23.11				45.52		3.51		100
45										20.32				19.23			60.45	100
46		67.2								5.72			23.35	3.73				100
47													32.81			67.19		100
48				25.1		40.56							34.35					100.01
49		41.88	9.71			29.24				19.17								100
50		32.56	3.26			27.01			8.19	22.59				6.39				100
51	11.4		29.91			7.09				23.43				28.17				100
52	13.57						12.57		2.65	25.29				45.92				100
53	9.39					53.53	1.37	1.42		19.47				14.83				100.01
54	6.49		20.69			7.29		2.18		13.43	8.93		6.94	23.63	1.83	8.59		100
55										11.9				88.1				100
56		53.13	7.96			3.08				9.08	3.85	19.98	2.91					99.99
57						84.71				12.63				2.67				100.01
58		43.26	6.96			34.48				10.99	4.3							99.99
59						80.23				15.66				4.11				100
60	6.66		32.5			19.85				16.85				24.14				100
61		10.75	2.26			1.45				3.92		79.72				1.9		100
62	10.08		28.09			6.7	2.91	2.26		26.5				23.46				100
63	5.62		58.16		24.22	3.32		3.79					1.79	3.11				100.01

## ANEXO 6

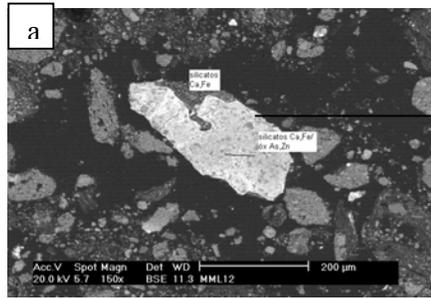
Fotomicrográficas obtenidas por MEB bajo el modo electrones retrodispersados y espectros de análisis puntuales por EDS. Del precipitado amarillo, destrucción de carbonatos y óxidos Fe-Mn para el consorcio JH y M2.



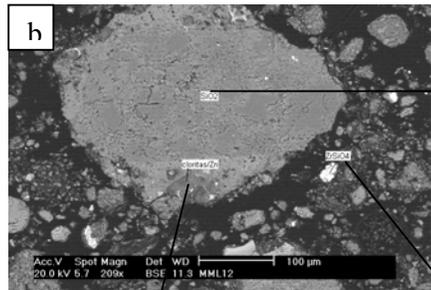
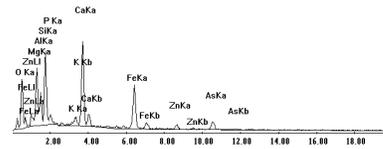
**Plantilla 9.** Precipitado formado en el consorcio JH en condición inudandada, (a, c, d e,) rejalar y (b) partículas de óxidos de Fe-As.



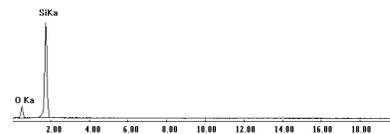
**Plantilla 10.** Precipitado formado en el consorcio M2 en condición inundada: (a, c, d) rejalgar y (b) pirita



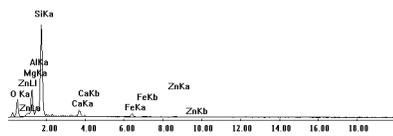
Label A: MML12 Espectro 40



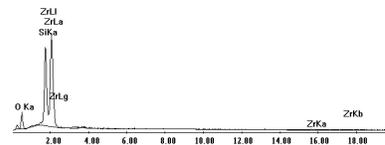
Label A: MML12 Espectro 41



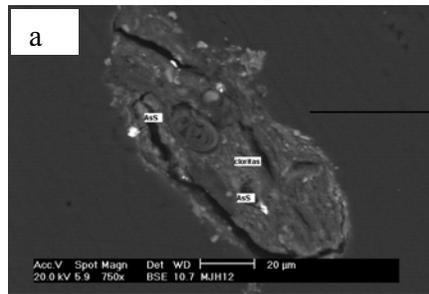
Label A: MML12 Espectro 43



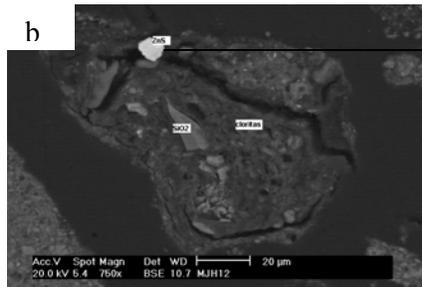
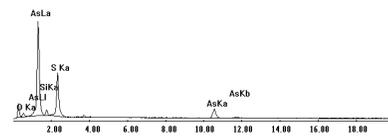
Label A: MML12 Espectro 42



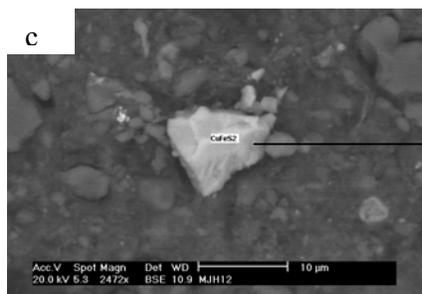
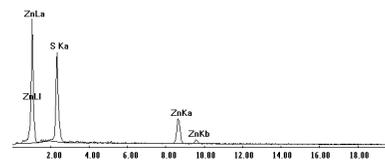
**Plantilla 11.** Residuo M3 al término de la actividad biológica para el consorcio M2. Partícula formada por silicatos Ca Fe, apatita y óxidos de calcio. Al centro se observan dos partículas blancas y brillantes ocluidas de la forma: 1) rejalgar entre los bordes de apatita y silicatos y 2) FeO ocluido en silicatos.



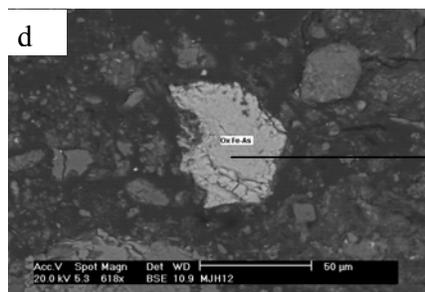
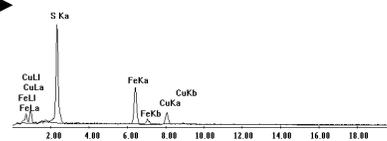
Label A: MJH12 Espectro 44



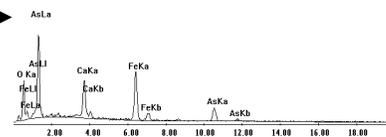
Label A: MJH12 Espectro 45



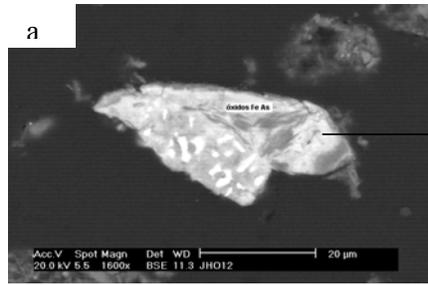
Label A: MJH12 Espectro 46



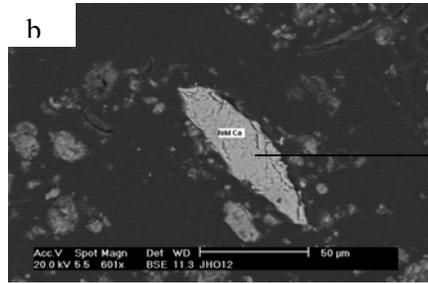
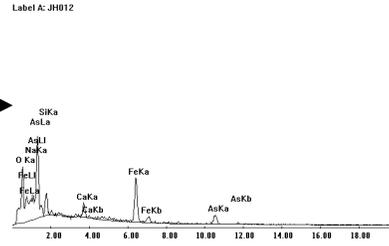
Label A: MJH12 Espectro 47



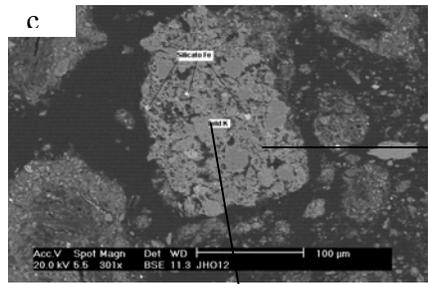
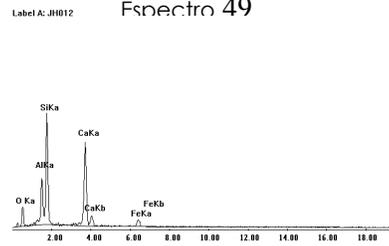
**Plantilla 12.** Residuo M3 después de destrucción de carbonatos para JH. Se observan abundantes partículas de este tipo: las zonas oscuras corresponden a una mezcla de cloritas y apatita íntimamente asociadas a sílice. Dentro de la partícula y en forma de oclusión se observan en (a) y (b), color blanco, que analizan sulfuro de arsénico y en (c) y (d) gris claro estalerita. Óxidos de calcio muy entremezclados con clorita y apatita. Las zonas blancas corresponden a óxidos de Fe – As – Zn y alrededor se presenta sílice



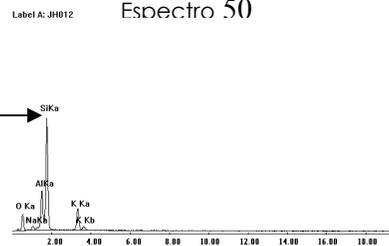
Espectro 48



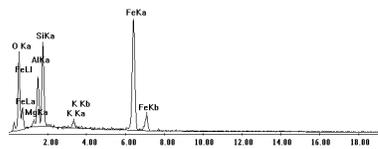
Espectro 49



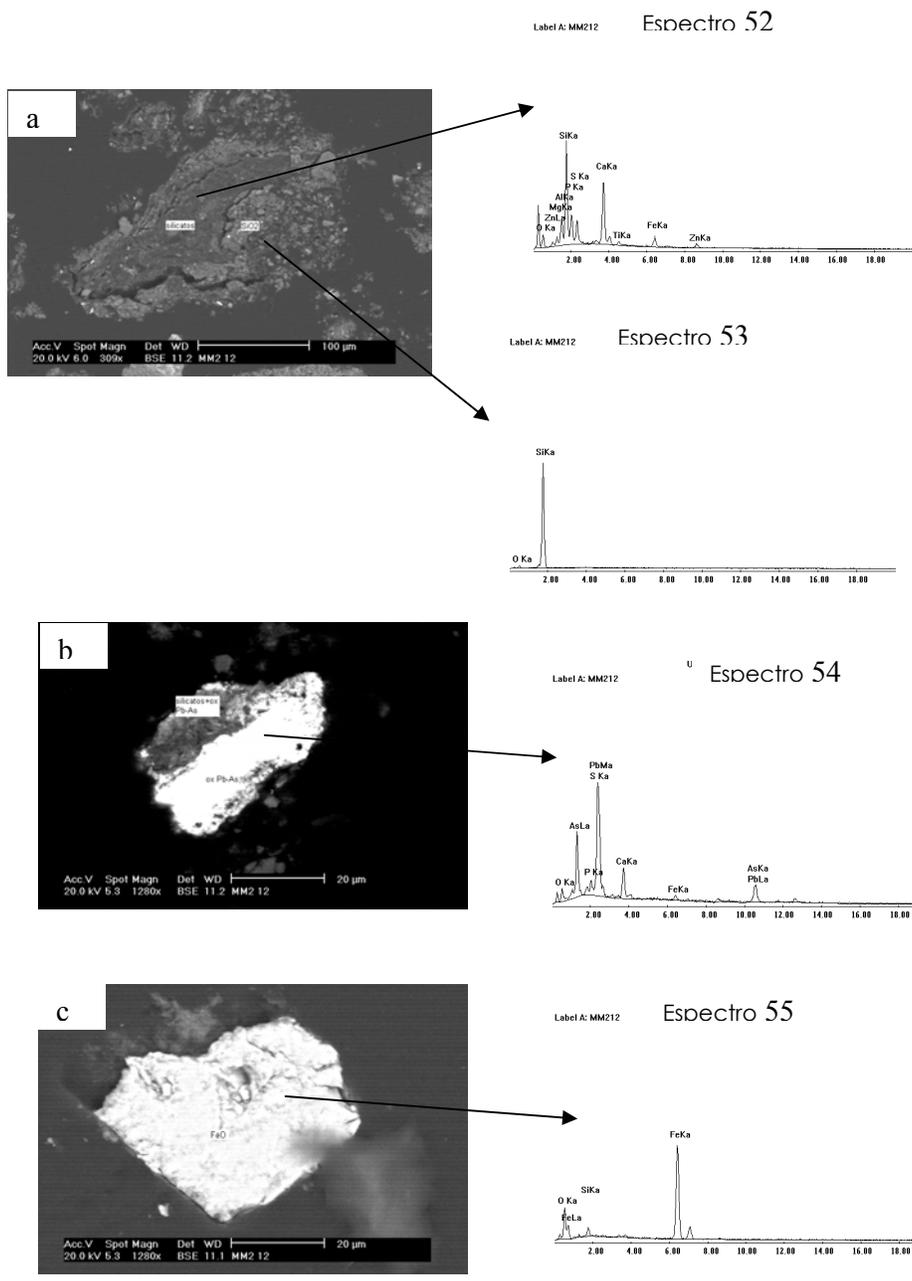
Espectro 50



Espectro 51

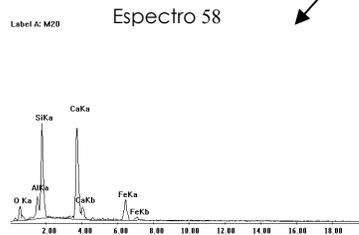
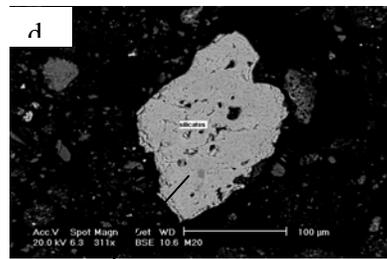
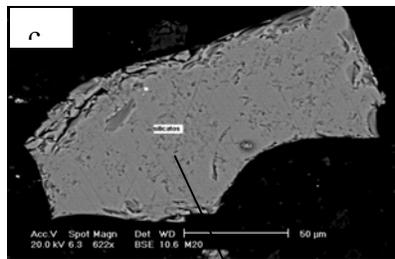
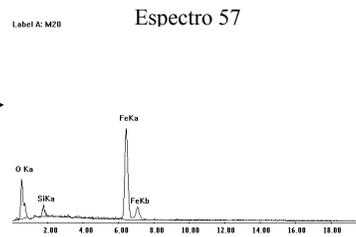
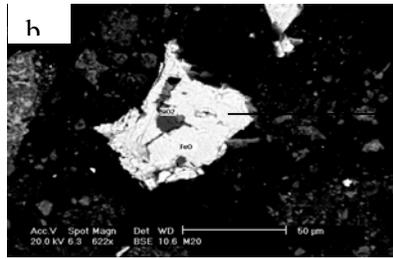
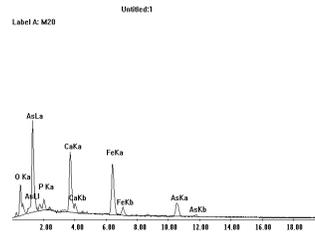
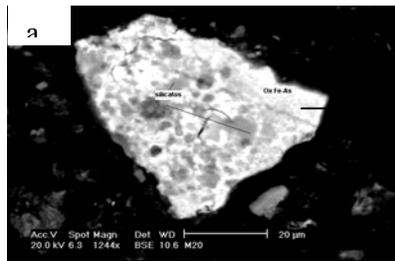


**Plantilla 13.** Residuo M3 después de destrucción de óxidos para JH. Esfalerita asociada en óxidos de Fe – As. Se observan en estos últimos contenidos de S en solución sólida. Partícula formada por dos fases: zonas grises que analizan óxidos de Fe – As y zonas blancas, sulfatos de Fe – As. Óxidos de Pb – Fe – As asociados a sílice y calcopirita.

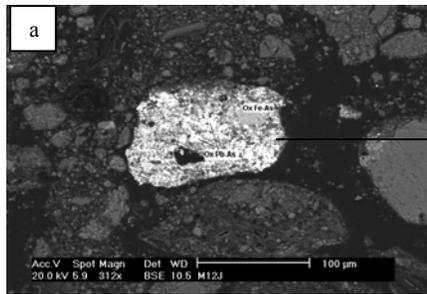


**Plantilla 14.** Residuo M3 después de destrucción de carbonatos para M2. La zona más oscura analiza silicoaluminatos de Ca, Fe con contenidos de S, P K, Ca, Fe y Zn que pueden ser constituyentes de apatita y de sulfuros de zinc. Se observa también presencia de caolinita. Las partículas blancas y brillantes analizan óxidos de Fe – Zn analizan óxidos de Pb – As.

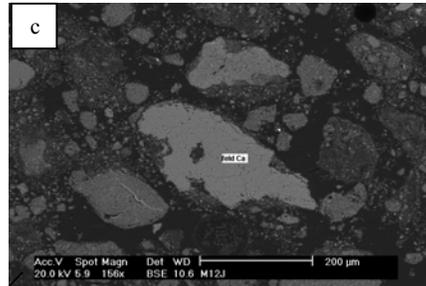
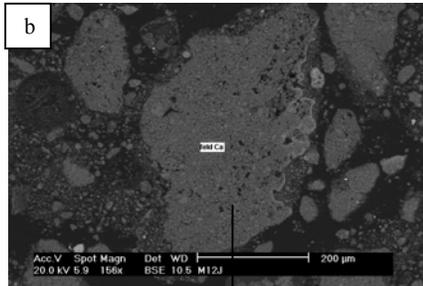
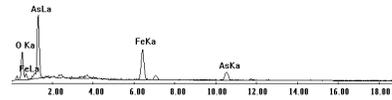
Espectro 56



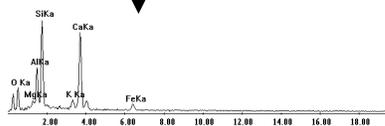
**Planilla 15.** Residuo M3 después de destrucción óxidos para M2. Óxidos de hierro – arsénico entre mezclados con silicatos de Ca, Fe. Las zonas blancas presentan más contenidos de arsénico. Óxidos de hierro – arsénico; (a) asociados a sílice y (b) asociados a óxidos de plomo – arsénico. Feldespatos con oclusiones de ilmenita. Silicatos del tipo de las cloritas entremezclados con feldespatos K. Se observa oclusión de óxido de Pb – As.



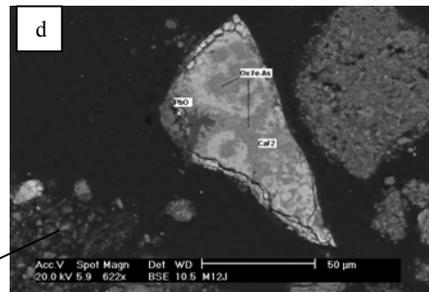
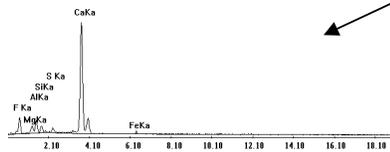
Label A: M12J **Espectro 59**



**Espectro 60**



Label A: M12J **Espectro 61**



**Plantilla 16.** Residuo M3 al término de la actividad biológica para el consorcio JH. Partícula formada por silicatos Ca Fe, apatita y óxidos de calcio: (a) óxidos Fe-As; (b y c) feldespatos de calcio y (d) óxidos Fe-As con incrustaciones de fluorita.

## ANEXO 7

Difractogramas del residuo M3 antes y después de someterlo a actividad biológica y destrucción de CAR y OFM.

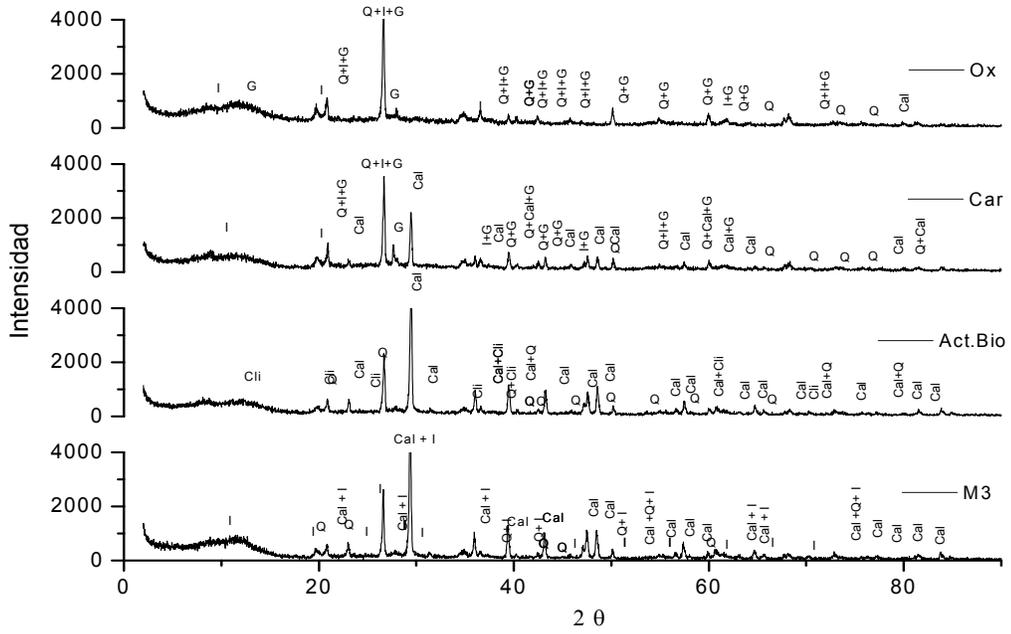


Figura A.7.1. Difractograma del consorcio JH empleando 1% de humedad.

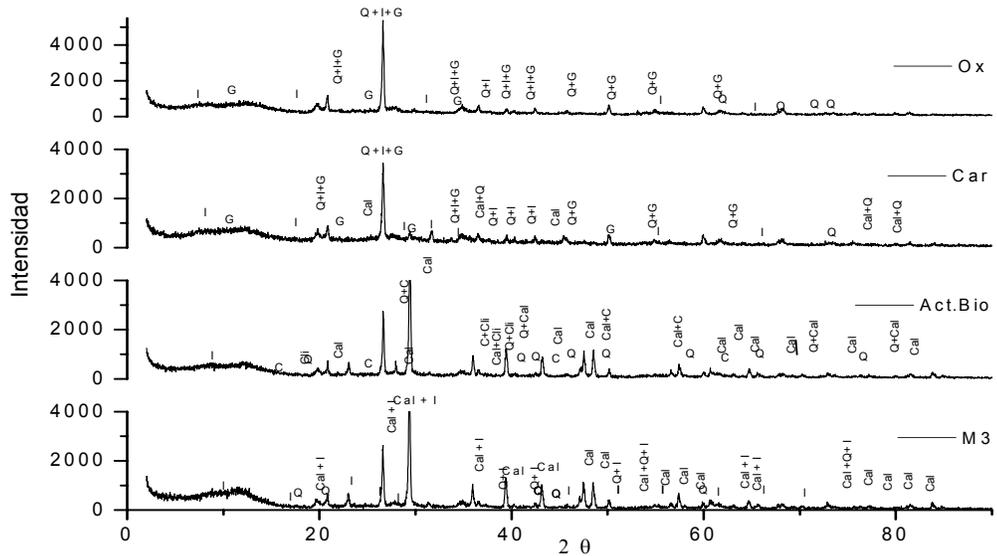


Figura A.7.2. Difractograma del consorcio M2 empleando 1% de humedad.



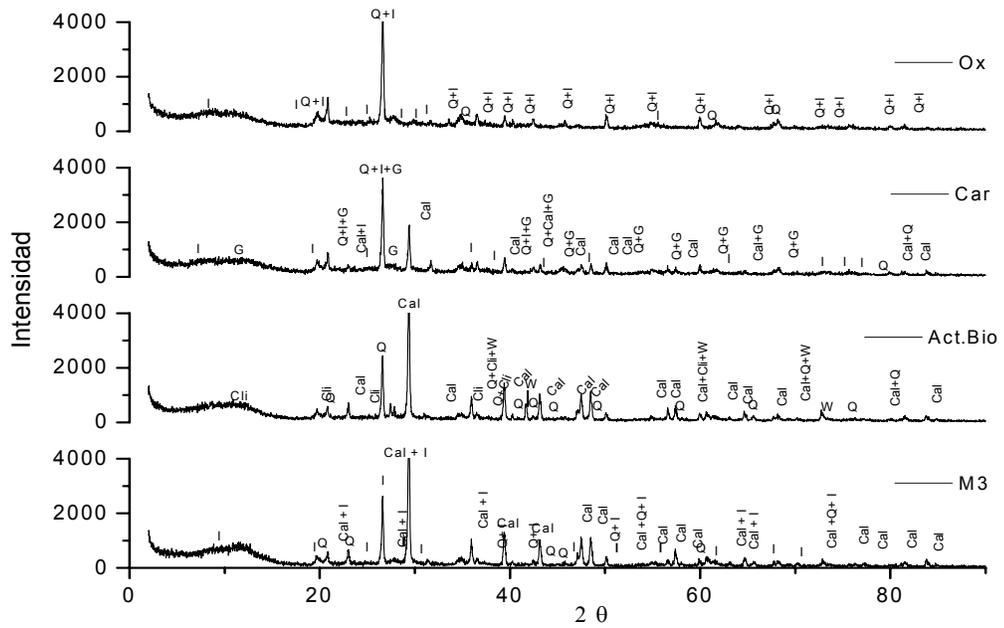


Figura A.7.5. Difractograma del consorcio JH empleando 70% de humedad.

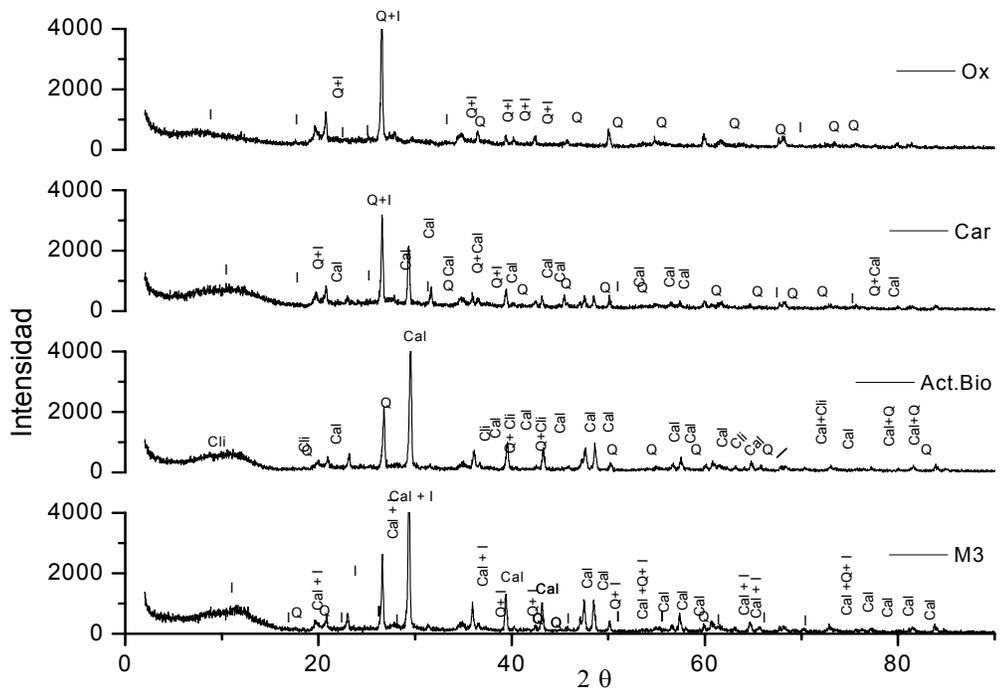


Figura A.7.6. Difractograma del consorcio M2 empleando 70% de humedad.

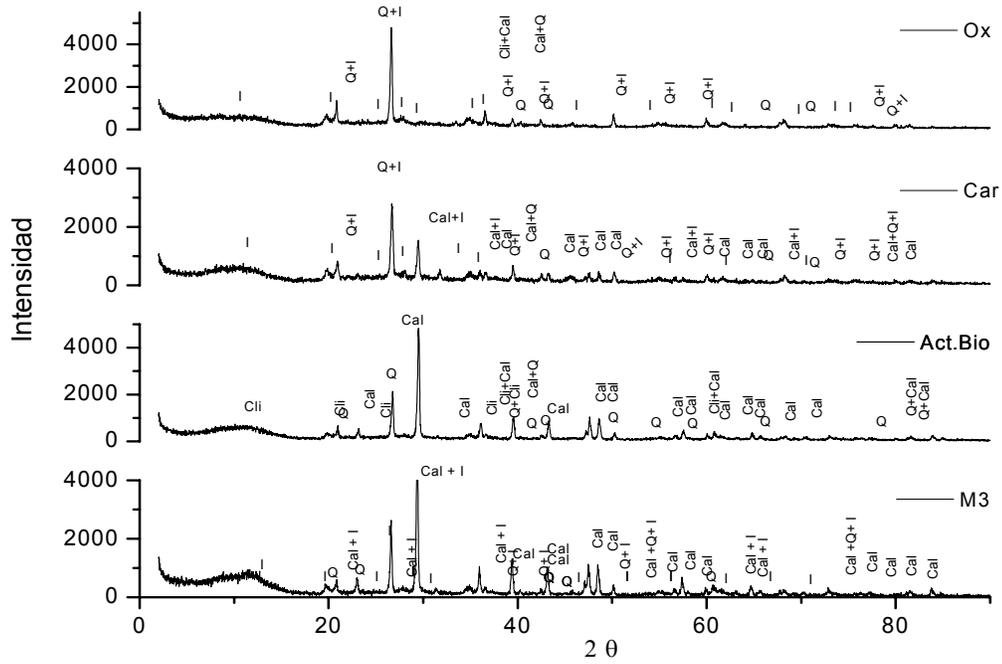


Figura A.7.7. Difractograma del consorcio JH empleando el sistema inundado.

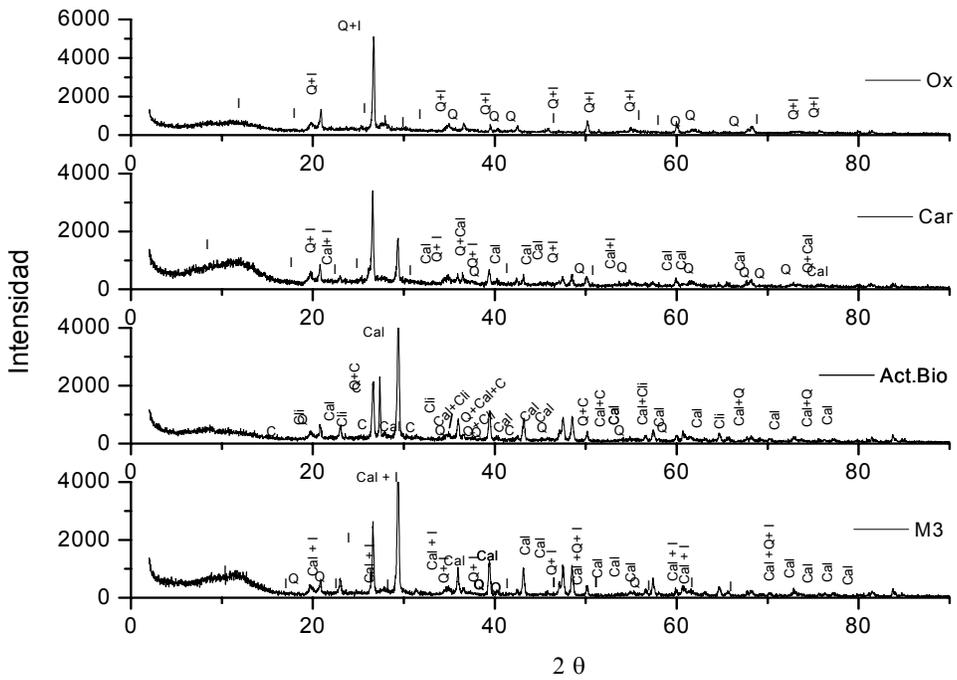


Figura A.7.8. Difractograma del consorcio M2 empleando el sistema inundado.

