

1. Introducció

La intel·ligència és una maquineta més o menys complicada que forneix tota mena d'arguments a favor de les nostres més insignificants ximpleries

Josep Pla

1.1.- LA CONTAMINACIÓ DE LES AIGÜES SUBTERRÀNIES

En les dues últimes dècades hi ha hagut una consciència pública creixent del perill potencial que representa per al medi ambient la contaminació de les aigües subterrànies, i les consegüents repercussions per als ecosistemes aquàtic i terrestre.

Les fonts més comunes de contaminació de les aigües subterrànies estan associades a activitats d'exploració mineres, pràctiques agrícoles intensives, emmagatzematge de residus, abocaments per part d'activitats industrials, entre d'altres. Els agents contaminants poden ser diversos, essent els més habituals metalls i anions inorgànics i compostos orgànics com ara plaguicides, detergents, dissolvents clorats i hidrocarburs.

Els contaminants orgànics són més o menys biodegradables i, excepte alguns casos recalcitrants (com les dioxines), es descomponen seguint un procés de mineralització fins a formar eventualment espècies inorgàniques innòcues. El problema més greu és el que presenten els metalls pesants i alguns elements no metalls, que són persistents de manera irreversible. La descontaminació dels metalls pesants és un problema complex, atès que són elements químics i no es poden destruir ni descompondre en d'altres components no tòxics.

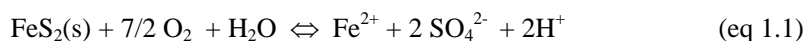
1.1.1.-Les aigües àcides de mina (AAM)

La contaminació de les aigües superficials i subterrànies representa el problema mediambiental més greu a què s'ha d'enfrontar la indústria minera, especialment en països amb una intensa activitat extractiva com ara el Canadà, els EEUU, Austràlia o Sud-Àfrica, a causa de les denominades per la seva naturalesa **aigües àcides de mina (AAM)**, també conegudes per l'abreviació del seu nom anglès *acid mine drainage* AMD), generades en les etapes de processament (flotació, decantació, filtració) i sobretot com a resultat de la lixiviació dels residus finals dipositats a les basses d'emmagatzematge, en mines en funcionament o bé ja abandonades (Younger *et al.*, 2002; Bortnikova *et al.*, 2001; Gray, 1996).

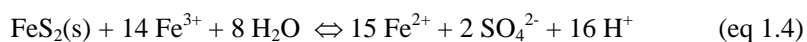
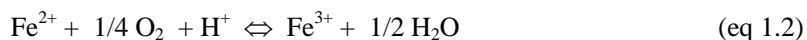
Els dipòsits minerals que contenen sulfurs metàl·lics són una font potencial d'AAM. D'entre aquests, la pirita (FeS_2) -el sulfur més abundant a l'escorça terrestre i el de distribució més àmplia- té una gran rellevància ja que afecta pràcticament la totalitat de les explotacions mineres. Altres sulfurs que poden generar AAM, si bé en menor mesura, són l'esfarelita (ZnS), la calcopirita (CuFeS_2), l'arsenopirita (FeAsS), la galena (PbS) i la calcocita (Cu_2S). Són també una font potencial d'AAM els dipòsits de carbó amb elevats continguts en sofre, especialment al centre i nord d'Europa i la Gran Bretanya.

L'exposició d'aquests materials -inicialment soterrats i en equilibri amb el seu entorn- als agents atmosfèrics dona lloc a la lixiviació de grans quantitats d'elements químics que modifiquen substancialment el medi. Aquests agents atmosfèrics, com l'oxigen, la temperatura i l'aigua, ajudats per tota una sèrie de bacteris, són capaços de disgregar roques i minerals, i d'aquesta manera alliberar-ne els diferents elements químics.

Així, la pirita, en entrar en contacte amb l'aire, com ocorre en les excavacions mineres, reacciona lentament amb l'oxigen i l'aigua segons la reacció següent (Förstner i Wittmann, 1979; Stumm i Morgan, 1996; Wunderly *et al.*, 1996):



que prossegueix en una sèrie de reaccions ben conegudes:



La reacció d'oxidació de Fe^{2+} (eq 1.2) ve accelerada dràsticament pels bacteris quimiolitotròfics *Thiobacillus ferrooxidans*. Per a altres sulfurs diferents a la pirita, reaccions similars poden alliberar As, Cd, Cu, Ni, Hg, Pb, Zn, U... (Robl, 1994; Stumm i Morgan, 1996; Wunderly *et al.*, 1996).

El resultat d'aquest conjunt de reaccions químiques és una aigua fortament contaminada, amb una elevada acidesa ($\text{pH} < 4$), alts continguts de SO_4^{2-} (entre 100 i 7000 mg dm^{-3}) i quantitats variables de ions metàl·lics (Fe, Zn, Cd, Cu, Pb...). En aquestes noves condicions d'acidesa i d'oxidació-reducció, les AAM poden escórrer-se pel sòl i els elements químics poden viatjar molt lluny amb les aigües superficials o subterrànies, amb les consegüents repercussions per als ecosistemes aquàtics i terrestres.

En els sistemes d'aigües subterrànies, els metalls poden aparèixer en forma dissolta o com a partícules sòlides en suspensió. En la fase dissolta poden presentar-se en forma de ions metàl·lics simples o complexos i, en general, donen lloc a un elevat nombre d'espècies iòniques, que compliquen enormement l'estudi hidrogeoquímic del comportament dels metalls (Freedman *et al.*, 1994; Filius *et al.*, 1998; Hesterberg, 1998; Al *et al.*, 2000). D'altra banda, el transport dels metalls en el medi aquàtic és afectat per processos tant de caràcter químic i bioquímic com hidrodinàmic. Els primers inclouen reaccions de dissolució/precipitació, coprecipitació, oxidació-reducció, adsorció, reaccions de floculació -associades a formes col·loïdals- metabolisme microbià... que dependran de les condicions del sistema, és a dir, del pH, el potencial redox, el potencial iònic, la mineralogia, la superfície específica de la fase sòlida i la seva capacitat de complexació, la velocitat de flux de l'aqüífer, els temps de contacte

fase sòlida-fase líquida... Els segons inclouen aquells processos lligats a la dinàmica del fluid, com són el transport advection, la dispersió mecànica i la dispersió molecular. Si ja els processos químics i els processos hidrodinàmics són de per si complicats, la interrelació entre ells contribueix que sigui difícil establir models per predir l'evolució dels contaminants en els sistemes d'aigües subterrànies (Ehrlich, 1990; Stumm i Morgan, 1996; Kimball *et al.*, 1994).

L'impacte ambiental de les AAM és potencialment enorme, no només per la naturalesa de les aigües, sinó també per les grans quantitats que se n'han produït i que poden ser produïdes. En sistemes amb poca capacitat amortidora del pH, com ara zones amb sòls pobres en carbonats, els metalls dissolts poden ser transportats durant llargues distàncies i l'amenaça per al medi ambient és especialment gran (Gray, 1996; Förstner i Wittmann, 1979).

1.1.2.- Mètodes de tractament per a les AAM

El tractament de la contaminació de les aigües superficials o subterrànies per AAM pot ser molt difícil si no s'ha planificat des d'un bon començament. Bàsicament, hi ha dues maneres d'abordar la problemàtica: impedir l'oxidació de sulfurs a la mateixa bassa d'emmagatzematge o recollir les AAM generades per al posterior tractament.

Quant a la prevenció de l'oxidació de sulfurs, s'han proposat diverses maneres per reduir el contacte entre la FeS_2 i l'oxigen atmosfèric, principalment la submersió dels residus miners pirítics en aigua o la deposició de residus orgànics com a capa consumidora d'oxigen, que promouria a més una revegetació. Però si bé aquest mètode aconsegueix que efectivament la concentració d'oxigen dissolt en els lixiviats sigui negligible, no evita un alt contingut de sulfats ni una elevada acidesa. Aquest fet pot ser degut a l'oxidació de FeS_2 a la zona insaturada, o al transport de productes oxidants. És per això que la prevenció de l'oxidació de sulfurs s'ha de considerar com una mesura complementària, que ha d'anar acompanyada d'altres accions més efectives.

Sota condicions d'operació controlades, i sempre i quan s'hagi previst un sistema de drenatge en el disseny de la bassa de residus, la recol·lecció de les AAM és relativament fàcil, de manera que es poden depurar i introduir de nou al sistema d'aigües superficials. En aquest cas, les AAM extretes de la bassa es condueixen a llacunes impermeabilitzades o a plantes per al posterior tractament *ex-situ*, on els metalls pesants són immobilitzats i/o concentrats per poder-los abocar de forma més controlada o recuperar-los per a l'ús industrial. El tractament químic consisteix bàsicament en l'ajust del pH, mitjançant l'addició d'un agent de caràcter bàsic (Ca(OH)_2 , NaOH , CaCO_3 o Na_2CO_3), per precipitar els metalls de la solució com a (oxi)hidròxids o carbonats insolubles. Els metalls també es poden precipitar com a sulfurs, que són afegits al sistema, juntament amb un agent alcalí com els acabats de mencionar, en dissolució aquosa (Na_2S , NaHS) o gasosa (H_2S) (Christensen *et al.*, 1996; Hammack *et al.*,

1994). Els sulfurs metàl·lics ofereixen l'avantatge de ser generalment menys solubles que no pas els seus corresponents hidròxids i carbonats, a més de ser més compactes i tenir velocitats d'assentament més ràpides (Hammack *et al.*, 1994). Malgrat això, l'increment de cost dels reactius a base de sulfurs sobre els òxids o hidròxids de Ca o Na sol ser també un inconvenient important (Hammack *et al.*, 1994; Hammack i Edenborn, 1992). A fi d'abaratir costos, el sulfur pot ser generat mitjançant l'ús de **bacteris sulfato-reductors (BSR)**, que actuen sobre compostos orgànics i sulfats provinents de les mateixes AAM segons la reacció següent:



on CH_2O representa de forma genèrica una molècula orgànica. Cal recalcar que en presència de metalls contaminants l'efecte és doblement bo, perquè els sulfurs poden precipitar-hi i eliminar-los de la dissolució.

Tanmateix, hi ha diversos factors que limiten la viabilitat d'un tractament *ex situ* com l'acabat d'exposar. En primer lloc, la recollida dels lixiviats de la bassa d'emmagatzematge pot ser molt difícil si no s'ha establert un sistema de drenatge en el disseny de la bassa. Aquest és el cas d'un gran nombre de mines, en funcionament o ja abandonades, que van començar a operar en un temps en què les normatives legals no eren tan restrictives com avui dia. En segon lloc, el transport de les aigües contaminades cap a l'indret de tractament *ex situ* comporta uns importants costos addicionals que el poden fer difícil d'aplicar. Per últim, i potser com a factor més important, el possible aïllament defectuós de la bassa de residus pot produir la infiltració de les AAM als sòls i aqüífers propers. Si bé a les mines modernes aquest problema es resol mitjançant sistemes més o menys complexos d'impermeabilització, que garanteixen que la càrrega contaminant dels residus quedi controlada i aïllada de forma segura del medi ambient, a les mines antigues s'ha observat que la manca d'aquests sistemes provoca la filtració de les AAM als sòls adjacents i la consegüent contaminació de les aigües subterrànies.

El tractament d'aquestes aigües subterrànies ha generat un gran interès en el camp de la biotecnologia ambiental, i tot i que els mètodes estudiats són diversos, només uns pocs han assolit aplicació pràctica. D'aquests, el més desenvolupat per al tractament d'aigües subterrànies contaminades per AAM consisteix en l'extracció de l'aigua mitjançant bombeig, el posterior tractament en superfície i la introducció de l'aigua tractada a l'aqüífer. Si bé l'ús d'un reactor és eficaç en termes de control, aquest mètode implica l'extracció de grans quantitats d'aigua que el fa molt costós en termes d'operació (Diels *et al.*, 2002).

És per això que més darrerament s'ha investigat altres tècniques *in situ* més viables, generalment basades en el manteniment dels contaminants en el mateix subsòl, però reduint-ne el risc associat a la seva presència. Aquesta reducció de risc es basa en una disminució de la biodisponibilitat per processos d'immobilització *in situ*.

Un mètode estudiat avui dia és el que es basa en la injecció des de la superfície d'additius al subsòl, per promoure processos químics i/o biològics capaços d'immobilitzar els metalls presents a l'aigua subterrània (Diels *et al.*, 2002; Levin i Gealt, 1997). Però la tècnica que més interès ha despertat en els últims anys és el tractament del plomall contaminat mitjançant **barreres permeables reactives (BPR)**, que prometen ser una alternativa efectiva i barata als mètodes tradicionals *ex situ* (Blowes i Ptacek, 1994; Blowes i Ptacek, 1996). La tecnologia de les BPR és relativament moderna (les referències més antigues no tenen més d'una dècada, sense precedents a Europa fins la instal·lació de la BPR a Aznalcóllar), però l'experiència adquirida en aquest camp està creixent i ofereix moltes perspectives en el futur (Blowes *et al.*, 2000; Benner *et al.*, 1997; Benner *et al.*, 1999).

1.2.- LES BARRERES PERMEABLES REACTIVES (BPR)

1.2.1.- Introducció

L'única forma de prevenir i combatre la contaminació de les aigües subterrànies és conèixer els possibles camins a recórrer pels contaminants, a partir de condicionaments geològics, hidràulics i químics. Aquest és el fonament en què es basa la tècnica correctiva de les **barreres permeables reactives (BPR)**.

Una BPR consisteix en la instal·lació d'un material reactiu apropiat en l'aquífer, capaç d'induir reaccions i/o processos físico-químics i biològics que eliminin les espècies contaminants de l'aigua quan aquesta circula a través seu. Aquests processos engloben reaccions químiques de dissolució/precipitació, adsorció, co-precipitació, oxidació-reducció, metabolisme microbià... (Blowes *et al.*, 1997; Blowes *et al.*, 2000; McMahon *et al.*, 1999). La Figura 1.1 mostra l'esquema d'una BPR.

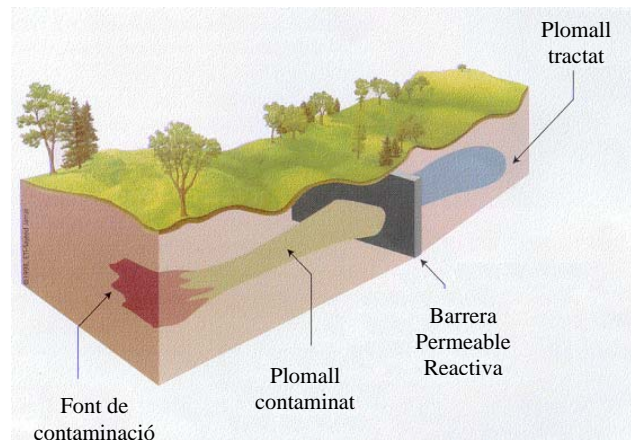


Figura 1.1: Esquema d'una BPR per a la descontaminació d'aigües subterrànies.

El material per a una BPR ha de satisfer els següents criteris (Blowes *et al.*, 2000; Waybrant *et al.*, 1998; Amos i Younger, 2003):

- * químics: ha de ser prou reactiu per reduir les concentracions de les espècies contaminants;
- * hidrodinàmics: ha de ser prou permeable per permetre el pas de l'aigua a través de la barrera, tenint en compte que tant el consum del material reactiu com la precipitació de sòlids, la generació de gas, l'inflament dels minerals argilosos o el creixement microbiològic poden alterar-ne la permeabilitat;
- * de durabilitat: ha de mantenir la seva reactivitat i permeabilitat durant un llarg període de temps, idealment d'anys o dècades;
- * econòmics: ha de ser barat i fàcilment disponible en la zona on s'hagi d'instal·lar la barrera, atès que l'execució d'aquest tipus de projectes es mou en l'escala de milers d'euros.

Per al disseny d'una BPR, és imprescindible dur a terme una caracterització prèvia de la zona on hagi de ser instal·lada (localització i extensió del plomall contaminant, concentració inicial del contaminant present i concentració que es vol assolir, mineralogia de l'entorn, direcció i velocitat de flux de les aigües subterrànies, conductivitat hidràulica i permeabilitat del sòl, geoquímica, microbiologia del sistema, característiques climatològiques), així com la realització d'experiments preliminars a escala de laboratori per a l'avaluació del material escollit i la determinació d'aquells paràmetres (reactivitat, permeabilitat, requeriments de temps de residència...) necessaris per al seu disseny (www.prb-net.org; Scherer *et al.*, 2000; Eykholt *et al.*, 1999; Gavaskar *et al.*, 1999). Abans de començar el projecte d'instal·lació d'una BPR, és important també establir els procediments de control que es duran a terme per avaluar el funcionament de la barrera (períodes, punts i duració dels mostreigs).

La tecnologia de les BPR és un tractament passiu, en el sentit que un cop instal·lada la barrera els costos d'operació són mínims. Els estalvis econòmics derivats de la falta de bombeig, transport, control de reactors, etc. la presenten, així, com una alternativa molt beneficiosa als tractaments *ex situ*. No obstant això, la tècnica de les BPR comporta una pèrdua de control sobre els factors ambientals, les variacions de les condicions operatives, o els microorganismes que puguin interreaccionar amb el material reactiu. Aquesta dinàmica inherentment incerta d'una BPR, afegida a l'escassetat de referents -com ocorre amb les instal·lades per a la correcció d'AAM-, fa que actualment sigui extremadament difícil predir-ne el funcionament.

Les BPR tenen una capacitat finita de tractament. La vida de la barrera està limitada per les seves característiques químiques (massa inicial de material reactiu, capacitat de mantenir la reactivitat al llarg del temps) i hidrodinàmics (pèrdua de permeabilitat). Un cop exhaurida la capacitat de tractament o reparats els danys que en van causar la instal·lació, pot ser necessari excavar-la i tractar el material com a residu sòlid, o bé pot deixar-se indefinidament dins l'aquífer si dins la barrera es mantenen les condicions tals que no es preveu cap remobilització dels metalls. La instal·lació recent i el caràcter experimental de moltes de les barreres en funcionament, en particular per a aquífers afectats per AAM, no permeten encara predir les actuacions a llarg termini.

1.2.2.- Estat de la tecnologia de BPR a l'actualitat

Ja s'ha dit que la tècnica de les BPR és relativament moderna. La tècnica arranca l'any 1991 amb la instal·lació d'una BPR a escala pilot a Ontario (Canadà), per al tractament d'aigües subterrànies contaminades amb dissolvents orgànics. Ben aviat es diversifiquen les aplicacions de les BPR i comencen a implantar-se'n també per a l'eliminació d'altres contaminants, principalment espècies inorgàniques (Scherer *et al.*, 2000; www.prb-net.org).

A data de l'any 2004 es compten al món 46 BPR en funcionament (www.prb-net.org, Scherer *et al.*, 2000; Carrera *et al.*, 2001). D'aquestes, 23 són per a la descontaminació de dissolvents clorats, 12 per a metalls i anions inorgànics, 2 per a hidrocarburs, 3 per a radionúclids (U, Tc), i 6 per a altres compostos orgànics. Els Estats Units i el Canadà reuneixen més del 90% del total de les BPR instal·lades, mentre Europa el restant quasi 10%. Les BPR per a dissolvents clorats (bàsicament tricloroetè -TCE- i tetracloroetè -PCE) són les pioneres en aquesta tècnica i les més ben estudiades, essent només unes poques les utilitzades per eliminar espècies inorgàniques com metalls i anions inorgànics.

La Taula 1.1 mostra un llistat dels projectes, la majoria encara en fase d'estudi al laboratori, que s'estan duent a terme avui dia sobre el tractament d'aigües contaminades per

espècies inorgàniques per a aplicacions a BPR, ordenats segons el procés en què es basa l'eliminació de les espècies contaminants. Aquests processos són els següents:

- Sorció: la retenció del contaminant inorgànic (usualment cations metàl·lics) s'aconsegueix via la partició del metall entre la fase aquosa i el material reactiu, on les espècies polars com els cations metàl·lics tendeixen a sorbir-se per reaccions de bescanvi iònic i sobretot de complexació en superfície. Òbviament, el bon resultat del tractament depèn en última instància de la capacitat del material a sorbir l'espècie contaminant considerada. Els materials reactius proposats fins al moment són les zeolites (Bowman *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 1989), els materials húmics (Gosset *et al.*, 1986; Morrison and Spangler, 1992) i els òxids (sobretot (oxi)hidròxids amorfs) (Zachara *et al.*, 1987; Morrison and Spangler, 1992), tots ells utilitzats satisfactòriament per a l'eliminació per sorció de diversos metalls de transició.
- Precipitació: l'eliminació de metalls de l'aigua contaminada s'acompleix per precipitació per excés del límit de solubilitat. Generalment, i tal com hem vist a l'apartat 1.1.2., el material reactiu consisteix en un agent de caràcter bàsic (CaCO_3 , MgO o hidroxiapatita), capaç d'ajustar el pH i precipitar els metalls presents a la dissolució en forma d'(oxi)hidròxids o carbonats (Hedin *et al.*, 1994; Cortina *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 1997).
- Reducció química i precipitació: implica una reacció redox i una posterior precipitació de l'espècie contaminant. En la majoria de BPR instal·lades de descontaminació d'aigües contaminades amb espècies inorgàniques, el material reactiu és el Fe^0 . Lús preponderant del Fe^0 es deu a la seva gran efectivitat i disponibilitat, tot i que els mecanismes de la seva activitat no són encara del tot coneguts. Exemples de la seva efectivitat són l'eliminació de CrO_4^{2-} (contaminant habitual, particularment en àrees industrialitzades) en forma de precipitats de $\text{Cr}(\text{OH})_3$, (Blowes *et al.*, 1997; Powell *et al.*, 1995; Puls *et al.*, 1999), l'eliminació de TcO_4^- en forma de precipitats de TcO_2 (Blowes *et al.*, 2000) o d' UO_2^{2+} en forma de precipitats d' UO_2 (Gu *et al.*, 1998; Morrison *et al.*, 2001; Uhrig *et al.*, 1996). S'han avaluat també altres components basats en Fe, com el sulfur de Fe, oxihidròxids de Fe i aluminosilicats de Fe, si bé els resultats són més modestos que els obtinguts amb Fe^0 (Blowes *et al.*, 2000).
- Reducció bacteriana i precipitació: semblant a l'anterior, en aquest cas la reducció de l'espècie contaminant és duta a terme biològicament. És sobretot interessant per a aquelles espècies no reduïbles pel Fe^0 , com ara el SO_4^{2-} , que sota condicions apropiades poden ser reduïts pels **bacteris sulfato-reductors (BSR)** a S^{2-} seguint la reacció 1.5 (pàg 10) (Benner *et al.*, 1997; Herbert *et al.*, 2000). En presència de metalls contaminants l'efecte és doblement bo, perquè els sulfurs poden precipitar-hi i eliminar-los de la dissolució. És per aquest motiu que aquest tipus de tractament ha generat molt d'interès en el camp de la

descontaminació d'aigües caracteritzades per elevats continguts de metalls i sulfats, com ho són les àcides de mina (AAM).

- Reducció bacteriana: igual que el cas anterior, però amb la particularitat que la reducció de l'espècie contaminant condueix a una espècie innòcua que no cal eliminar. L'exemple més paradigmàtic és la desnitrificació bacteriana, que consisteix en la conversió del NO_3^- a N_2 (Robertson and Cherry, 1995). La desnitrificació pot veure's estimulada en presència de Fe^0 , que s'oxida generant H_2 , el qual és un bon donador d'electrons per als bacteris (Till *et al.*, 1998).

És clar que l'elecció del mètode de reparació dependrà de la naturalesa del(s) contaminant(s) present(s) a l'aigua a tractar. Atès que aquesta tesi doctoral tracta de la correcció de la contaminació per AAM, l'atenció, en els següents apartats, es centrarà en la reducció bacteriana de SO_4^{2-} mitjançant bacteris sulfato-reductors (BSR) i posterior precipitació dels sulfurs metàl·lics (marcat amb * a la Taula 1.1.).

A manera de resum, la Taula 1.2 recull bona part de les BPR instal·lades per al tractament d'aigües contaminades per espècies inorgàniques, especificant-ne les dades més característiques (www.prb-net.org, Carrera *et al.*, 2001). Tot i que les BPR basades en l'ús del Fe^0 són les més usuals en aquestes situacions, s'ha posat especial èmfasi en les basades en el tractament biològic d'AAM.

Reactive Media for Treatment of Inorganic Groundwater Contaminants in PRBs

<i>Reactive Medium</i>	<i>Removal Mechanism</i>	<i>Contaminants Removed</i>	<i>References</i>
Ferric oxyhydroxide	Sorption	uranium, molybdenum, chromium	Morrison and Spangler, 1993 Morrison and Spangler, 1996 Morrison et al., 1995 Zachara et al., 1987
Peat moss	Sorption	Chromium, copper, zinc, nickel, cadmium, uranium, molybdenum	Crist et al., 1996 Gosset et al., 1986 Ho et al., 1995 McLellan and Rock, 1987 Morrison and Spangler, 1992 Sharma and Forster, 1993
Modified Zeolites	Sorption	Lead, chromium, selenium, sulfate, cadmium	Bowman et al., 1995 Haggerty and Bowman, 1994 Kesraoui-Ouki et al., 1993 Lee et al., 1989 Li and Bowman, 1997, 1998b
Chitosan	Sorption	Mercury, uranium, cadmium, lead, vanadium, nickel, molybdenum, titanium, selenium etc.	Mitani et al., 1991
Spodic material	Sorption	Arsenic	Lindberg et al., 1997
Sawdust, lignite, coal	Sorption	Molybdenum, uranium	Morrison and Spangler, 1992
Titanium oxide	Sorption	Molybdenum, uranium	Morrison and Spangler, 1992
Ferric chloride (with CaCO ₃)	Sorption	Uranium	Morrison and Spangler, 1992
Ferric nitrate Ferric sulfate	Sorption	Molybdenum	Morrison and Spangler, 1992
Hydroxyapatite Natural apatite	Precipitation	Lead	Ma et al., 1993 Ma et al., 1994a and b Ma et al., 1995
Ferrous sulfate Calcium chloride Barium chloride	Precipitation	Molybdenum, uranium	Morrison and Spangler, 1992
Hydrated lime Fly ash	Precipitation	Uranium	Morrison and Spangler, 1992
Limestone	Precipitation	Acid mine drainage	Hedin et al., 1994 Turner and McCoy, 1990
Zero-valent iron	Chemical reduction	Chromium, uranium, technetium, nitrate, nitrite, Molybdenum, silver, sulfate, mercury	A complete set of iron metal references can be found at the web site maintained by Dr. Paul Tratnyek of the Oregon Graduate Institute: http://cgr.ese.ogi.edu/ironrefs/
Iron minerals	Chemical reduction	nitrate, chromate	Hansen et al., 1996 Peterson et al., 1997
Zero-valent iron	Lower redox potential and metal precipitation	Acid mine drainage	Sheip et al., 1995
* Organic material	Microbial sulfate reduction and precipitation	Acid mine drainage	Benner et al., 1997
Organic material	Microbial nitrate reduction	Nitrate	Robertson and Cherry, 1995 Robertson et al., 1991

Taula 1.1: Llistat dels projectes que s'estan duent a terme actualment sobre el tractament d'aigües subterrànies contaminades per espècies inorgàniques per a aplicacions a BPR (Scherer *et al.*, 2000) (s'ha marcat amb * el cas d'estudi d'aquesta tesi).

Localització	Any	Contaminant	Material BPR	Mecanisme d'eliminació	Dimensions*	Vel. flux	Temps residència	Cost
Chalk River, Ontario (CA)	1998	Sr	zeolita	sorció	L=11 m G=2 m A=5,5 m	s.d.	s.d.	333.000 €
Monticello, Utah (EUA)	1999	U, As, Mn, Se, V	Fe ⁰	reducció química + precipitació	L=30,5 m G=2,4 m A=s.d.	0,7-5,5 m/dia	s.d.	888.000 €
Kolding (DK)	1999	Cr, TCE	Fe ⁰	reducció química + precipitació	L=50 m G=1 m A=1-3 m	s.d.	s.d.	400.000 €
Nickel Rim, Sudbury, Ontario (CA)	1995	Ni, Fe, SO ₄ ²⁻	Matèria orgànica (compost, residus vegetals), grava	reducció bacteriana + precipitació	L=15,2 m G=3,7 m A=4,3 m	0,04 m/dia	60-165 dies	33.300 €
Golden, Colorado (EUA)	1999	U, NO ₃ ⁻	Fe ⁰ , residus vegetals	reducció química + precipitació reducció bacteriana	L=13,2 m G=5,2 m A=3,4 m	s.d.	s.d.	1.443.000 €
Nesquehoni, Pennsylvania (EUA)	1998	Pb, Cd, As, Zn, Cu	calcita	precipitació	L=335 m G=0,6 m A=0,9 m	s.d.	s.d.	s.d.
Aznalcóllar Andalusia (SP)	2000	Zn, Fe, Al, Cu, Cd	Matèria orgànica (compost), calcita, grava, (Fe ⁰)	reducció bacteriana + precipitació precipitació	L=110 m G=1,4 m A=3-6 m	1-2 m/dia	0,5 – 1 dies	422.000 €
Vancouver Columbia Britànica (CA)	2001	Cu, Cd, Co, Ni, Zn	Matèria orgànica (compost), grava, calcita	reducció bacteriana + precipitació precipitació	L=10 m G=2,5 m A=6,5 m	0,4 m/dia	6 dies	s.d.

*L=longitud, G=gruix, A=altura

Taula 1.2: Relació de BPR instal·lades al món per al tractament d'aigües contaminades per espècies inorgàniques.

1.3.-ELS BACTERIS SULFATO-REDUCTORS (BSR)

1.3.1.- Introducció

Els **bacteris** són microorganismes unicel·lulars, de mida entre 0.3 i 2.0 µm, d'estructura protocariota, generalment heterotròfics i amb multiplicació per escissiparitat. És difícil de donar unes característiques generals dels bacteris, ja que es tracta d'un grup d'organismes extraordinàriament diversificat. La morfologia bacteriana, que inclou la forma, la mida, la disposició i les estructures internes del bacteri, proporciona les bases per classificar-los en els grups principals. Des del punt de vista del seu metabolisme, la diversitat dels bacteris és també molt gran. Molts utilitzen l'oxigen com a acceptor final d'electrons de les seves cadenes respiratòries (aerobis), però d'altres (anaerobis) utilitzen altres substàncies, tant orgàniques com inorgàniques. Per la seva abundància a la natura i la seva intensa activitat metabòlica, els bacteris tenen un paper importantíssim en la regulació dels cicles de matèria i energia del món vivent.

El terme de **sulfobacteris** o **bacteris sulfato-reductors (BSR)** es reserva convencionalment per a una classe de bacteris capaços de reduir el SO_4^{2-} a S^{2-} o S, tancant així el cicle del sofre. En aquest procés els BSR no assimilen el sofre dins l'estructura cel·lular, sinó que el ió sulfat actua simplement com un agent oxidant com l'oxigen en la respiració convencional.

Els BSR són tots ells anaerobis estrictes, i per cultivar-los calen tècniques estrictament anòxiques. Alguns són capaços de dur a terme un creixement fermentatiu en absència de sulfat, però cap d'ells no només no pot créixer amb oxigen com a acceptador d'electrons, sinó que l'oxigen inhibeix el seu creixement.

Tot i que morfològicament són diversos, els BSR poden considerar-se un grup fisiològic unificat. Fins avui, se'n reconeixen 18 gèneres, classificats en dos grups ben establerts: *Desulfovibrio* i *Desulfotomaculum*. El grup *Desulfovibrio* és el més conegut, sobretot perquè els bacteris d'aquest grup són usualment més fàcils d'aïllar i purificar (Postgate, 1979).

1.3.2.- Factors ambientals per als BSR

Com ocorre amb els bacteris en general, la capacitat dels BSR de reproduir-se a la natura depèn fortament de les condicions ambientals del medi on es troben, de manera que una població creix només si el medi en què viu és prou adequat. Així, un correcte creixement i sosteniment d'una població de BSR requereix el compliment de tota una sèrie de requisits, que

afecten diverses variables ambientals (Postgate, 1979; Okabe *et al.*, 1992; White i Gadd, 1996; Webb *et al.*, 1998):

- *Substrat orgànic com a font d'energia*: l'energia és necessària per a la majoria de les reaccions químiques que duen a terme els BSR, així com per a la seva motilitat o per a la consecució de nutrients. Els BSR *fototròfics* obtenen l'energia de la llum (bacteris vermells i verds, d'una part, i cianobacteris, de l'altra), mentre que els BSR *quimitròfics* l'obtenen de l'oxidació o fermentació de substàncies orgàniques (o d'altres com ara l'hidrogen) presents al medi on es troben (*donador d'electrons*), oxidació que requereix la presència d'una espècie apropiada a qui transferir els electrons (*receptor d'electrons*), com ara el sulfat (però no l'oxigen).
- *Nutrients*: tots els bacteris necessiten nutrients per al seu creixement, manteniment i reproducció. A banda del mateix carboni de la matèria orgànica a degradar, cal remarcar el nitrogen, el fòsfor (anomenats genèricament nutrients), el sofre, vitamines i traces de tota una sèrie de metalls, com ara Fe, Ni, Mg, Ca, Na, Ba, Mo, Se i Co (anomenats genèricament micronutrients).
- *Aigua*: tots els bacteris necessiten aigua per poder portar a terme processos biològics, com el creixement, en què els nutrients i els residus entren i surten de la cèl·lula en forma de dissolució. L'aigua és a més el component majoritari dels bacteris.
- *Condicions anaeròbies*: els BSR requereixen hàbitats estrictament anaeròbics, ja que condueixen les seves principals oxidacions metabòliques en una forquilla de potencial redox d'entre -150 i -200 mV. És necessària per tant una caiguda del potencial redox fins a aquests valors per a la iniciació del creixement dels BSR. En un medi com aquest, l'O₂ lliure només pot existir a molt baixes concentracions, de manera que l'activitat dels organismes aerobis no hi té lloc. Malgrat que per als bacteris anaerobis com ara els BSR la presència d'O₂ n'inhibeix el creixement o pot arribar fins i tot a matar-los, estudis recents han detectat una certa tolerància a l'O₂ per part dels BSR (Ingvorsen *et al.*, 2003; Lens *et al.*, 1995).
- *pH*: els BSR presenten un rang òptim per al seu creixement al voltant de 5-9, tot i que estudis recents han trobat BSR acidòfils que toleren pH tan baixos com 3 en indrets fortament impactats per AAM (Kolmert i Johnson, 2001) i en entorns geotermals naturals poc pertorbats (Koschorreck *et al.*, 2003).
- *Temperatura*: la vida dels BSR, com la de la resta de bacteris i dels éssers vius en general, està basada en una sèrie de reaccions químiques catalitzades per enzims. Si la temperatura augmenta, les velocitats de les reaccions químiques tendeixen a augmentar. Per tant, fins a cert punt, un increment de la temperatura és favorable per als processos bioquímics. Ara bé, els enzims i els àcids nucleics que organitzen i faciliten aquests processos són sensibles a la

calor. Si les temperatures augmenten massa, les estructures d'algunes proteïnes poden distorsionar-se fins al punt de no poder catalitzar més les reaccions vitals. De la mateixa manera, si l'estructura dels àcids nucleics s'altera per un excés de calor, la informació emmagatzemada pot alterar-se també. Això, al seu torn, impedeix la producció d'enzims necessaris per al creixement. Aquest fet fa que tots els microorganismes mostrin un rang de tolerància de temperatures. La temperatura a què poden sobreviure els BSR depèn de molts factors, però pot establir-se una temperatura òptima de 25-40°C, tot i que s'ha dut a terme satisfactòriament processos amb BSR en reactors a 55°C a escala de laboratori (Sipma *et al.*, 1999).

- *Exposició limitada a agents inhibidors/tòxics*: des d'un punt de vista ecotoxicològic, és imprescindible una exposició limitada a agents que puguin inhibir l'activitat dels BSR o fins i tot tenir-hi efectes letals (Utgikar *et al.*, 2002; Utgikar *et al.*, 2003; Okabe *et al.*, 1992). El problema de la presència de substàncies tòxiques i/o inhibidores és lluny de ser senzill, pel fet que hi intervien diversitat de factors (pH, presència d'altres substàncies amb les quals es poden donar fenòmens d'antagonisme o sinergisme, aclimatació dels bacteris al sistema...). Per als BSR, la literatura és escassa quant als nivells i els resultats d'inhibicions i toxicitats, tot i que s'hi han descrit efectes tòxics de metalls (a concentracions d'unes poques desenes de mg dm⁻³) (Utgikar *et al.*, 2003) i dels mateixos sulfurs (a concentracions >700 mg dm⁻³) (Okabe *et al.*, 1992).
- *Suport físic*: des del punt de vista de l'establiment de la colònia bacteriana, cal també un suport físic on els BSR puguin establir-se per a un correcte creixement i evitar l'arrossegament en sistemes en continu. Estudis comparatius en l'adhesió de BSR a diversos materials (Basu i Baldwin, 2000) i geometries (Lyew i Sheppard, 1997) han demostrat que el suport físic pot influir en el rendiment de l'activitat de la colònia. En aquest context, cal afegir que, d'altra banda, l'excreció de materials per part dels BSR adherits a una superfície forma una capa aglutinant (*biofilm*) que pot oferir resistència al flux en sistemes en continu, i portar problemes de permeabilitat (Holm, 2000).

1.3.3.- Distribució dels BSR al medi ambient

Hom pot pensar que, amb els requeriments acabats d'exposar, els BSR són formes de vida poc freqüents. Res més lluny de la realitat. Els ambients anòxics amb presència de BSR abunden a la Terra, i inclouen fangs i altres sediments lacustres, fluvials i oceànics, aliments envasats, conductes intestinals d'animals, sistemes de tractament d'aigües residuals, bosses de petroli i sistemes d'aigües subterrànies, entre d'altres. Els BSR són, per tant, presents a gairebé qualsevol medi natural d'aquest planeta excepte, curiosament, al més comú: un ordinari medi aerobi.

Els BSR poden ser aïllats, en principi, de quasi qualsevol sòl o aigua presa a l'atzar, i poden ser activats quan les condicions locals esdevinguin favorables per al seu creixement.

No és freqüent que un medi natural contingui un sol tipus de microorganisme. És per això que, segons el contingut bacterià de la mostra o l'objectiu de l'estudi, pot ser necessari l'enriquiment de la població de BSR respecte als altres microorganismes. L'enfoc més corrent per aconseguir aquest propòsit consisteix en la tècnica del cultiu d'enriquiment, que es basa a afavorir unes condicions d'incubació selectives per a l'organisme que es desitgi aïllar i contraselectives per als organismes no desitjats. En microbiologia, és molt habitual la purificació de cultius mixtos mitjançant aquesta pràctica i el treball amb monocultius. Tanmateix, per a moltes finalitats biotecnològiques solen ser preferibles els cultius mixtos (amb la presència de múltiples grups i gèneres d'organismes), gràcies al fet que presenten més estabilitat de cultiu, ofereixen resistència a la contaminació, proporcionen rendiments de biomassa més alts que els monocultius, i sobretot són capaços de metabolitzar materials sovint indegradables per soques úniques. Això s'explica pel fet que, en aquestes comunitats microbianes més o menys complexes, les principals interaccions entre les espècies constituents són essencialment nutricionals en el sentit que productes finals en el metabolisme d'unes espècies poden servir com a font de carboni i/o energia per a d'altres espècies. Aquesta seqüència de reaccions sovint simbiòtiques pot ser fins i tot essencial per a l'establiment d'una població microbiana (Hamilton, 1998).

1.4.- L'ÚS DE BSR PER A LA DESCONTAMINACIÓ D'AAM

1.4.1.- Introducció

Des que Tuttle *et al.* van suggerir el 1969 l'ús de bacteris sulfato-reductors (BSR) per al tractament d'aigües àcides de mina (AAM), el nombre d'estudis sobre aquest tractament biològic no ha parat de créixer. Són nombrosos els treballs que han demostrat la viabilitat tècnica de la generació de sulfur biogènic com a alternativa al sulfur químic, per a la neutralització de pH i disminució o eliminació de sulfats i metalls. No obstant això, encara hi ha importants obstacles tècnics i econòmics a superar per tal de poder dur a terme eficientment el procés a gran escala.

En primer lloc, el pH en una AAM és generalment inferior a 4, més àcid per tant que el rang òptim de 5-9 per als BSR (Postgate, 1979; Elliott *et al.*, 1998). En segon lloc, els substrats orgànics naturals utilitzats en aplicacions a gran escala solen ser poc efectius, en termes de biodegradabilitat, per proporcionar els nutrients necessaris per als BSR (Béchar *et al.*, 1994; Chang *et al.*, 2000). Per altra part, el temps requerit pels BSR per degradar aquests substrats

orgànics complexos pot ser massa llarg i fer el procés econòmicament inviable (Béchar *et al.*, 1994; Beaulieu *et al.*, 2000; Chang *et al.*, 2000). En darrer lloc, les altes concentracions de metalls presents en les AAM poden ser inhibidores o fins i tot tòxiques per als BSR (Utgikar *et al.*, 2003).

Fins fa pocs anys l'ús de BSR s'havia limitat al tractament en plantes *ex situ*, ja que aquests tractaments poden superar amb més o menys èxit aquests obstacles separant en diferents etapes el procés de tractament, de manera que la neutralització de pH, la precipitació de metalls i la reducció de sulfats per l'activitat bacteriana poden ser dutes a terme cada una en les condicions més òptimes. D'aquesta manera, els BSR en el bioreactor no estan directament exposats a pH massa baixos i/o concentracions de metall massa altes, típiques d'AAM (Prasad *et al.*, 1999; Basu *et al.*, 2000). A més, els metalls poden ser precipitats de forma selectiva i potencialment reciclats (Tabak i Govind, 2002). D'altra banda, la biodegradabilitat de la font de carboni s'aconsegueix utilitzant compostos orgànics de baix pes molecular, com ara lactat (Elliott *et al.*, 1998; Hammack *et al.*, 1994; Harris i Ragusa, 2001; Chen *et al.*, 1994; Glombitza, 2001; Kolmert i Johnson, 2001), etanol (Kolmert i Johnson, 2001; White i Gadd, 1996), metanol (Tsukamoto i Miller, 1999; Glombitza, 2001) àcid propiònic, glicerol (Webb *et al.*, 1998, White i Gadd, 1996), glucosa (White i Gadd, 1996), àcid acètic (Steed *et al.*, 2000), molasses (Annachhatre i Suktrakoolvait, 2001), sucrosa i urea (Béchar *et al.*, 1994) o CO₂ amb H₂ (Basu *et al.*, 2000; Foucher *et al.*, 2001), tot i que el seu ús en tecnologies a gran escala pot portar a costos prohibitius. Un exemple d'aplicació industrial d'aquest fonament és la planta de Budel Zink B.V. (Països Baixos), de l'empresa Paques, capaç de processar fins a 40 m³/h d'una aigua amb elevats continguts de SO₄²⁻ (fins a 15000 mg dm⁻³) i Zn (fins a 10000 mg dm⁻³) i reduir-ne les concentracions a <300 mg dm⁻³ i 0,2 mg dm⁻³, respectivament (Buisman *et al.*, 2002).

A banda de la pràctica consolidada en aquests tractaments *ex situ*, d'uns anys ençà experiments a escala de laboratori, pilot i de camp s'han centrat en l'efectivitat dels BSR en sistemes *in situ*. L'avantatge d'aquests tractaments és que, almenys idealment, són passius, en el sentit que no requereixen cap aportació contínua de materials ni d'energia.

És evident que les solucions enginyerils esmentades més amunt resulten impracticables en les tecnologies passives *in situ* com ara les BPR. Aquesta circumstància ha donat peu que en els darrers anys s'hagin engegat nombrosos estudis, bona part d'ells encara en fase de laboratori, amb el propòsit de desenvolupar i dur a terme eficaçment aquest tractament biològic. A continuació es presenta un repàs de l'estat de l'art de l'ús de BSR per a la descontaminació d'AAM mitjançant tractaments passius, des d'escala de laboratori fins a aplicacions al camp. S'hi recull de forma sintètica la informació continguda a l'**Article I**, complementada i actualitzada amb les introduccions dels **Articles II, III, V i VI**.

1.4.2.- Sistemes d'operació en discontinu

Les referències sobre treballs de recerca o instal·lacions en funcionament, ja sigui a escala de laboratori o pilot, basades en l'ús de BSR en sistemes en discontinu per al tractament d'AAM, són molt nombroses (Christensen *et al.*, 1996; Dvorak *et al.*, 1992; Glombitza, 2001; Hammack *et al.*, 1994; Waybrant *et al.*, 1998; Webb *et al.*, 1998; White i Gadd, 1996).

En aquests, la font de BSR sol consistir en una mostra de medi orgànic natural (sediments de bassa, fems d'animals, biomassa d'algues... ja s'ha dit que les BSR són presents en nombrosos hàbitats, tant aquàtics com terrestres), acompanyada o no d'altres matèries orgàniques addicionals com a font de carboni i nutrients per estimular l'activitat bacteriana. Ocasionalment, aquests estudis fan créixer la població bacteriana mitjançant enriquiment selectiu en un medi ric en nutrients (cultius tots ells tipus Postgate), amb temps d'incubació de fins a mesos, tot i que la majoria d'ells, atenent a la seva aplicació a la biotecnologia mediambiental, es basen en cultius mixtos. Cal recordar que hi ha alguns avantatges d'utilitzar fonts naturals o barreges d'elles sobre cultius purs: són menys susceptibles a ser contaminades per altres microorganismes, poden ser capaces d'oxidar més fàcilment certes fonts de carboni que no pas els cultius purs, contenen una combinació de bactèries que poden facilitar el desenvolupament de condicions reductores, poden degradar polímers orgànics de cadena llarga que no són metabolitzats per cultius purs, i són més fàcilment disponibles i barats (Waybrant *et al.*, 1998; White i Gadd, 1996).

Com a fonts de matèria orgànica, han estat assajades matèries naturals tan diverses com ara llots de depuradora, fems d'animals diversos (Amos i Younger, 2003; Castro *et al.*, 1999; Cocos *et al.*, 2002; Christensen *et al.*, 1996), compost vegetal (Chang *et al.*, 2000; Dvorak *et al.*, 1992; Waybrant *et al.*, 1998), restes forestals (Chang *et al.*, 2000; Cocos *et al.*, 2002; Waybrant *et al.*, 1998), subproductes làctics (Christensen *et al.*, 1996), residus industrials i agrícoles (Bécharde *et al.*, 1994; Castro *et al.*, 1999; Hammack *et al.*, 1994), biomassa d'algues (Rose *et al.*, 1998), entre d'altres residus orgànics.

Els metalls i no metalls assajats en aquests estudis inclouen el Fe, Ni, Zn, Al, Mn, Cu, U, Se, As, V (Christensen *et al.*, 1996; Dvorak *et al.*, 1992; Morrison *et al.*, 2001; Waybrant *et al.*, 1998) en concentracions inicials que van de 0.5 a 6 mg dm⁻³ per a l'U, fins a centenars de mg dm⁻³ per al Fe o Ni. En molts casos els nivells d'eliminació de metalls són superiors al 95% (Chang *et al.*, 2000; Christensen *et al.*, 1996; Waybrant *et al.*, 1998). Els sulfats s'han estudiat en concentracions de 1000 fins a 3600 mg dm⁻³ i s'han arribat a obtenir nivells d'eliminació de fins a pràcticament el 100% (Waybrant *et al.*, 1998). El pH de les aigües àcides a tractar en aquests treballs varia en el rang de 3 a 6, i en tots els casos l'ús de matèria orgànica, combinada en molts casos amb un agent de caràcter bàsic (principalment calcita), l'ha corregit a valors neutres.

Tots els estudis coincideixen en l'observació que la naturalesa de la matèria orgànica juga un paper determinant en el rendiment del biotractament. La determinació d'aquelles fonts naturals de matèria orgànica més adequades per estimular l'activitat dels BSR en un sistema alimentat per AAM es presenta, doncs, com un dels objectius d'aquests treballs, si bé hi ha encara pocs estudis que avaluïn de forma comparada diferents fonts de matèria orgànica (Waybrant *et al.*, 1998; Cocos *et al.*, 2002). Waybrant *et al.* (1998) reporten, a partir dels valors de velocitat de reducció de sulfats, que les mescles que contenen múltiples fonts de matèria orgànica resulten ser més adients que no pas fonts simples sense barrejar, probablement degut al fet que les mescles poden contenir una varietat de fonts de carboni amb diferents estabilitats de descomposició, i poden contenir més fàcilment una major diversitat de nutrients. Així, per al tractament d'una aigua amb un contingut de 3300 mg dm^{-3} de SO_4^{2-} , una mescla que conté fins a cinc matèries orgàniques diferents (llots de depuradora, biomassa de jardins, escorça d'arbres, fems d'ovella i serradura d'arbre) aconseguia una eliminació de fins pràcticament el 100% en 20 dies, superior a la d'altres mescles amb menys varietat de components. Christensen *et al.* (1996) obtenen resultats similars amb diverses mescles a base de subproductes làctics (xerigot) i fems d'animal.

Pel que fa als metalls, els diversos estudis coincideixen en diferent grau en els processos d'eliminació i en la naturalesa dels seus precipitats. Sembla clar que, en condicions sulfato-reductores, la generació i precipitació de sulfurs metàl·lics es presenten com a processos importants en l'eliminació de metalls com el Fe, Cu, Cd, Ni, Zn (Christensen *et al.*, 1996; Dvorak *et al.*, 1992; von Gunten i Furrer, 2000; Hammack *et al.*, 1994; Lyew i Sheppard, 1997; Waybrant *et al.*, 1998; White i Gadd, 1996), però no pas per a l'Al, que no forma sulfurs estables en presència d'aigua, l'eliminació del qual resulta probablement de la hidròlisi amb l'aigua precipitant com a (oxi)hidròxid d'Al (Christensen *et al.*, 1996; Dvorak *et al.*, 1992). El Fe^{3+} també s'hidrolitza a pH neutres, però en medis anaerobis dominats per l'activitat dels BSR és reduït a Fe^{2+} , que requereix pH més elevats per a la hidròlisi i precipita com a sulfur de Fe (Dvorak *et al.*, 1992). Pel que fa al Mn, no és d'esperar que les seves concentracions siguin disminuïdes de forma significativa pel tractament de sulfur biogènic, a causa de la solubilitat relativament alta del MnS, sinó més aviat per la sobresaturació respecte el carbonat de manganès (MnCO_3) (Waybrant *et al.*, 1998). Quant a la mineralogia dels sulfurs de Fe, anàlisis mitjançant microscòpia electrònica de rastreig (SEM) i raigs X (XRD) confirmen la presència de precipitats de FeS amorf, que amb el pas del temps cristal·litza a mackinawita (Fe_{1+x}S), precursora de la pirita (FeS_2) (Gu *et al.*, 1999; von Gunten i Furrer, 2000).

La dificultat d'assolir condicions sulfato-reductores, principalment per la baixa biodegradabilitat de les matèries orgàniques naturals, és el principal obstacle d'aquests tractaments. No obstant això, també en aquestes situacions s'observa una eliminació significativa de metalls, la qual cosa posa de manifest l'existència d'altres mecanismes diferents a la precipitació de sulfurs metàl·lics. D'entre aquests mecanismes s'han assenyalat la precipitació com a (oxi)hidròxids i carbonats (Dvorak *et al.*, 1992; Lyew i Sheppard, 1997), co-

precipitació amb aquests precipitats (Benner *et al.*, 1997, Cravotta i Trahan, 1999) i sorció sobre la matèria orgànica (Machemer i Wildeman, 1992; Song *et al.*, 2001). Roman encara pendent determinar els mecanismes de retenció de metalls i, més concretament, com aquests poden diferir d'una espècie a una altra.

1.4.3.- Sistemes d'operació en continu

Més complex és l'estudi de la sulfato-reducció en sistemes que operen en continu. Els experiments realitzats amb aquests tipus de sistema posen de manifest la necessitat de tenir en compte nous factors clau, no considerats en experiments en discontinu. La influència d'altres paràmetres, com ara la velocitat de flux (que determina un temps de residència t_R) pot ser remarcable en el rendiment del tractament de les aigües contaminades. Temps de residència massa curts poden no permetre als bacteris de generar prou sulfur per precipitar els metalls i prou alcalinitat per neutralitzar l'acidesa. En aquest context, cal recalcar que la degradació anaeròbia d'un substrat orgànic natural és un procés molt complex, en què intervé un consorci molt ampli de microorganismes que treballen junts en la seva degradació. Com a conseqüència, és un procés lent, que necessita llargs temps d'operació per tal d'aconseguir una degradació estable del substrat orgànic. Aquesta circumstància, no cal dir-ho, suposa una forta limitació d'aquests sistemes de tractament.

Experiments a escala pilot amb bioreactors operant en continu i utilitzant compost residual per al cultiu de bolets (mescla de fems, palla i escorça d'arbre barrejada amb calcita i guix) com a matèria orgànica, mostren un descens en la concentració de sulfur del 99% en augmentar el cabal d'entrada de l'aigua a tractar i disminuir el temps de residència de 17 a 7 dies (Dvorak *et al.*, 1992). Resultats similars són descrits per altres treballs que han avaluat restes vegetals (alfals): un increment del temps de residència de 3,5 a 7 i 35 dies condueix a un increment del nivell d'eliminació de sulfats del 42%, 43% i 58% respectivament (Bécharad *et al.*, 1994). Cal, per tant, un temps adequat perquè els BSR puguin degradar la matèria orgànica i reduir els sulfats que es volen eliminar. Això es pot aconseguir o bé augmentant el temps de residència (que implica una disminució de flux, o un augment del trajecte a recórrer per l'aigua que es vol tractar), o bé estimulants l'activitat bacteriana. Per a aplicacions en BPR, la velocitat de l'aigua ve determinada per l'aquífer, i no és per tant una variable que es pugui optimitzar. Les dimensions d'una BPR solen requerir grans quantitats de material, que comporten grans costos. Augmentar el gruix de la barrera no es presenta, doncs, tampoc com una bona opció. Una alternativa pot passar per l'estimulació i acceleració de l'activitat bacteriana (Hammack i Edenborn, 1992, Hammack *et al.*, 1994, White i Gadd, 1996).

La majoria dels estudis realitzats amb l'ús de BSR aconsegueixen una reducció quantitativament important i de manera continuada, només quan s'afegeix al sistema un compost orgànic sintètic de cadena curta fàcilment degradable. Hammack *et al.* van estudiar

l'efecte de l'addició contínua de lactat com a nova variable determinant en l'activitat microbiana per al tractament d'una aigua amb elevats continguts de sulfats (2000 mg dm^{-3}) i Ni (500 mg dm^{-3}) (Hammack i Edenborn, 1992). Avaluant una matèria orgànica a base de compost per al cultiu de bolets (consistent en una mescla de palla, fems de cavall i poltre, guix i calcita) i sense detectar cap disminució de la concentració de SO_4^{2-} i Ni per a t_R de 12 hores, l'addició de lactat a l'aigua va significar una davallada sobtada del contingut de Ni (valors de retenció $>90\%$) i SO_4^{2-} (70%) en l'aigua tractada, posant de manifest que el nutrient havia estimulat l'activitat microbiana. Retirant l'aportació de lactat, l'efluent tractat mostrava de nou els continguts de Ni i SO_4^{2-} inicials. La resposta positiva del sistema a l'aportació de lactat indica que la reducció de sulfats es veu limitada per la disponibilitat de carboni. Resultats similars són descrits per altres treballs (Tsukamoto i Miller, 1999). Ja s'ha comentat que, si bé l'addició de compostos orgànics de cadena curta pot ser una alternativa útil per als sistemes de tractament *ex situ* (bioreactors), l'ús en aplicacions a escala de camp és inviable a causa de l'elevat cost econòmic que comporta.

Els sistemes que operen amb fonts de carboni complexes impliquen llargs temps de residència, de l'ordre de dies (veure introducció **Article I**). Un objectiu primordial en aquest camp de la biotecnologia és, doncs, trobar una matèria orgànica adequada que faci el procés tècnicament i econòmicament viable.

1.4.4.- Aplicacions a escala de camp en BPR

Tot i que les BPR són àmpliament utilitzades per al tractament d'aigües subterrànies contaminades per dissolvents clorats, la seva implementació per al remei d'AAM és encara molt nova, a causa de la seva complexitat des del punt de vista tècnic i microbiològic.

Avui dia hi ha instal·lades al món 3 BPR a escala de camp basades en l'ús de BSR per al tractament d'AAM, essent la pionera la barrera instal·lada a Nickel Rim, Sudbury, Ontario (Canadà) l'any 1995 (Benner *et al.*, 1997), seguida de la d'Aznalcóllar (Espanya) l'any 2000 (Carrera *et al.*, 2001) i la de Vancouver (Canadà) l'any 2001 (Ludwig *et al.*, 2002). Una quarta BPR està sent dissenyada a Shilbottle (Regne Unit) (Amos i Younger, 2003). Totes elles tenen composicions comparables quant al material de la barrera (fonamentalment calcita i un substrat orgànic natural, i ocasionalment un material inert per mantenir la permeabilitat i ferro metàl·lic per afavorir l'assoliment de condicions anaeròbies). Les dimensions i característiques de cada una d'aquestes barreres vénen recollides a la Taula 1.2 (pàg 17).

La BPR instal·lada a Nickel Rim és per ara la més estudiada i sobre la que més treballs s'han publicat fins al moment. Les aigües d'aquesta mina tenen alts continguts sobretot en SO_4^{2-} ($1000\text{-}5000 \text{ mg dm}^{-3}$) i Fe ($200\text{-}2000 \text{ mg dm}^{-3}$), amb pH que oscil·len entre 4 i 6 (Benner *et al.*, 1997; Benner *et al.*, 1999). Els estudis publicats sobre aquesta barrera assenyalen

neutralitzacions de pH fins a valors propers a 6,7 (Herbert *et al.*, 2000) i un nivell d'eliminació de SO_4^{2-} del 60% un any després de la instal·lació de la barrera i del 30% al cap de 3 anys (Benner *et al.*, 2002). Aquests percentatges relativament alts d'eliminació de SO_4^{2-} semblen venir afavorits per l'elevat temps de residència dins la barrera, estimat entre 60 i 165 dies segons la zona. Respecte als metalls, el percentatge d'eliminació és superior al 90% (Benner *et al.*, 1999), i es creu que queden retinguts majoritàriament en forma de sulfurs metàl·lics (Herbert *et al.*, 2000).

Una altra BPR basada en BSR per al tractament d'AAM fou instal·lada a Aznalcóllar (Espanya) el novembre de 2000, després del greu accident ocasionat per la ruptura del mur de contenció d'una bassa d'emmagatzematge de residus miners. Les aigües subterrànies a ser tractades contenen 1000-2000 mg dm^{-3} de SO_4^{2-} , 50-150 mg dm^{-3} de Zn, entre altres metalls més minoritaris, i valors de pH de fins a 3. Com es detallarà a l'apartat 1.5., la barrera fou dividida en tres mòduls de 30 m de llarg que contenen diferents proporcions de calcita, compost orgànic i partícules de Fe^0 . S'està duent a terme un seguiment de l'aigua de l'aquífer i, fins ara, l'efectivitat de la disminució del contingut de metall dins la barrera és >95%, mentre que els valors de pH incrementen de 3 a 7 (Carrera *et al.*, 2001). Pel que fa als SO_4^{2-} , no s'observa cap disminució significativa, cosa que fa pensar que els metalls són retinguts per altres mecanismes diferents a la precipitació de sulfurs metàl·lics. La identificació d'aquests mecanismes forma part dels objectius d'aquesta Tesi Doctoral.

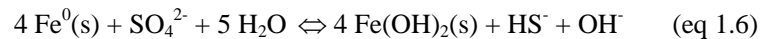
Per a la barrera de Vancouver, les aigües contaminades contenen concentracions variables de diferents metalls, essent de 3,6 mg dm^{-3} per al Cu fins a 0,005 mg dm^{-3} per al Co. Sorprenentment no s'especifiquen en canvi els continguts en SO_4^{2-} . Els resultats indiquen de nou una correcta neutralització de pH (valors aigües avall de la barrera en el rang de 6,5 i 7,3), i tot i que es detecta generació de HS^- , amb concentracions a dins la barrera de fins a 0,7 mg dm^{-3} (malgrat els valors positius en les mesures de Eh, amb un valor mitjà de +177mV), no es reporten dades sobre el nivell d'eliminació de SO_4^{2-} . Quant als metalls, s'observen nivells d'eliminació superiors al 90%, retinguts segons les estimacions dels autors de l'estudi a partir de les concentracions mesurades de sulfurs a la precipitació de sulfurs metàl·lics (Ludwig *et al.*, 2002).

Pot concloure's que l'optimització d'aquests tractaments és molt laboriosa, no prou estudiada fins al moment, i el disseny és sovint empíric. A més, una dificultat a afegir en el disseny de tractaments passius ve de la variabilitat de l'aigua a tractar (que difereix d'un lloc a un altre), de la variabilitat de les velocitats de flux (que varia al llarg del temps), del tipus de matèria orgànica seleccionat, del metabolisme bacterià... L'experiència demostra que el tractament funciona, però avui dia es fa difícil descriure'n els processos involucrats i predir el seu grau d'eficiència.

1.4.5.- L'ús de Fe⁰ en sistemes amb BSR

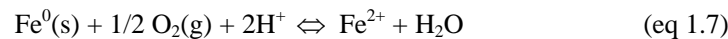
Com s'ha comentat a l'apartat 1.2.2., el Fe⁰ és el material més emprat per als processos de descontaminació per reducció i precipitació en barreres permeable reactives (BPR), gràcies a la seva elevada efectivitat i disponibilitat. És utilitzat sobretot per a l'eliminació de dissolvents clorats, però també s'ha assajat per a espècies inorgàniques com CrO₄²⁻, TcO₄⁻...

No hi ha, però, evidències que demostrin una reducció abiòtica de l'ió SO₄²⁻ per part del Fe⁰ (Gu *et al.*, 1999; Powell *et al.*, 1995), segons la reacció:



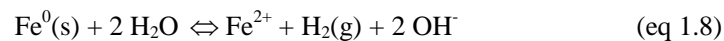
És clar que aquesta incapacitat del Fe⁰ per reduir SO₄²⁻ en desaconsellaria, en principi, el seu ús per al tractament d'AAM. L'objectiu d'emprar Fe⁰ en aquest estudi fou el d'avaluar l'afavoriment en l'assoliment de condicions reductores i en l'estimulació de l'activitat bacteriana, segons l'explicació que segueix.

En presència d'oxigen i en medi àcid, el Fe⁰ s'oxida mitjançant la següent reacció (Stumm i Morgan, 1996):



consumint l'oxigen dissolt i acidesa del medi. L'efecte és, d'una banda, una davallada del potencial redox (Eh) i de l'altra un augment del pH, la qual cosa representa una millora de les condicions ambientals per als BSR. L'oxidació de Fe⁰ a Fe²⁺ i Fe³⁺ és ràpida a pH superiors a 4 (Stumm i Morgan, 1996), i és confirmada per l'aparició d'òxid de Fe³⁺.

En absència d'oxigen, el Fe⁰ reacciona amb l'aigua segons la següent reacció (Gu *et al.*, 1999; MacKenzie *et al.*, 1999; Powell *et al.*, 1995):



produint d'una banda ions hidròxid que neutralitzen l'acidesa de l'aigua i de l'altra produint H₂, que pot actuar de donador d'electrons en el metabolisme dels BSR, per comptes de la matèria orgànica. La inclusió de Fe⁰ en les mescles reactives i les seves implicacions en l'estimulació de l'activitat dels BSR, segons les reaccions acabades d'esmentar, foren postulades per Gu *et al.* (1999).

És per aquest conjunt de motius que la inclusió de Fe⁰ com a component en la mescla reactiva es va incloure com a objecte d'estudi en la barrera d'Aznalcóllar i en els experiments d'aquesta tesi.

1.5.- EL CAS D'AZNALCÓLLAR

1.5.1- L'accident d'Aznalcóllar

La nit del 25 d'abril de 1998 es va produir la ruptura i el despreniment d'uns 50 m de mur de contenció de la bassa de llots pirítiques que l'empresa Boliden Apirsa S.L. tenia a la seva explotació de la mina pirítica d'Aznalcóllar (Sevilla), amb el consegüent vessament dels llots tòxics i aigües àcides contaminades al riu Agrio. La bassa de llots (Figura 1.2a) està situada 2 km aigües amunt de la confluència del riu Agrio amb el Guadianar (afluent del riu Guadalquivir), al marge dret de l'Agrio, sobre margues poc permeables de la conca del Guadalquivir (Figura 1.2b) (Grimalt *et al.*, 1999). El vessament ($2 \times 10^6 \text{ m}^3$ de llot i $4 \times 10^6 \text{ m}^3$ d'aigües àcides, només un 5% del total contingut a la bassa) es va estendre al llarg de més de 40 km de la plana de l'Agrio i el Guadianar, i de manera immediata van quedar cobertes d'aquests residus, amb una capa de llot d'entre 2 cm i 1 m de gruix, unes 2600 ha de terres que, fins aleshores, havien estat destinades bàsicament al conreu (López-Pamo *et al.*, 1999).



Figura 1.2: a) imatge de la bassa que va ocasionar l'accident d'Aznalcóllar; b) situació geogràfica de la bassa i de la BPR que s'hi va instal·lar per al remei de la contaminació de l'aigua subterrània.

El pla d'emergència va permetre reduir considerablement l'impacte de l'accident. La ràpida mobilització de mitjans tècnics i humans va aconseguir el mateix dia 25 d'abril aturar el vessament mitjançant dics provisionals a Entremuros, l'actual llit baix artificial del Guadianar, ja a les maresmes del Guadalquivir i a 4 km del Parc de Doñana. La mesura va anar seguida per les tasques de neteja -centrades principalment en la retirada dels llots dipositats a la superfície mitjançant maquinària pesada-, que van començar la mateixa nit dels fets i es van prolongar durant els mesos següents fins a la definitiva retirada dels llots, i en la construcció

d'una planta de tractament d'aigües a Entremuros per tractar les aigües retingudes als dies provisionals. Al mateix temps, es va prohibir qualsevol tipus de feina relacionada amb l'agricultura, la pastura, la pesca o la caça en tota l'àrea afectada, i el juny, van començar les expropiacions dels terrenys afectats (Grimalt *et al.*, 1999).

L'accident va crear una gran alarma social i un ampli ressò mediàtic, afavorit per la proximitat del Parc de Doñana, de gran valor ecològic per la seva diversitat d'ecosistemes i considerat un dels espais naturals més importants d'Europa. Les fotos de camps inundats de llots i animals morts van donar la volta al món. Es tractava d'un greu desastre ambiental, amb conseqüències immediates a notables extensions de cultiu i captacions d'aigua per al consum humà i agrícola.

Malgrat la retirada de llots de la superfície afectada, s'estima que encara avui un percentatge d'entre el 0.1 i el 15% dels llots inicials roman barrejat amb el sòl (Domènech, 2001). El 76% d'aquests llots remanents són sulfurs, majoritàriament pirita, però també calcopirita, galena i esfarelita, entre d'altres. La resta està formada per quars, guix i argiles. Químicament, a més dels elements constitutius dels anteriors compostos, el llot és molt ric en elements traça com As, Cd, Co, Ni, Sb, i Tl, els quals són, també, altament contaminants. La caracterització dels llots pirítics i la cinètica de la seva dissolució oxidativa (seguint les reaccions comentades a l'apartat 1.1), han estat estudiades en treballs previs, que han conclòs que l'alliberament de metalls contaminants pot prolongar-se en un període de dècades d'anys (Domènech, 2001).

Com era d'esperar, l'anàlisi química dels sòls afectats pel vessament dels llots va demostrar continguts de metalls pesants molt superiors als de les zones no afectades (contingut mitjà de Zn pels sòls afectats: 634 mg kg^{-1} ; contingut mitjà de Zn pels sòls no afectats: 108 mg kg^{-1}) (Simón *et al.*, 1999). Els estudis sobre la mobilitat d'aquests metalls als sòls han confirmat la necessitat de dur a terme mesures correctives per a la seva re-utilització amb finalitats agrícoles (Vidal *et al.*, 1999).

Les diverses campanyes d'anàlisi de les aigües subterrànies a les proximitats de la bassa han palesat també la contaminació de l'aquífer del riu Agrio. Aquestes anàlisis han mostrat unes aigües subterrànies amb alts continguts de sulfats ($1000\text{-}2000 \text{ mg dm}^{-3}$), de metalls com Zn, Fe, Cu, Cd, Co, Pb (fins a 250 mg dm^{-3}) i valors de pH de fins a 3 (Manzano *et al.*, 1999). La Figura 1.3 mostra els valors característics del pH i de la concentració de Zn (considerats els millors indicadors de la contaminació en l'escenari d'Aznalcóllar (ITGE, 2001; Manzano *et al.*, 1999)) en diversos punts de control i aigües avall de la bassa.

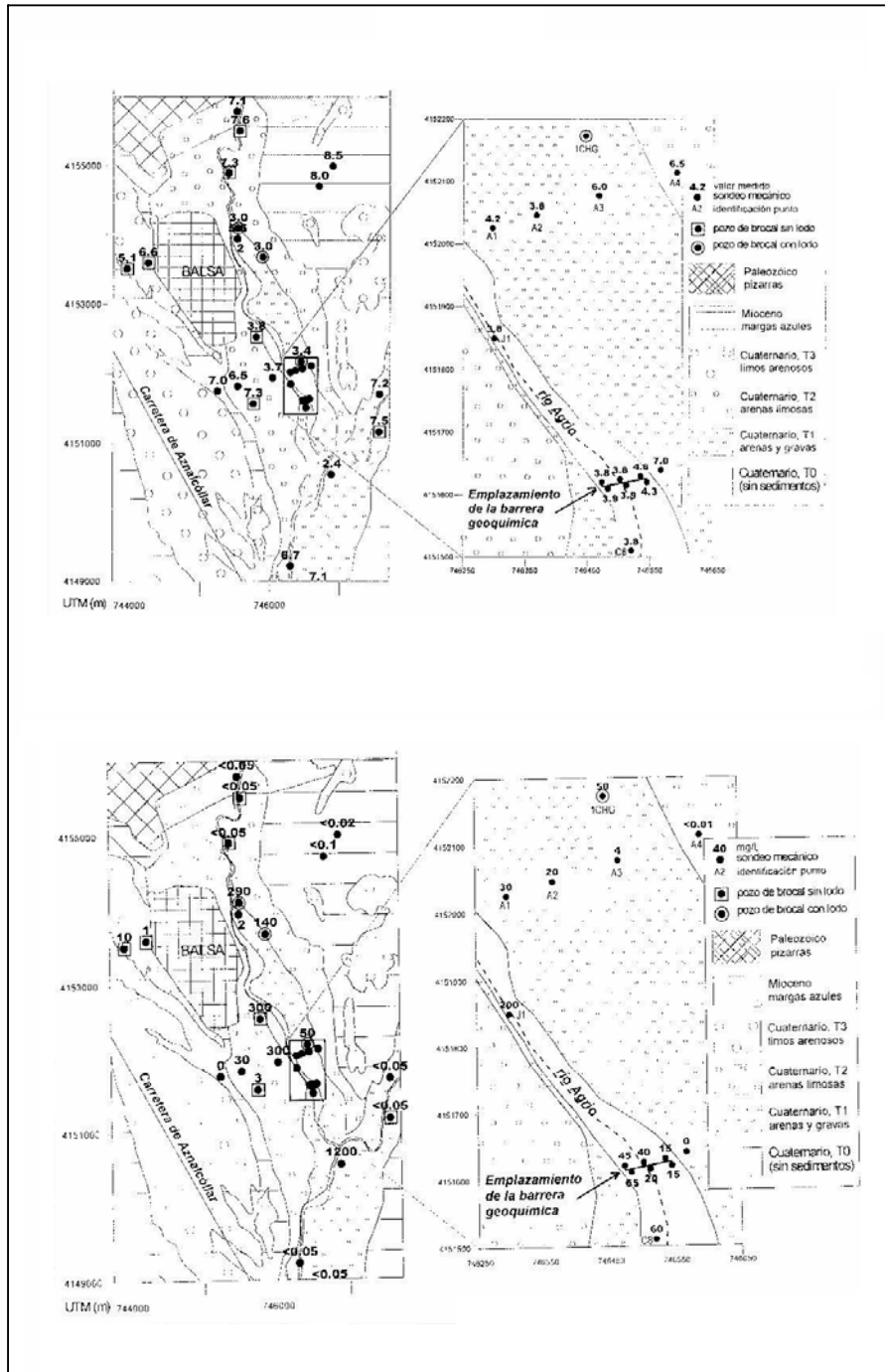


Figura 1.3: Valors característics de a) pH i b) Zn en l'aigua subterrània de l'aquífer del riu Agrio i les àrees adjacents. Les dades corresponen a la mitjana de diverses campanyes de mostreig entre maig de 1998 i gener de 2000 (ITGE, 2001).

Per pal·liar aquests efectes fou necessari retirar els llots contaminats encara presents i tractar de resoldre les infiltracions contaminades a les aigües del subsòl. La mesura presa en aquest sentit fou la instal·lació d'una BPR, considerada l'opció més adequada tenint en compte l'experiència a la mina de níquel de Rim (Canadà) (Benner *et al.*, 1997).

1.5.2.- Instal·lació d'una BPR a Aznalcóllar

Els treballs realitzats en la instal·lació de la BPR van incloure primerament una caracterització detallada de la zona, per la qual cosa es van realitzar sondeigs elèctrics verticals, sondeigs mecànics, assaigs hidràulics i assaigs de traçadors, a més d'un exhaustiu mostreig de l'aigua subterrània. Els resultats dels diferents estudis de caracterització de la zona vénen recollits en un volum monogràfic sobre l'accident d'Aznalcóllar (ITGE, 2001).

El fonament químic de la barrera proposada per a la correcció de les aigües subterrànies de l'aquífer del riu Agrio és l'exposat a l'apartat 1.2.2. Bàsicament consisteix en l'ús de BSR per a la reducció dels SO_4^{2-} a S^{2-} i posterior precipitació amb els metalls, combinat amb un agent bàsic per a neutralitzar el pH de les aigües àcides, que contribuiria a més a la precipitació de metalls en forma d'(oxi)hidròxids i/o carbonats. Es va decidir incloure també Fe^0 a la mescla reactiva per tal d'avaluar-ne la contribució en l'assoliment de condicions reductores, requisit indispensable per al metabolisme dels BSR. Els materials escollits van ser matèria orgànica de dos tipus (compost vegetal amb i sense llots de depuradora), partícules de calcita (2 cm de diàmetre) i encenalls de ferro (d'uns 1-2 mm). Tots aquests materials són disponibles fàcilment, i per tant poden ser bons candidats a ser components per a una BPR. El fet que alguns d'ells siguin residus d'altres activitats els fa especialment interessants: la millor manera d'evitar l'impacte negatiu d'un residu sobre el medi ambient és tornar a utilitzar-lo.

Atenent el seu caràcter experimental, la barrera va dividir-se en tres mòduls per avaluar diverses mescles amb diferents proporcions dels materials escollits. Cada un dels tres mòduls mesurava 30 m de llarg, 1,4 de gruix i entre 4 i 8 m d'alt, i es van separar entre ells per un mòdul de 10 m de llarg omplert amb material argilós com a material inert de baixa permeabilitat. Amb això se separen millor els trams actius, la qual cosa facilita la interpretació de resultats. El flux de Darcy de les aigües de l'aquífer és del voltant de $1\text{-}2 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, i el temps de residència dins la barrera és d'aproximadament 0.5-1 dies. La part superior de la barrera fou omplerta amb material inert de baixa permeabilitat, per evitar la infiltració d'aire atmosfèric i la conseqüent oxidació de la matèria orgànica. Les proporcions de material reactiu en cada mòdul vénen donades a la Figura 1.4. La Figura 1.5 mostra una imatge dels preparatius per a la instal·lació de la barrera.

ferro) utilitzades com a components de la barrera en les proporcions adequades i remogudes amb l'excavadora per obtenir-ne una bona homogeneïtat (Figura 1.6.d). Per a les operacions d'excavació i farciment de la barrera, va ser necessari l'ús d'una bomba per eliminar l'aportació constant d'aigua de l'aqüífer i poder operar en sec (Figura 1.6.e). Acabades les tasques de farciment de la barrera (Figura 1.6.f) (durant les quals es van instal·lar tubs de presa de mostra de l'aigua de l'aqüífer per al posterior seguiment del sistema), es van extreure les estakes metàl·liques (Figura 1.6.g) i es va tornar el terreny a l'estat inicial. L'aspecte final de la zona un cop instal·lada la barrera és el que es mostra a la Figura 1.7.

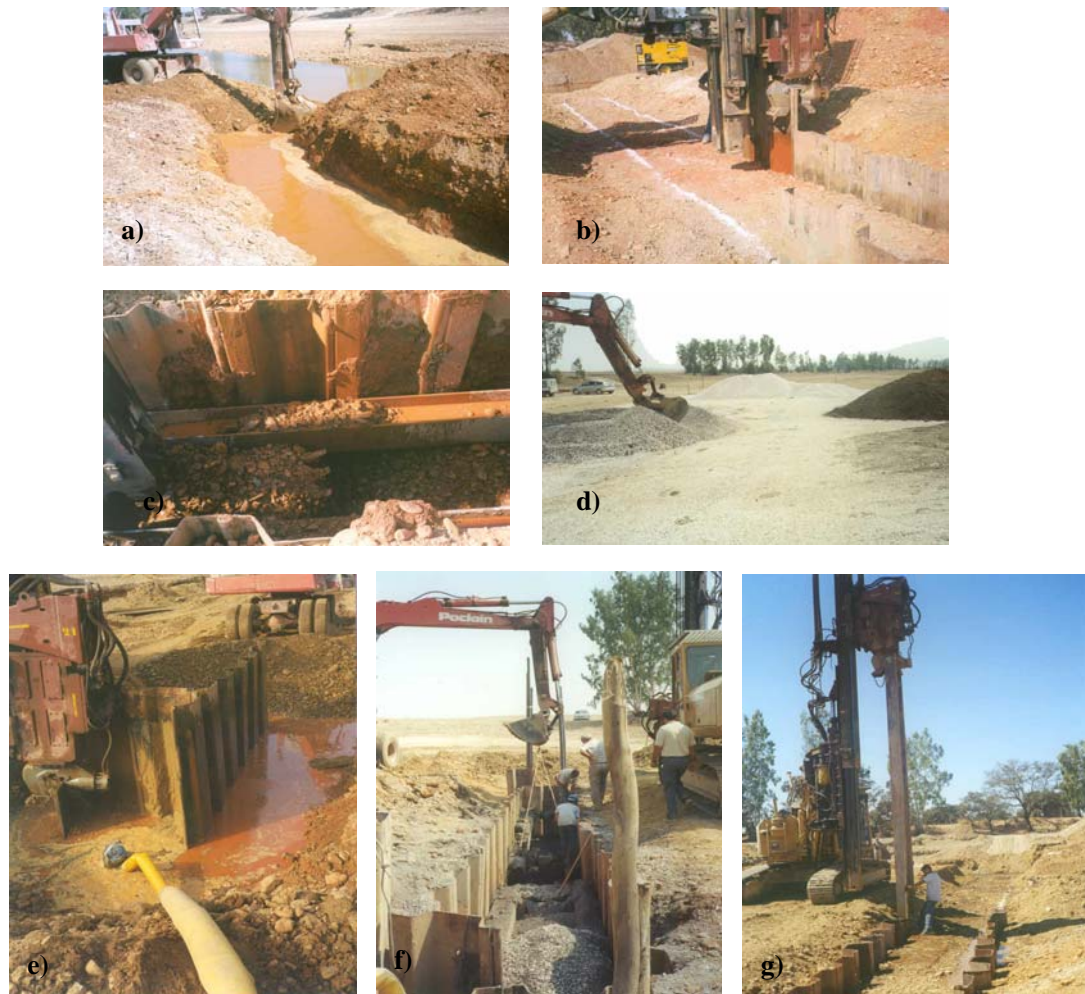


Figura 1.6: Etapes de construcció de la barrera permeable reactiva a Aznalcóllar: a) desviament del riu; b) clavament d'estaques metàl·liques; c) excavació del terreny; d) preparació de la mescla reactiva; e) bombeig de l'aigua aportada per l'aqüífer a la rasa; f) farciment de la rasa amb la mescla reactiva; g) extracció de les estakes metàl·liques de la rasa.



Figura 1.7: Aspecte final de la zona un cop instal·lada la barrera permeable reactiva a Aznalcóllar.

1.6.- MOTIVACIÓ DE LA TESI DOCTORAL

Com s'ha dit, fins al moment de la construcció de la barrera permeable reactiva (BPR) a Aznalcóllar, l'experiència a Europa en aquest camp era nul·la, amb una única BPR com a referent al món (Benner *et al.*, 1997).

Aquesta barrera es planteja, doncs, com una experiència pilot, amb enormes reptes des del punt de vista científic i tècnic, no només per la falta d'experiència prèvia, sinó també per la necessitat de portar a terme treballs multidisciplinaris que facin front a la complexitat d'un sistema com aquest. Cal remarcar que els organismes i institucions involucrats en l'estudi de la BPR a Aznalcóllar són molt nombrosos i abarquen àrees com la geologia, l'enginyeria del terreny, la hidrogeologia, o la química, entre d'altres. Així mateix, es pretén assentar un precedent quant a mètodes de protecció d'aqüífers, que ajudi en futures situacions de contaminació mediambiental.

És dins aquest context que s'emmarca la present Tesi Doctoral. El seu objectiu primordial és el d'estudiar més detalladament, en les condicions més controlables que permeten els experiments al laboratori, els processos químics i biològics involucrats en el tractament biològic d'AAM i contribuir a la comprensió del funcionament d'un sistema tan complex i ple d'incerteses com ho és la BPR instal·lada a Aznalcóllar.

