



Mise en garde

La bibliothèque du Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue et de l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (UQAT) a obtenu l'autorisation de la personne autrice de ce document afin de diffuser, dans un but non lucratif, une copie de son œuvre dans [Depositum](#), site d'archives numériques, gratuit et accessible à tous. L'autrice ou l'auteur conserve néanmoins ses droits de propriété intellectuelle, dont son droit d'auteur, sur cette œuvre.

Warning

The library of the Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue and the Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (UQAT) obtained the permission of the author to use a copy of this document for nonprofit purposes in order to put it in the open archives [Depositum](#), which is free and accessible to all. The author retains ownership of the copyright on this document.

Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

TRAITEMENT PASSIF DU DRAINAGE NEUTRE CONTAMINÉ
À L'ARSENIC AU MOYEN DE MATÉRIAUX ORGANIQUES NATURELS
ET INORGANQUES RÉSIDUELS EN CLIMAT FROID

Thèse présentée
comme exigence partielle
du doctorat en sciences de l'environnement : secteur mines

Par
Xavier Marc Thevenot

Septembre 2025

© Xavier Marc Thevenot, 2025

PRÉSENTATION DU JURY

Cette thèse a été évaluée par le jury composé des membres suivants :

- Prof. Marie Guittonny, présidente du jury
Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (Canada)
- Prof. Corrine Casiot-Marouani, évaluatrice externe
Université de Montpellier/CNRS (France)
- Prof., Sarah Dorner évaluatrice interne
École Polytechnique Montréal (Canada)
- Prof. Carmen Mihaela Neculita, directrice de recherche
Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (Canada)
- Prof. Lucie Coudert, codirectrice de recherche
Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (Canada)
- Prof. Eric Rosa, codirecteur de recherche
Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (Canada)

et a fait l'objet d'une soutenance le 28 août 2025 à l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue.

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans le soutien, la confiance et l'accompagnement de nombreuses personnes que je tiens à remercier chaleureusement.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à ma directrice de recherche, Prof. Carmen Mihaela Neculita, pour sa rigueur scientifique, ses conseils éclairés et son engagement constant tout au long de ce projet. Merci de m'avoir accordé ta confiance et offert cette formidable opportunité de recherche. L'expertise et consistance transmises au fil de cette thèse restera un fondement solide dans mon futur professionnel.

Je tiens également à remercier mes codirecteurs, Prof. Lucie Coudert et Prof. Éric Rosa, pour leur disponibilité, leurs remarques constructives et leur accompagnement précieux tout au long de cette thèse. Leurs recommandations pertinentes et leur soutien ont contribué à enrichir ce travail de recherche. Je leur suis profondément reconnaissant pour leurs encouragements et la confiance qu'ils m'ont accordée.

J'exprime une profonde gratitude au Dr. Étienne Bélanger. Merci, mon ami, pour ta bonne humeur, ta patience et ton soutien constant. Tu as occupé une place essentielle tout au long de cette thèse, et ton aide précieuse a largement contribué à sa réussite.

Je remercie le Dr. Tomy Roy et la Prof. Eva Pakostova pour leur contribution continue à la rédaction des articles issus de cette thèse. Leur rigueur scientifique, leurs commentaires pertinents et leur disponibilité ont grandement enrichi la qualité des publications dans une perspective de diffusion scientifique.

Je tiens aussi à remercier l'ensemble des membres de l'équipe du laboratoire de l'Unité de recherche et de service en technologie minérale (URSTM) pour leur soutien et contribution, directe, à la réalisation de ce projet. Merci aux Dr. Akué-Sylvette Awoh, Dr. Étienne Bélanger, Alain Perrault, Théo Gaxotte, Dr. Reem Safira, Roch Germain, Julie Beaulieu, Jean-Christophe Turcotte et Joël Beauregard. J'exprime une reconnaissance particulière au Dr. Akué-Sylvette Awoh, pour sa confiance renouvelée et l'opportunité de travailler avec l'équipe de l'URSTM tout au long de cette thèse.

Je suis reconnaissant aux membres du jury d’avoir accepté d’évaluer ce travail de recherche et d’avoir consacré du temps à la lecture attentive de ce manuscrit. Je remercie chaleureusement la présidente de jury, Prof. Marie Guittonny, les évaluatrices externes, Prof. Corinne Casiot-Marouani et Prof. Sarah Dorner, pour la qualité de leurs commentaires, leurs suggestions constructives et l’intérêt qu’elles ont porté à mes travaux. Leurs retours contribueront à enrichir la portée scientifique de cette recherche.

Je remercie le CRSNG et les partenaires de l’IRME UQAT-Polytechnique pour leur appui indispensable tout au long de cette recherche. Une mention spéciale à la mine Dhilmar-Éléonore, Geneviève Pépin et son équipe technique Claude Marquis, Guillaume Noirant, Mathieu Gaudet et Daniel Boily. Merci au Ministère des Ressources naturelles et des Forêts, pour leur soutien logistique et leur collaboration active, notamment l’accès aux sites, le partage de données et l’autorisation de réaliser les campagnes d’échantillonnage nécessaires à mes travaux.

Merci à mes piliers de vie et parents : Nathalie et Patrick, aux membres de ma famille pour leur soutien constant : Sylvie, Tatiana, Amandine, Guillaumes et petits cousins : Maéva, Évan, Sacha, Alix et Lydie. Merci à ma famille de cœur : Marie-Paule, Stéphanie et Chinka — pour votre accompagnement sans faille, bien avant le début de cette thèse. Merci d’avoir contribué à faire de moi la personne que je suis aujourd’hui. Vous occupez une place essentielle dans ma vie. Malgré les milliers de kilomètres et les années sans se voir, vous avez continué à m’accompagner avec la même présence et le même amour. Merci.

Je tiens aussi à rendre hommage aux proches qui m’ont quitté : mes grands-parents, Ginette Marguerite, Gérard, Annie et Christian, mon parrain, Marc, ainsi que mon ami Patrick. Votre souvenir et votre bienveillance m’accompagnent encore aujourd’hui et continuent d’inspirer mon parcours. Vous existez à travers cette thèse.

Aussi, je souhaite adresser un remerciement particulier à ma Sphaxienne, Khouloud Bouaziz. Merci pour ta présence constante, ton soutien quotidien et tes encouragements tout au long de ces années. Ton sourire et joie de vivre ont su rendre supportables les périodes parfois plus difficiles de cette thèse et alléger le poids des moments de doute. *Aychek men qalbi, ya omri w farhti.*

Merci à mes ami.e.s de France, et en particulier à Camille, Cindy, Yasser, Alexandre, Mélissa, William, Dylan, Clément, Perrine, Axel, Amaury et Raphaël, pour leur soutien constant, leur

bienveillance et leurs messages qui ont traversé les distances et les années. Votre présence, même à distance, a compté. Je suis profondément reconnaissant de vous avoir à mes côtés.

Merci à mes ami.e.s et collègues québécois.es de Rouyn-Noranda pour leur soutien constant et ces moments précieux. Une pensée particulière à Samuel, Youssef, Éléonore, Patrick, Hiba, Pénélope, Audrey, Faneva, Simon, Maverick, Bérénice et à toutes les personnes croisées en chemin qui ont rendu ce parcours plus humain et agréable.

Enfin, je remercie, aussi, les professionnels de l'ombre qui ont contribué à rendre ce parcours plus plaisant : le personnel administratif, de sécurité, ainsi que les équipes du service d'entretien de l'UQAT, pour leur dévouement et leur travail souvent discret, mais toujours essentiel au bon déroulement de la vie universitaire. Merci à toi, André, je te souhaite une santé excellente !

DÉDICACE

À ceux qui sont,

À ceux qui ont été,

Cette thèse vous revient, avec respect et gratitude.

AVANT-PROPOS

Dans le cadre de cette thèse, les connaissances acquises ont été valorisées à travers des publications dans des revues scientifiques et des conférences avec comité de lecture, ainsi que par des présentations lors de conférences nationales et internationales et de symposiums scientifiques.

Cette thèse est structurée en huit chapitres : une introduction générale (chapitre 1), une revue de la littérature récente et ciblée (chapitre 2), une présentation de la méthodologie (chapitre 3), trois chapitres des résultats et interprétations présentés sous forme d'articles scientifiques (chapitres 4 à 6), une discussion des principaux résultats (chapitre 7), et une conclusion générale et perspectives (chapitre 8). Les chapitres 4, 5, 6, rédigés en anglais conformément aux exigences des revues et conférences avec comité de lecture, constituent le cœur du travail, tandis que le reste de la thèse est rédigé en français.

La contribution des auteurs pour les articles [A1–A3; AC1] est détaillée ci-dessous :

Xavier Marc Thevenot : conception, méthodologie, expérimentation, analyses, interprétation des données, visualisation et rédaction du manuscrit original.

Éric Rosa et Lucie Coudert : conception, supervision, méthodologie, analyses, visualisation et révision du manuscrit.

Tomy Roy, Eva Pakostová et Étienne Bélanger : méthodologie, analyses, visualisation et révision du manuscrit.

Nadia Mykytczuk : conception, méthodologie, analyses et révision du manuscrit.

Carmen Mihaela Neculita : supervision, coordination du projet, acquisition du financement, conception, méthodologie, analyses, visualisation et révision du manuscrit.

L'ensemble de ces réalisations est détaillé ci-dessous :

Articles publiés dans une revue avec comité de lecture

[A1] **Thevenot, X.M.**, Roy, T., Pakostova, E., Rosa, E., Coudert, L., Neculita, C.M., 2025. Effect of temperature and mixture composition on arsenic removal from neutral mine drainage in passive biofilters using iron-rich sludge and peat. *Ecological Engineering*. 219, 107697. (*publié*).

[A2] **Thevenot, X.M.**, Roy, T., Pakostova, E., Rosa, E., Coudert, L., Neculita, C.M., 2025. Performance of field-pilot passive biofilters using peat and Fe-rich sludge to remove arsenic from neutral mine drainage under a subarctic climate. *Science of The Total Environment*. 993, 179984. (*publié*).

[A3] **Thevenot, X.M.**, Roy, T., Pakostova, E., Bélanger, E., Rosa, E., Coudert, L., Mykytczuk, N., Neculita, C.M., 2025. Long-term performance of a woodchip-based field-scale biofilter for arsenic removal from neutral mine drainage under a cold climate. *Water Research*. 124756 (*publié*).

Article accepté pour conférence avec comité de lecture

[AC1] **Thevenot, X.M.**, Neculita, C.M., Coudert, L., Rosa, E., 2024. Passive treatment of As-rich neutral mine Drainage using natural organic and residual inorganic materials in cold climate. In: *Proceedings of International Conference on Acid Rock Drainage – ICARD 2024*, Halifax, Nova Scotia, Canada, September 16-20.

Présentations de conférences, poster et vulgarisation scientifique

[C1] **Thevenot, X.M.**, Neculita, C.M., Coudert, L., Rosa, E., 2023. Traitement du drainage neutre contaminé à l'arsenic au moyen de matériaux organiques naturels et inorganiques résiduels en climat froid. Colloque IRME, UQAT, Montréal, QC, 10 septembre.

[C2] **Thevenot, X.M.**, Neculita, C.M., Coudert, L., Rosa, E., 2024. Traitement du drainage neutre contaminé à l'arsenic au moyen de matériaux organiques naturels et inorganiques résiduels en climat froid. Séminaire Enviro-Mines, IRME, UQAT, Rouyn-Noranda, QC, 30 mai.

[P1] **Thevenot, X.M.**, Neculita, C.M., Coudert, L., Rosa, E., 2025. Évaluation multi-échelle de l'efficacité des biofiltres passifs pour l'enlèvement de l'arsenic du drainage neutre contaminé. Symposium sur l'Environnement et les Mines, Rouyn-Noranda, 8–11 juin.

[VG1] **Thevenot, X.M.**, 2023. Ma thèse en 180s. Interview à Radio Canada, UQAT, Rouyn-Noranda, QC, 23 mars.

RÉSUMÉ

La fermeture des sites miniers, et ceux abandonnés sans mesures de restauration, constitue un passif environnemental majeur à l'échelle mondiale. Historiquement, le traitement des eaux minières a été conçu pour le drainage minier acide (DMA ; $\text{pH} < 6$), issu de l'oxydation de minéraux sulfurés et caractérisés par une forte teneur en métaux dissous, sulfates et métalloïdes. Les procédés actifs (neutralisation, précipitation chimique) sont efficaces pour diminuer les concentrations en contaminants, mais impliquent des coûts élevés (réactifs, entretien des infrastructures, consommation énergétique), difficilement soutenables après fermeture. Au Québec, Canada, les principaux minéraux porteurs d'As (pyrite arsénienne ($\text{Fe}(\text{S},\text{As})_2$), löllingite (FeAs_2) et réalgar (As_4S_4)) sont couramment présents dans les résidus et les stériles des mines d'or. Alors que l'oxydation de ces minéraux génère de l'acidité, la présence de carbonates coexistants (calcite (CaCO_3), dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$)) et d'aluminosilicates neutralise le pH, générant un drainage minier neutre contaminé à l'As (DNC-As). Le DNC-As se caractérise par un pH neutre (6–9) avec des concentrations en As dépassant les limites recommandées par la Directive 019 du Québec ($< 0,1 \text{ mg As/L}$; provincial) et imposées par la Réglementation sur les effluents des mines de métaux et des mines de diamants (REMMMD) du Canada ($< 0,3 \text{ mg As/L}$; fédéral). Le DNC-As repose principalement sur des mécanismes de sorption (vs. précipitation DMA) pour l'immobilisation de l'As. Ainsi, la mise en place de biofiltres passifs, constitués de matériaux organiques naturels et inorganiques résiduels, offrent une alternative à faible coût, bien que leurs performances à long terme et processus sous-jacents dans l'immobilisation de l'As restent peu documentés, particulièrement en climat froid.

Dans ce contexte, cette thèse vise à combler ces lacunes en poursuivant les objectifs suivants : (1) évaluer comparativement l'efficacité d'un matériau/mélange de matériaux à immobiliser l'As dans le DNC-As ; (2) identifier et quantifier les processus géochimiques et biochimiques impliqués dans l'immobilisation de l'As présent dans des DNC-As ; (3) réaliser une étude comparative des résultats obtenus en laboratoire et sur le terrain (objectif 1 et 2) afin de déterminer les critères de conception adaptés au développement de nouveaux systèmes de traitement passif au DNC-As en contexte nordique. L'approche méthodologique reposait sur une combinaison d'expérimentations multi-échelles (cm^3 , dm^3 , m^3 , milliers de m^3) et de caractérisations complémentaires (physico-chimiques, microbiologiques, isotopiques) en conditions contrôlées de laboratoire et réelles sur deux sites miniers. La première phase, à l'échelle du laboratoire, a consisté à réaliser une série d'essais en lots (cm^3) pour identifier le mélange de matériaux le plus performant et définir un temps de rétention hydraulique (TRH) optimal. Ces résultats ont ensuite été utilisés pour concevoir un biofiltre de laboratoire (dm^3), opéré en flux continu. Dans une deuxième phase, des biofiltres pilotes à plus grande échelle (m^3) ont été installés et suivis sur le site minier Dhilmar Éléonore afin d'évaluer leur efficacité à moyen terme. Enfin, une analyse rétrospective a été menée sur le site restauré de Wood-Cadillac, où un biofiltre passif (milliers de m^3) à base de copeaux de bois est en fonctionnement depuis plus de vingt ans, afin de mieux comprendre les mécanismes d'immobilisation de l'As à long terme.

L'analyse de la littérature a révélé que les tourbières naturelles constituent une approche pertinente pour le traitement du DNC-As en contexte nordique. Riches en matière organique, elles immobilisent naturellement les métaux et métalloïdes (As, Fe, Al) par sorption et complexation, un processus facilité par les communautés microbiennes impliquées dans les

cycles biogéochimiques (As, Fe, et S). Toutefois, leur faible conductivité hydraulique implique des TRH élevés (jours à semaines), une large emprise au sol, et favorise la réduction d'As(V) en As(III), plus mobile et toxique. Ces limites restreignent leur applicabilité. Les biofiltres artificiels, conçus pour reproduire ces fonctions biogéochimiques, répondent mieux aux contraintes techniques, spatiales et économiques. Les biofiltres uniquement organiques montrent une efficacité limitée, alors que l'ajout de résidus inorganiques riches en Fe améliore significativement la capacité d'immobilisation de l'As. Le mélange de tourbe (abondante au Québec) et de boues de géotube riches en Fe (déchet industriel), constitue une stratégie prometteuse pour renforcer l'efficacité d'immobilisation de l'As et le développement d'un support microbien actif. À ce jour, aucune étude n'a évalué cette combinaison pour le traitement du DNC-As, soulignant la pertinence de cette thèse. Par ailleurs, bien que l'immobilisation de l'As par le Fe soit largement reconnue comme mécanisme dominant à pH neutre, la stabilité à long terme de l'As immobilisé, les interactions avec les communautés microbiennes impliquées dans les cycles biogéochimiques (As, Fe, et S), ainsi que l'influence des gradients redox sur la spéciation de l'As en profondeur demeurent insuffisamment documentées. Ces incertitudes justifient une approche intégrée visant à évaluer, à différentes échelles et dans des conditions réalistes, l'efficacité et les mécanismes des biofiltres appliqués au traitement passif du DNC-As.

Ces considérations ont motivé une première étude expérimentale au laboratoire visant à tester l'efficacité d'un biofiltre passif combinant tourbes et boues pour le traitement du DNC-As. En lots (cm^3), divers ratios ont été testés, et le mélange 50/50 (en masse sèche) s'est révélé le plus performant. Des essais en lots à 5°C vs. 22°C , réalisés avec un DNC-As synthétique ($2,0 \text{ mg As/L}$, pH 7,16) vs. réel ($0,91 \text{ mg As/L}$, pH 7,63), ont montré des rendements d'enlèvement plus élevés pour le DNC-As synthétique (jusqu'à 88%) que pour le DNC-As réel (jusqu'à 77%), la différence étant attribuée à la salinité résiduelle. La température ayant un impact modéré après 4 h de temps de contact. L'As était majoritairement immobilisé par chimisorption ($R^2 = 0,99$). Ce mélange a ensuite été utilisé dans un biofiltre de laboratoire en flux continu ascendant durant 3 mois (22°C ; TRH = 1 j), atteignant 98% d'enlèvement la première semaine, suivie d'un relargage d'As après 27 j. L'analyse des communautés microbiennes a révélé la présence de réducteurs de Fe (11%), d'oxydants du soufre (6,1%), de réducteurs de sulfate (6,0%) et de procaryotes métabolisant l'As (3,5%), soulignant le rôle potentiel des microorganismes dans le cycle de l'As. Ces résultats confirment le potentiel de la combinaison tourbe/boues pour un traitement efficace du DNC-As à court terme, mais mettent en évidence la nécessité d'évaluer la stabilité d'immobilisation de l'As à plus long terme en conditions réelles.

Deux biofiltres pilotes (1 m^3), constitués d'un mélange tourbe/boues (50/50) et graviers, ont été installés sur un site minier actif du nord du Québec (Canada) afin de traiter un DNC-As réel. Exploités pendant trois mois, TRH = 1 j, ces systèmes ont atteint une efficacité d'enlèvement de $96 \pm 2,9\%$, avec des concentrations finales conformes à la réglementation ($< 0,05 \text{ mg As/L}$). Un lessivage initial des métaux(oïdes) (As, Fe) et du carbone organique dissous (COD) a été observé, suivi d'une stabilisation rapide des performances après 5–10 j. L'As était principalement immobilisé par sorption sur les (oxy)hydroxydes de Fe et la matière organique. Les analyses microbiennes ont révélé la présence de procaryotes neutrophiles associés aux transformations du soufre et de l'As, incluant des oxydants du soufre (dominés par *Thiobacillus*), des réducteurs de sulfate, et des micro-organismes métabolisant l'As, témoignant d'un cycle biogéochimique actif à pH neutre. Ces résultats confirment l'efficacité du couplage tourbe/boues en conditions réelles, mais soulignent la nécessité de caractériser les performances

à long terme face aux fluctuations de température, à la réduction de la conductivité hydraulique et à la stabilité des phases minérales.

À grande échelle (2850 m³), le biofiltre de Wood-Cadillac (Québec) offre un retour unique sur les performances à long terme d'un traitement passif au DNC-As. Exploité en continu depuis plus de 22 ans, ce biofiltre (57 m x 50 m x 1 m) composé de copeaux de bois a maintenu une efficacité d'enlèvement atteignant 80%, avec des concentrations finales conformes à la réglementation (< 0,1 mg As/L). L'analyse de la spéciation de l'As a révélé des transformations redox selon la profondeur, avec la prédominance d'As(V) en surface et l'accumulation de formes réduites et méthylées (As(III), MMA(V), DMA(V)) en profondeur. Les profils isotopiques du soufre ($\delta^{34}\text{S}$) et les concentrations en SO_4^{2-} suggèrent l'existence de micro-niches anoxiques favorables à la réduction microbienne des sulfates, soutenue par un enrichissement isotopique ($> +12\text{‰}$). Ces zones coïncidaient avec une abondance élevée de bactéries sulfato-réductrices (BSR), et la formation de complexes As-S et de précipités FeAsS/AsS. La diversité α des communautés microbiennes s'est révélée stable, mais la β -diversité variait significativement avec la profondeur chez les procaryotes champignons. La distribution verticale des taxons fonctionnels liés aux cycles du S, Fe et As reflétait des conditions redox stratifiées et une interaction soutenue entre processus microbiens et géochimiques, essentielle au maintien de l'efficacité du traitement. Ces résultats confirment le potentiel durable des biofiltres organiques pour le traitement passif du DNC-As, même après plusieurs décennies de fonctionnement en climat nordique.

Ces conclusions ouvrent des nouvelles perspectives pour la conception de biofiltres passifs adaptés à la réhabilitation de sites miniers fermés ou abandonnés, en valorisant des matériaux disponibles localement, à faible coût et à faible impact environnemental. Ils offrent également un cadre de référence pour les instances réglementaires et les gestionnaires de sites dans l'élaboration de stratégies de traitement durable. Au-delà des aspects techniques, ce travail s'inscrit dans une réflexion plus large sur le rôle des technologies environnementales dans la transition socioécologique. L'intégration de solutions fondées sur des matériaux naturels ou résiduels dans des territoires affectés par l'héritage minier peut contribuer à restaurer le lien entre les milieux contaminés et les communautés riveraines, en favorisant la participation citoyenne, la transparence des actions de réhabilitation et la réappropriation des paysages dégradés.

Mots clés : Drainage neutre contaminé à l'As, biofiltres passifs, multi-échelles, tourbe, boues riches en Fe, diversité microbienne

ABSTRACT

The closure of mine sites, particularly those abandoned without remediation, constitutes a major environmental liability worldwide. Historically, mine water treatment has focused on acid mine drainage (AMD; $\text{pH} < 6$), generated by the oxidation of sulfide minerals and characterized by high concentrations of dissolved metal(oid)s and sulfates. While active treatment technologies (e.g., neutralization, chemical precipitation) are effective in reducing contaminant levels, they involve high costs (chemical reagents, infrastructure maintenance, energy), which are difficult to sustain after mine closure. In Québec (Canada), arsenic-bearing minerals such as arsenian pyrite ($\text{Fe}(\text{S},\text{As})_2$), löllingite (FeAs_2), and realgar (As_4S_4) are commonly found in tailings and waste rock at gold mine sites. Although the oxidation of these minerals releases acidity, the co-occurrence of carbonate phases (calcite, CaCO_3 ; dolomite, $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) and aluminosilicates buffers the pH, leading to the formation of neutral mine drainage contaminated with arsenic (As-NMD). The As-NMD is characterized by near-neutral pH (6–9) and arsenic concentrations that exceed the thresholds set by Québec's Directive 019 ($< 0.1 \text{ mg As/L}$) and Canada's Metal and Diamond Mining Effluent Regulations (MDMER; $< 0.3 \text{ mg As/L}$). In contrast to AMD, As-NMD treatment relies mainly on sorption mechanisms rather than precipitation. Passive biofilters composed of natural organic matter and residual Fe-rich inorganic materials represent a cost-effective alternative, though their long-term performance and the mechanisms governing arsenic retention remain poorly documented, especially under cold-climate conditions.

In this context, this thesis aims to address these knowledge gaps by pursuing the following objectives: (1) evaluate and compare the As retention capacity of individual materials and material mixtures; (2) identify and quantify the geochemical and microbial processes involved in As immobilization in As-NMD; and (3) compare laboratory and field results (objectives 1 and 2) to define design criteria for the development of passive As-NMD treatment systems adapted to northern environments. The methodology combined multiscale experiments (cm^3 , dm^3 , m^3 , and thousands of m^3) and complementary analyses (physicochemical, microbiological, isotopic), conducted under controlled laboratory conditions and *in situ* at two mining sites.

In the first phase, laboratory-scale batch tests (cm^3) were used to determine the most effective material mixture and optimum hydraulic retention time (HRT). A 50/50 (dry w/w) peat–Fe-rich sludge (AMD-S) mixture demonstrated the highest As removal efficiency. Experiments with synthetic As-NMD (2.0 mg As/L, pH 7.16) and real As-NMD (0.91 mg As/L, pH 7.63) at 5°C and 22°C showed higher removal efficiencies for synthetic (up to 88%) than real As-NMD (up to 77%), attributed to residual salinity. The impact of temperature was limited after 4 hours of contact. Arsenic was primarily retained through chemisorption ($R^2 = 0.99$). The 50/50 mixture was then tested in an upflow laboratory-scale biofilter (dm^3) operated at 22°C for 3 months (HRT = 1 d). The system reached 98% removal during the first week, followed by As release after 27 d. Microbial community analysis identified Fe-reducers (11%), S-oxidizers (6.1%), sulfate reducers (6.0%), and As-metabolizing prokaryotes (3.5%), indicating potential contributions of microbial processes to As cycling.

In the second phase, 1 m^3 pilot-scale biofilters in duplicate with a 50/50 (w/w) peat–AMD–S–gravel filling mixture were installed at the Dhilmar Éléonore active mine site in

northern Québec to treat real As-NMD. Operated for three months with an HRT of 1 d, these systems achieved average As removal efficiencies of $96 \pm 2.9\%$, with final concentrations below 0.05 mg As/L, according to Canada's Metal and Diamond Mining Effluent Regulations (0.3 mg As/L; MDMER) and Québec guideline (0.10 mg As/L; D019). An initial leaching phase of As, Fe, and dissolved organic carbon was observed, followed by stabilization within 5–10 d. Arsenic was mainly retained by sorption onto Fe-(oxy)hydroxides and organic matter. Microbial analysis revealed neutrophilic prokaryotes involved in S and As transformations, including S-oxidizers (mainly *Thiobacillus* spp.), sulfate reducers, and As-metabolizing microorganisms, demonstrating active biogeochemical cycling at neutral pH.

Finally, at the field scale (2850 m³), the Wood-Cadillac passive biofilter in Québec provides a unique long-term case study. Operated continuously for over 22 years and composed solely with yellow birch woodchips, it maintained As removal efficiencies of ~80%, with final concentrations consistently below 0.1 mg As/L. Arsenic speciation varied with depth, showing redox-driven gradients: As(V) dominated at the surface, while reduced and methylated forms (As(III), MMA(V), DMA(V)) accumulated at depth. Sulfur isotope data ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}} > +12\text{‰}$) and sulfate depletion indicated the presence of anoxic microzones supporting microbial sulfate reduction, confirmed by the detection of sulfate-reducing bacteria and the co-occurrence of As–S complexes or FeAsS/AsS precipitates. While prokaryotic α -diversity was stable, β -diversity varied markedly with depth for both prokaryotic and fungal communities. Functional taxa involved in S, Fe, and As cycling also showed vertical structuring, consistent with redox stratification and sustained microbial–mineral interactions, which underpin the system's long-term treatment capacity.

These findings highlight the long-term potential of organic-based passive biofilters for As-NMD remediation in cold climates. They support the development of sustainable treatment systems using low-cost, locally sourced materials and provide a reference framework for regulators and site managers. Beyond technical performance, this work contributes to a broader reflection on the role of environmental technologies in socioecological transitions. Integrating natural or residual materials into passive treatment designs may help restore degraded mining landscapes and foster stronger connections between contaminated environments and nearby communities through transparency, citizen engagement, and landscape reappropriation.

Keywords: As-rich neutral mine drainage, passive treatment, multiscale experiments, peat, Fe-rich sludge, microbial diversity

TABLE DES MATIÈRES

PRÉSENTATION DU JURY.....	I
REMERCIEMENTS	II
DÉDICACE	V
AVANT-PROPOS.....	VI
RÉSUMÉ	VIII
ABSTRACT	XI
TABLE DES MATIÈRES.....	XIII
LISTE DES FIGURES	XIX
LISTE DES TABLEAUX	XXIII
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS	XXV
1. INTRODUCTION	1
1.1 Contexte de l'étude.....	1
1.2 Problématique	4
1.3 Hypothèses de recherche.....	4
1.4 Objectifs de la thèse.....	5
1.4.1 Objectif général	5
1.4.2 Objectifs spécifiques	6
1.5 Originalité du projet.....	6
1.6 Organisation de la thèse.....	7
2. REVUE DE LITTÉRATURE	9
2.1 Industrie minière au Canada : croissance économique et contraintes réglementaires ...	9
2.1.1 Sites abandonnés et drainage minier : les vestiges d'un passé contaminé	11
2.1.2 Drainage minier	13
2.1.3 Conditions d'apparition du DNC-As.....	14
2.2 Caractérisation géochimique et dynamique de l'As	15
2.2.1 Origine géochimique et minéralogique de l'As.....	15
2.2.2 Altération des sulfures d'As et impacts sur la dynamique de l'As.....	16
2.2.3 Spéciation de l'As en milieux aqueux	17
2.2.3.1 Échantillons, conservation et stabilité des espèces d'arsenic	19

2.3 Principal mécanisme physico-chimique d'immobilisation des métaux(oïdes) dans le DNC-As	20
2.3.1 La sorption.....	20
2.3.2 Immobilisation de l'arsenic par interactions chimiques avec les phases minérales et organiques	21
2.3.3 Formation et stabilité des thioarsenicaux dans les eaux souterraines : rôle des conditions redox et de la matière organique.....	23
2.3.4 Immobilisation de l'arsenic par mécanisme biochimique	25
2.4 Communauté bactérienne indigènes en environnement minier : eaux et sols contaminés au DNC-As.....	28
2.4.1 Généralités sur le microbiote bactérien en contexte minier arsénifère.....	28
2.4.2 Communauté microbienne du sol	29
2.4.3 Communauté microbienne des eaux.....	33
2.4.4 Microorganismes et rôle géochimique dans le cycle de l'As	36
2.5 Composition et fractionnement isotopique du soufre : étude de l'origine biotique et abiotique des sulfures d'As.....	38
2.5.1 Généralités sur l'isotopie du soufre et son fractionnement isotopique.....	38
2.5.1.1 Rapport isotopique et notation $\delta^{34}\text{S}$	38
2.5.1.2 Processus de fractionnement isotopique	39
2.5.2 Fractionnement isotopique du soufre dans les milieux naturels.....	41
2.5.3 Fractionnement isotopique du soufre d'origine inorganique.....	45
2.5.4 Fractionnement isotopique du soufre d'origine organique.....	46
2.6 Approche méthodologique dans la mise en place d'un système de traitement passif pour des sites en fermeture ou abandonnés générateurs de DNC-As	47
2.6.1 Traitement passif chimique	48
2.6.2 Traitement passif biochimique	49
2.6.3 Démarche préliminaire à la conception de biofiltres au DNC-As.....	53
2.6.3.1 Expériences de sorption en lots (150 cm ³ , j)	54
2.6.3.2 Cinétiques de sorption	57
2.6.3.2.1 Modèle de pseudo-premier ordre	58
2.6.3.2.2 Modèle de pseudo-second ordre	58

2.6.3.3 Isothermes de sorption.....	59
2.6.3.3.1 Isotherme de Langmuir.....	59
2.6.3.3.2 Isotherme de Freundlich	59
2.6.3.4 Efficacité de sorption.....	60
2.6.4 Matériaux et stratégies de conception des biofiltres au DNC-As.....	60
2.6.4.1 Matériaux organiques naturels : écorces de bois et tourbe	63
2.6.4.1.1 Les écorces de bois	63
2.6.4.1.2 La tourbe	64
2.6.4.2 Matériaux inorganiques résiduelles : la boue de géotube.....	65
2.6.5 Conception et considerations opérationnelles	66
2.6.6 Facteurs de performance.....	68
2.6.6.1 Variabilité du débit et influence climatique	70
2.6.6.2 Effets du gel/dégel sur la rétention des contaminants	71
2.6.7 Temps de rétention hydraulique (TRH)	72
2.6.7.1 Défis et contraintes dans l'obtention d'un TRH optimal.....	73
2.7 Approche technico-économique dans la mise en place d'un biofiltre	78
3. DÉMARCHE MÉTHODOLOGIQUE ET SITES D'ÉTUDE	80
3.1 Démarche méthodologique globale de la thèse.....	80
3.2 Sites d'étude.....	83
3.2.1 Site actif Dhilmar Éléonore	83
3.2.2 Site Wood-Cadillac abandonné et restauré.....	85
4. ARTICLE 1 : EFFECT OF TEMPERATURE AND MIXTURE COMPOSITION ON ARSENIC REMOVAL FROM NEUTRAL MINE DRAINAGE IN PASSIVE BIOFILTERS USING IRON-RICH SLUDGE AND PEAT.....	87
4.1 Graphical Abstract	88
4.2 Highlights.....	88
4.3 Abstract	89
4.4 Introduction.....	90
4.5 Materials and methods	92
4.5.1 Mine site description	92
4.5.2 Sampling and storage of peat and AMD-S.....	94

4.5.3 Physicochemical characterization of peat and AMD-S.....	94
4.5.4 As(V) adsorption batch tests (150 cm ³).....	95
4.5.5 Lab-scale biofilter system (87 dm ³)	98
4.5.5.1 Setup and operation	98
4.5.5.2 Microbiological analysis.....	100
4.5.6 Liquid sample analyses.....	100
4.5.7 Mathematical analyses.....	101
4.5.7.1 As removal rate and adsorption capacity	101
4.5.7.2 Thermodynamic equilibrium calculations	102
4.6 Results and discussion	102
4.6.1 Physicochemical characterization of peat and AMD-S.....	102
4.6.2 As(V) adsorption in batch tests	104
4.6.2.1 Impact of sorbent composition on drainage pH and physicochemical properties	104
4.6.2.2 As adsorption efficiency of different sorbent mixtures	106
4.6.2.3 Inefficient As removal using pure peat (P100).....	107
4.6.3 As(V) and metal leaching from sorbent mixtures	107
4.6.3.1 The importance of metal (oxy)hydroxides during As sorption onto peat-based sorbents.....	109
4.6.3.2 Effects of AMD-S chemical composition on final drainage quality	109
4.6.3.3 Selection of the most effective sorbent mixture	110
4.6.4 Additional batch testing at 22 and 5°C with synthetic and real As-NMD	111
4.6.4.1 Effects of contact time and temperature on treated drainage quality	111
4.6.4.2 Effects of contact time, temperature, and salinity on As sorption.....	113
4.6.4.3 Sorption kinetic modeling for P50/AMD-S50 sorbent.....	114
4.6.4.4 Thermodynamic equilibrium calculations using PHREEQC	116
4.6.5 Arsenic removal by lab-scale biofilter in continuous mode.....	116
4.6.5.1 Evolution of physicochemical properties of treated drainage	116
4.6.5.2 Changes in As, Fe, and S concentrations in treated drainage in continuous mode.....	118
4.6.5.3 Biofilter system after 3 months of operation	120

4.6.5.4 Prokaryotic and fungal communities in the lab-scale biofilter system.....	121
4.6.5.5 Role of selected metal(oid)-metabolizing prokaryotes.....	123
4.6.5.5.1 Genera metabolizing S and Fe.....	123
4.6.5.5.2 As-metabolizing genera	125
4.7 Conclusion	126
5. ARTICLE 2 : PERFORMANCE OF FIELD-PILOT PASSIVE BIOFILTERS USING PEAT AND FE-RICH SLUDGE TO REMOVE ARSENIC FROM NEUTRAL MINE DRAINAGE UNDER A SUBARCTIC CLIMATE	128
5.1 Graphical Abstract	129
5.2 Highlights.....	129
5.3 Abstract	130
5.4 Introduction.....	131
5.5 Materials and methods	133
5.5.1 Study site and wastewater management processes.....	133
5.5.2 As-NMD and materials sourcing.....	136
5.5.2.1 As-NMD sampling	136
5.5.2.2 Preparation and characterization of biofilter mixture.....	136
5.5.3 Operational design of the biofilters	137
5.5.4 Leachate quality monitoring and As speciation	139
5.5.5 Microbiological analysis and data processing.....	140
5.5.6 Bioinformatic, statistical, and multivariate data analysis.....	140
5.6 Results and discussion	141
5.6.1 Pilot-scale field biofilter treatment of As-NMD	141
5.6.1.1 Evolution of physicochemical parameters.....	141
5.6.1.2 Evolution of SO_4^{2-} , Fe, As, and Sb concentrations	143
5.6.2 Prediction of As speciation in the pilot-scale field biofilter.....	146
5.6.3 Prokaryotic communities in the pilot-scale field biofilter.....	147
5.6.3.1 Spatial distribution and diversity of prokaryotic communities	147
5.6.3.2 Prokaryotic communities	149
5.6.3.3 As-, S- and Fe-metabolizing genera	150
5.6.3.4 Effects of physicochemical parameters on prokaryotic dynamics	153

5.6.4 Fungi in the pilot-scale field biofilter	155
5.6.5 Performance of the pilot-scale biofilters: Stability and long-term viability	155
5.7 Conclusion	157
6. ARTICLE 3 : LONG-TERM PERFORMANCE OF A WOODCHIP-BASED FIELD-SCALE BIOFILTER FOR ARSENIC REMOVAL FROM NEUTRAL MINE DRAINAGE UNDER A COLD CLIMATE	159
6.1 Graphical Abstract	160
6.2 Highlights.....	160
6.3 Abstract	161
6.4 Introduction.....	162
6.5 Materials and methods	164
6.5.1 Study site	164
6.5.1.1 Prior investigations in the Wood-Cadillac biofilter.....	166
6.5.2 Water geochemistry.....	166
6.5.2.1 Surface and pore water sampling.....	166
6.5.2.1.1 Water sample analysis	167
6.5.3 Microbial profiling in soil samples.....	168
6.5.3.1 Sampling, DNA extraction, and sequencing	168
6.5.3.2 Sequence data processing: Bioinformatics, statistics, and multivariate analysis	169
6.6 Results and discussion	170
6.6.1 Spatial variability of physicochemical parameters in the Wood-Cadillac field-scale biofilter.....	170
6.6.2 Distribution of As species in the Wood-Cadillac biofilter	174
6.6.3 Sulfur isotope composition ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) as a tracer of microbial sulfate reduction	175
6.6.4 Prokaryotic and fungal communities in the field-scale biofilter	179
6.6.4.1 Spatial distribution of microbiomes	179
6.6.4.2 Diversity of microbial communities	180
6.6.4.3 Depth-driven variations in microbial community structure	182
6.6.4.4 Microbial functional profiles	184

6.6.4.5 S-, Fe- and As-metabolizing prokaryotes	186
6.6.5 Integrated conceptual model of biogeochemical stratification and As retention in the biofilter	188
6.7 Conclusion	189
7. DISCUSSION GÉNÉRALE.....	192
7.1 Comparaison multi-échelle des performances des biofiltres	193
7.1.1 Essais en lots (150 cm ³).....	195
7.1.2 Biofiltre de laboratoire (80 dm ³)	195
7.1.3 Biofiltres pilotes de terrain (1 m ³)	196
7.1.4 Biofiltre de Wood-Cadillac (milliers de m ³)	197
7.2 Contraintes rencontrées selon les différentes échelles expérimentales.....	198
7.3 Recommandations dans la conception des biofiltres passifs au DNC-As	200
7.4 Retour sur les hypothèses et objectifs spécifiques	202
8. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	205
ANNEXE A – MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE PUBLIÉ AVEC L’ARTICLE 1	207
ANNEXE B – MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE PUBLIÉ AVEC L’ARTICLE 2	214
ANNEXE C – MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE PUBLIÉ AVEC L’ARTICLE 3	220
ANNEXE D – ARTICLE 4 : PASSIVE TREATMENT OF AS-RICH NEUTRAL MINE DRAINAGE USING NATURAL ORGANIC AND RESIDUAL INORGANIC MATERIALS IN COLD CLIMATE	237
LISTE DE RÉFÉRENCE	252

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Liste exhaustive de solubilité des hydroxydes métalliques en fonction du pH à 25°C.	15
Figure 2.2 Diagramme de prédominance des espèces d'As dissoutes dans le système As–O–H. $\Sigma \text{As} = 10^{-10}$, 298.15K, 10^5 Pa.....	18
Figure 2.3 Modèles schématiques illustrant la formation de complexes entre As(III), Fe(II)/Fe(III) à la MO en fonction des concentrations et l'état redox de Fe dans les zones humides.....	22
Figure 2.4 Représentation des différents mécanismes liés au cycle biogéochimique de l'As. .	37
Figure 2.5 Outil de diagnostic conceptuel à la compréhension des processus isotopiques du sulfate.	40
Figure 2.6 Classification des systèmes de traitement passif par voie chimiques et biochimiques.....	48
Figure 2.7 Exemple schématique des différents mécanismes physico-chimiques entre le complexe argilo-humique du sol tourbeux et les éléments métalliques(oïdes) de l'eau interstitielle et de la matrice poreuse.	65
Figure 2.8 Représentation schématique du biofiltre passif de Wood-Cadillac.	67
Figure 2.9 Facteurs d'influence à prendre en compte dans la performance d'un biofiltre au DNC-As.	69
Figure 2.10 Schéma technico-économique de l'implantation d'un biofiltre au DNC-As.	79
Figure 3.1 Représentation schématique de la démarche méthodologique globale de la thèse. .	81
Figure 3.2 Démarche méthodologique et principaux paramètres analysés dans l'élaboration d'un biofiltre au DNC-As.	82
Figure 3.3 (a) Mine Dhilmar Éléonore et empiètement des zones humides photos du (b) site industriel, (c) PAR–S et halde à tourbe, et (d) géotubes à l'UTEL.....	84
Figure 3.4 (a) Localisation du site minier Wood-Cadillac (b) abandonné et (c) restauré. Photos du (d) biofiltre de Wood-Cadillac comprenant (e) l'échantillonnage, (f) le regard de collecte, (g) le ruisseau récepteur, (h) l'aval du déversoir d'orage.	86

Figure 4.1 (a) Location and (b) general view of the Éléonore mine site. Peat (c) and AMD-S (d) sampled on-site; (e) P50/AMD-S50 sorbent mixture (composed of 50 wt% peat and 50 wt% AMD-S).....	93
Figure 4.2 Setup of the lab-scale biofilter operated in a continuous mode for As removal from mine water (photo on the left, schematic design on the right).	99
Figure 4.3 As(V) concentrations in synthetic drainage (a) treated by different sorbent mixtures for 24 h, and (b) treated by five most performant sorbents (based on data in (a) for 24, 36, and 48 h. All batch tests were performed at 22°C, with a solid/liquid ratio of 1/10 and initial As(V) concentration of 2.0 mg/L. MDMER [As]f: Canada's Metal and Diamond Mining Effluent Regulations (MDMER) limit for As.	106
Figure 4.4 Changes in pH, DOC, DO, Eh, EC, S, As, Fe, and Fe ³⁺ during batch removal of As from synthetic (S; As _{initial} : 2.0 mg/L) or real (R; As _{initial} : 0.91 mg/L) As-NMD using P50/AMD-S50 sorbent mixture performed at 22°C (black point) and 5°C (white point). The vertical dotted lines mark a 1-day contact time.....	112
Figure 4.5 Kinetic modeling of As sorption onto P50/AMD-S50 sorbent at 22 and 5°C. The vertical dotted line marks a 1-day contact time.	115
Figure 4.6 Evolution of pH, Eh, EC, DO, DOC, and alkalinity in effluent during the lab-scale biofilter test at 22°C using synthetic As-NMD ([As] _{initial} : 2.5, 2.0 and 1.0 mg/L) and P50/AMD-S50 sorbent. The vertical dotted lines indicate changes in influent As content.	117
Figure 4.7 Evolution of As, Fe, and S concentrations in effluent during the lab-scale biofilter test at 22°C, using synthetic ([As] _{initial} : 2.5, 2.0 and 1.0 mg/L) As-NMD and P50/AMD-S50 mixture. The vertical dotted lines indicate changes in influent As content.	118
Figure 4.8 Changes in the effluent color over 3 months of biofilter operation, and a photo of the biofilter outlet after dismantling (on day 107).	120
Figure 4.9 The mean relative proportions of 10 most abundant prokaryotic phyla in the lab-scale biofilter (biofilter-Post; n = 2) and biofilter-Pre (unused P50/AMD-S50 mixture; n = 1) samples.	122
Figure 4.10 Relative abundances of S- and Fe-metabolizing prokaryotic genera in the biofilter-Post (n = 2) and biofilter-Pre (n = 1) samples.	124

- Figure 5.1 Location of the Dhilmar Éléonore gold mine in northern Québec (a) (adapted from <https://d-maps.com/>), and (b) site map showing the location of sampling sites for As-NMD (c), AMD-S (Sludge from the active treatment of Acid Mine Drainage) (d), peat (e, f), gravel (g), and the filling mixture (h). Legend: As-NMD : As-rich Neutral Mine Drainage; WSF : Waste Storage Facility; IWTU : Industrial Water Treatment Unit. 134
- Figure 5.2 Simplified flowsheet of the Dhilmar Éléonore gold mine water treatment process and location of As-NMD and AMD-S sampling streams. 135
- Figure 5.3 Schematic representation (a), photographs (b), and cross-section (c) of the biofilters built to treat As-NMD. Cores n°1 and n°2 indicate solids sampling locations and the corresponding depths (I1, A, B, I2) from which samples were collected. 138
- Figure 5.4 Evolution of pH, DOC, alkalinity, EC, Eh, DO, salinity, and temperature over 3 months at the inlet and outlets of the duplicate pilot-scale field biofilters. The grey area corresponds to the biofilters' start-up phase. 142
- Figure 5.5 Evolution of SO_4^{2-} , Fe, As, and Sb influent and effluent concentrations in the pilot-scale field biofilters over 3 months. The grey area corresponds to the biofilters' start-up phase. $\text{D019} = 0.10 \text{ mg/L}$, $\text{MDMER} = 0.30 \text{ mg/L}$ 144
- Figure 5.6 Mosaics of Eh-pH Pourbaix diagrams for As-NMD samples (from August to November) for the (a) As–O–H system at 25°C , 1 bar, $\sum\text{As} = 10^{-5} \text{ M}$ and (b) As–O–H at 25°C , 1 bar, $\sum\text{As} = 10^{-5} \text{ M}$, $\sum\text{Ca} = 10^{-2.5} \text{ M}$, $\sum\text{SO}_4^{2-} = 10^{-2} \text{ M}$. Diagrams were generated using Geochemist's Workbench® Community Edition, based on equilibrium As speciation calculated in PHREEQC. 147
- Figure 5.7 Principal coordinate analysis (PcoA) of microbial community composition in pilot-scale field biofilter across 2 core sampling locations (n°1, n°2), 4 groups (depths I1, A, B, I2), and control sample (unused filling mixture), based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix. 148
- Figure 5.8 The relative proportions of the 10 most abundant prokaryotic phyla in the pilot-scale field biofilter across 2 core sampling locations (n°1, n°2), 4 groups (depths I1, A, B, I2), and control sample (unused filling mixture). 149
- Figure 5.9 Proportions of total reads of (a) As(III)-oxidizing, and (b) As(V)-reducing prokaryotes (both on the genus level). 151

Figure 5.10 Relative abundance of S-metabolizing prokaryotic genera in the control and pilot-scale field biofilter (core n°1 and n°2) samples.....	152
Figure 5.11 Heatmap correlating the physicochemical parameters of the As-NMD biofilter with the abundance of prokaryote genera. Significant correlations (* <i>p-value</i> < 0.05, ** <i>p-value</i> < 0.01, *** <i>p-value</i> < 0.001) highlight the ecological roles of bacterial taxa in the As-NMD-treating biofilter. Pearson values ($r > 0$, shades of red) indicate a positive correlation, negative values ($r < 0$, shades of blue) indicate a negative correlation, and $r = 0$ (white) indicates there was no correlation detected between the variable and prokaryotic genus.....	154
Figure 6.1 Location of the Wood-Cadillac field-scale biofilter in northwestern Québec, Canada (a) aerial site view with sampling locations (b), schematic representation of the biofilter showing the vertical core profile and As-NMD pore water sampling (c), photos of organic residues sampled (d) and equipment used for pore water extraction (e).	165
Figure 6.2 (a) Conceptual model of spatial distribution of physicochemical parameters (Eh, pH, DO, As, Fe, and S) in surface and pore water within the field-scale biofilter, and (b) a color-coded concentration map of As, Fe, and S (red = high, yellow = medium, blue = low).	171
Figure 6.3 Adjusted proportions of dissolved As species (% of total As, corrected to 100%) and total As ($\mu\text{g/L}$) across sampling points (WC1–WC5) and depths (A: 0–30, B: 30–60, and C: 60–90 cm). Bracketed values indicate concentrations of As(III, V), MMA(V), and DMA(V) in $\mu\text{g As/L}$	174
Figure 6.4 Sulfate and $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ concentrations across the field-scale biofilter (a) and $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ values as a function of residual sulfate fraction (<i>f</i>) (b). Arrows indicate dominant geochemical processes influencing S-cycling.	177
Figure 7.1 Prototype, biofiltre à écoulement horizontal.	200

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 Concentrations maximales permises pour des substances nocives désignées d'après la Directive 019 et le Règlement sur les effluents des Mines de Métaux et des Mines de Diamants (REMMMD) avant et après le 1 ^{er} juin 2021.	11
Tableau 2.2 Communautés de microorganismes identifiées dans les environnements contaminés au DNC/DNC-As.	26
Tableau 2.3 État des lieux des communautés de microorganismes retrouvées dans les sols au DNC/DNC-As.	30
Tableau 2.4 État des lieux des communautés de microorganismes retrouvées dans les eaux au DNC/DNC-As.	34
Tableau 2.5 Composition isotopique du soufre $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ et fractionnements (ϵ) géochimiques et microbiens.	43
Tableau 2.6 Exemples de systèmes de traitement passif mis en place pour différents types de drainages contaminés.....	50
Tableau 2.7 Synthèse des cinétiques et isothermes de sorption des matériaux utilisés dans le traitement du DNC-As.....	55
Tableau 2.8 Exemple de matériaux utilisés pour le traitement de l'As(III, V).	61
Tableau 2.9 Exemples de biofiltres à l'échelle de laboratoire/pilote/terrain pour traiter le DNC/DNC-As en climat froid.....	75
Tableau 4.1 Composition of the sorbent mixtures and experimental conditions during As adsorption batch tests.....	96
Tableau 4.2 The composition of synthetic and real As-NMD used in this study.....	97
Table 4.3 Physicochemical properties of the sorbent materials used for As removal in this study.....	103
Tableau 4.4 Chemical composition of the treated drainage after the first series of As sorption batch tests at 22°C. The initial As(V) concentration was 2.0 mg/L.	105
Tableau 4.5 Removal rates of As (%) from real or synthetic As-NMD with P50/AMD-S50 sorbent used in batch tests at two temperatures (22 and 5°C).....	113
Tableau 5.1 Physical properties of the materials used in the biofilters.	137
Tableau 6.1 Physicochemical parameters measured in water samples collected throughout the vertical profile of the Wood-Cadillac biofilter.	173

Tableau 6.2 Summary of the effect of the most common biogeochemical processes on sulfate (SO_4^{2-})/hydrogen sulfide (H_2S) concentrations and sulfur isotopic composition $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$	176
Tableau 7.1 Synthèse des performances multi-échelle des biofiltres passifs aux DNC-As.	194
Tableau 7.2 Contraintes et problèmes spécifiques identifiés selon les différentes échelles expérimentales.	199

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

ACV	Analyse du cycle de vie
AMD-S	Acid Mine Drainage Treatment Sludge
ANOVA	Analyse de la variance/Analysis of Variance
APHA	American Public Health Association
ASTM	American Society for Testing and Materials
BSR/SRB	Bactéries sulfato-réductrices/Sulfate Reducing Bacteria
CEC	Capacité d'échange cationique/Cation Exchange Capacity
CEA	Capacité d'échange anionique
CEAEQ	Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
COD/DOC	Carbone organique dissous/Dissolved Organic Carbon
COT/TOC	Carbone organique total/Total Organic Carbon
D019	Directive 019/ Québec Regulatory Standards (guidelines)
DAC	Drain anoxique calcaire
DMA(III)	Acide diméthylarsineux/DimethylArsinous Acid
DMA(V)	Acide diméthylarsinique/DimethylArsinic Acid
DMA/AMD	Drainage minier acide/Acid Mine Drainage
DNC/NMD	Drainage neutre contaminé /Neutral Mine Drainage
DNC-As/As-NMD	Drainage neutre contaminé à l'arsenic/Arsenic Neutral Mine Drainage

Eh	Potentiel d'oxydo-reduction/Redox Potential
G _s	Bulk density
HDPE	High-Density PolyEthylene
ICP-AES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry
IOP	Iron-Oxidizing Prokaryotes
ITS	Internal Transcribed Spacer
IRB	Iron-Reducing Bacteria
IWTU	Industrial Water Treatment Unit
K _{sat}	Conductivité hydraulique saturée/Saturated Hydraulic Conductivity
KW	Kruskal-Wallis test
MBBR	Moving Bed Biofilm Reactor
MRNF	Ministère des Ressources Naturelles et des Forêts
MMA(III)	Acide monométhylarsénieux/MonomethylArsonous Acid
MMA(V)	Arsenic monométhylarsonique/MonomethylArsonic Acid
MO/OM	Matière organique/Organic Matter
MSR	Microbial Sulfate Reduction
n _{eff}	Porosité effective /Effective Porosity
OD/DO	Oxygène dissous/Dissolved Oxygen
OS	Objectif spécifique

OTU	Operational Taxonomic Unit
PAR	Parcs à résidus
pH _{pzc}	Point de charge zéro/Point of Zero Charge
RDA	ReDundancy Analysis
REMMMD/MDMER	Règlement sur les effluents des mines de métaux et des mines de diamants/Metal and Diamond Mining Effluent Regulation
SAX	Strong Anion Exchange
SCX	Strong Cation Exchange
SI	Indice de saturation/Saturation Index
SIR	Soufre inorganique réduit
SOP	Sulfur-Oxidizing Prokaryotes
SPE	Cartouches d'extraction en phase solide/Solid Phase Extraction cartridges
SSA	Specific Surface Area
TC	Total Carbon
TIC	Total Inorganic Carbon
TN	Total Nitrogen
TRH/HRT	Temps de rétention hydraulique/Hydraulic Retention Time
TS	Total Sulfur

USEPA	Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis/ United States Environmental Protection Agency
UTEI	Unité de traitement des eaux industrielles
V-CDT	Vienna-Canyon Diablo Troilite
WSF	Waste Storage Facility
Wt	Water content
XRD	X-ray Diffraction

1. INTRODUCTION

Ce premier chapitre expose le contexte de l'étude, formule la problématique, précise les hypothèses et objectifs de recherche, met en avant l'originalité du projet et décrit la structure générale de la thèse.

1.1 Contexte de l'étude

Durant la période active d'une mine, l'enlèvement des métaux/métalloïdes (noté métaux(oïdes) dans la suite du manuscrit) des effluents contaminés repose sur des méthodes de traitement actif, couramment employées, mais dispendieuses pour l'exploitant (Wolkersdorfer, 2022). Lors de la réhabilitation finale, ces mesures doivent être remplacées par des méthodes passives plus économiques à long terme (Skousen et al., 2017 ; Neculita et al., 2021 ; Wolkersdorfer, 2022). Aucune exigence réglementaire de gestion et de restauration n'existe pour des sites miniers ayant été fermés et abandonnés pendant de nombreuses années (REMMMD, 2025 ; MELCCFP, 2025). Les coûts semblent donc devoir tenir de la responsabilité du gouvernement et des fonds publics. Au Canada, de nombreux sites miniers abandonnés ont été répertoriés, dont 346 sites pour la province du Québec (MRFN, 2024). Parmi eux, d'anciennes mines d'or et d'argent, dont les millions de tonnes de résidus riches en As en présence de carbonates coexistants ((calcite (CaCO_3), dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$)) et d'aluminosilicates), favorisent la formation de drainage neutre contaminé à l'arsenic (DNC-As). Persistant dans l'environnement (Sprague et al., 2018), et compromettant la santé humaine (Ganie et al., 2024), l'As est considéré comme un contaminant d'intérêt émergent en raison de sa toxicité, de sa chimie complexe et des difficultés associées à son enlèvement sous les seuils réglementaires (Proust et Picot, 2019 ; Ryskie et al., 2021).

En raison de la similitude géochimique entre l'As et le soufre, les gisements de sulfures polymétalliques contiennent souvent des concentrations exceptionnellement élevées d'As (Paikaray, 2015). Les minéraux arsénifères les plus problématiques, tels que la pyrite arsénienne ($\text{Fe}(\text{S},\text{As})_2$) la löllingite (FeAs_2) et le réalgar (As_4S_4) sont couramment présents dans les résidus et stériles des mines d'or, où ils peuvent favoriser la génération de DNC-As. Le rejet d'As libéré par l'oxydation de ces minéraux pourraient être grandement contrôlé et atténué par des phénomènes de sorption (adsorption, précipitation de surface, polymérisation sur la matière

organique (MO)) ([Dabrowska et al., 2021](#) ; [Khan et al., 2021](#)). Le DNC-As se caractérise par un pH neutre (6–9), avec des concentrations d'As dépassant régulièrement ou sporadiquement les limites imposées par la Directive 019 (D019) élaborée par le Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les Changements Climatiques, de la Faune et des Parcs du Québec ($\text{As} \leq 0,10 \text{ mg/L}$; [MELCCFP, 2025](#)) et le Règlement sur les effluents des mines de métaux et des mines de diamants ($\text{As} \leq 0,30 \text{ mg/L}$; [REMMMD, 2025](#)) (DORS/2002-222) au Canada. Au cours des 35 dernières années, des efforts considérables ont été investis dans le traitement passif du drainage minier acide (DMA). Les mécanismes impliqués dans le traitement de ces eaux acides ferrugineuses sont donc relativement bien compris ([Skousen et al., 2017](#) ; [Neculita et al., 2021](#)). En revanche, le traitement passif du DNC-As est moins documenté et difficilement applicables aux méthodes de traitement du DMA. Les faibles concentrations en métaux dissous et sulfates comparativement au DMA limitent les mécanismes de précipitation, qui nécessitent généralement des concentrations plus élevées en contaminants.

La recherche s'oriente depuis relativement peu vers des biotechnologies émergentes s'appuyant sur des systèmes de traitement naturels ou artificiels d'apparences naturelles qui tirent parti des réactions écologiques, microbiologiques et géochimiques du milieu. Les biofiltres naturels tels que les marais et les tourbières à proximités des sites miniers fermés ou abandonnés ont largement été accaparés en raison de leur rapport coût-efficacité et de leurs faibles exigences de maintenance ([Duncan, 2010](#) ; [USEPA, 2014](#) ; [Palmer et al., 2015](#) ; [Skousen et al., 2017](#) ; [Heiderscheidt et al., 2020a,b](#)). Ils sont généralement bien adaptés à des fins de purification et de polissage pour le drainage modérément contaminé comme le DNC-As. Toutefois, leur application restent limitée en raison des exigences réglementaires en matière de protection environnementale et de dispersion des contaminants. L'implantation de biofiltres (artificiels) permettant un contrôle efficace du DNC-As apparaît donc comme une alternative viable.

Des études antérieures ont rapporté que le DNC-As pouvait contenir une importante diversité de microorganismes capables d'interagir avec l'As ([Pereira et al., 2014](#) ; [Dabrowksa et al., 2021](#) ; [Kujala et al., 2022, 2024](#)). Il n'est donc pas à exclure que la structure matricielle organique du biofiltre puisse supporter le développement de ces microorganismes ([Neculita et al., 2007](#)). Elle pourrait fournir l'énergie nécessaire aux bactéries sulfato-réductrices (BSR) dans l'enlèvement de l'As sous forme de sulfure d'As (précipitation), bien que seulement 5% de

l'efficacité de traitement semble leur être attribuable dans le cas d'un DMA (Zhang et Wang, 2014). De plus, le traçage isotopique représente une approche complémentaire pour l'évaluation du cycle du soufre. Il permettrait de quantifier le sulfure d'arsenic biogénique généré par la réduction bactérienne, comme alternative potentielle à l'immobilisation de l'As (Blodau et al., 2007).

En 1999, sous la gouvernance du Ministère des Ressources Naturelles et des Forêts (MRNF), le site minier abandonné de Wood-Cadillac en Abitibi-Témiscamingue (Québec) reçoit une attention particulière par la construction d'un biofiltre passif (2850 m³) pour le traitement d'un DNC-As. Exclusivement composé de copeaux de bois, il démontre rapidement une efficacité d'immobilisation de l'As de 90–95% (Libero, 2007). Cependant, en 25 ans, aucune étude réalisée sur ce site n'a permis d'en comprendre son bon fonctionnement. Bien que la conception de tels systèmes puisse être perçue comme relativement simple, il est dès lors beaucoup plus complexe lorsque l'on considère l'ensemble des interactions qui s'y produisent (Neculita et al., 2007). Compte tenu des faibles concentrations en contaminants et du TRH relativement court (25 h), le mécanisme de sorption semble être le principal facteur contrôlant l'enlèvement de l'As (Ben Ali et al., 2020). Pourtant, l'efficacité des biofiltres utilisant exclusivement de la MO pour l'immobilisation de l'As n'a pas été démontrée (Palmer et al., 2015 ; Khan et al., 2019). Seuls quelques essais en laboratoire de quelques cm³ (Hu et al., 2015 ; Aguilar-Garrido et al., 2022), dm³ (Calugaru et al., 2019), à quelques m³ sur le terrain (Sekula et al., 2018) concernent spécifiquement le traitement passif du DNC-As, dont la plupart utilisent des hydroxydes de fer pour sorber ou co-précipiter l'As.

Dans une perspective de restauration environnementale, la mine active Dhilmar Éléonore (Québec) envisage l'intégration de matériaux organiques naturels (tourbe) et inorganiques résiduels riches en fer (boues de géotube), dans la conception d'un nouveau biofiltre au DNC-As. Les couvertures organiques utilisées pour stabiliser les contaminants métalliques dans les résidus peuvent avoir des impacts négatifs sur la qualité du drainage (Rakotonimaro et al., 2019, 2021), en raison des propriétés bio-géochimiques des matières organiques variables avec le temps (Heiderscheidt et al., 2020a,b). Le traitement de l'As représente un enjeu majeur, particulièrement en climat froid, où les faibles températures (> 5°C) et la forte salinité des eaux, dues à l'épandage de sels de déneigement, compliquent les stratégies

de stabilisation (Ben Ali et al., 2020). Par ailleurs, les périodes de cycles de gel/dégel pourraient accroître (Ben Ali et al., 2019 ; Jouini et al., 2020) ou diminuer (Heiderscheidt et al., 2020a) la mobilité des contaminants en raison de réactions chimiques atténuées par un accès limité à l'oxygène et une réduction du débit d'eau à travers le biofiltre. Cela favorisant la décomposition (oxygénation accrue en hiver) et le lessivage de la MO (charge hydraulique plus élevée), réduisant drastiquement l'efficacité de traitement du biofiltre.

Une compréhension approfondie des mécanismes régissant la mobilité de l'As dans l'environnement est essentielle pour optimiser son immobilisation et améliorer les stratégies de traitement. Cette approche constitue une solution innovante et prometteuse pour le développement de biofiltres efficaces. Le site minier de Wood-Cadillac, avec ses 25 ans de fonctionnement, offre une référence chronologique précieuse pour approfondir la compréhension des mécanismes sous-jacents impliqués dans la mobilité de l'As.

1.2 Problématique

Dans quelle mesure l'utilisation de matériaux organiques naturels (copeaux de bois, tourbe) et inorganiques résiduels riches en fer (boues de géotube issues du traitement actif du DMA), permet-elle d'augmenter l'efficacité du traitement passif du DNC-As afin de générer, après traitement, un drainage minier conforme à la réglementation provinciale (D019 ; MELCCFP) et fédérale (REMMMD), dans une perspective de transfert vers des applications opérationnelles pour les industriels et le gouvernement en charge de la restauration des sites miniers ?

1.3 Hypothèses de recherche

Dans ce contexte, les hypothèses de recherche visent à déterminer dans quelle mesure la chimie du DNC-As, la composition des matériaux de remplissage, et les conditions opérationnelles des biofiltres passifs influencent les performances de traitement du DNC-As, en lien avec les processus physico-chimiques et microbiens, et la conformité aux exigences réglementaires.

Pour ce faire, cinq sous-hypothèses sont énoncées, à savoir :

(H1) Le mélange à parts égales (50/50 massique) de tourbe et de boues de géotube constitue la combinaison la plus performante pour l'immobilisation de l'As, sans lixiviation concomitante, afin de respecter les seuils réglementaires de la D019 et du REMMMD (As, Fe, pH).

- Test 1 : Caractérisation des matériaux et essais en lots à petite échelle, sous différentes conditions (DNC-As synthétique vs réel ; 22 °C vs 5 °C).

(H2) La performance du système diminue sous l'effet de la salinité et de la température, mais l'impact de la salinité sur l'immobilisation de l'As est plus prononcé.

- Test 2 : Évaluation comparative des effets de la salinité et de la température (DNC-As synthétique vs réel ; 22 °C vs 5 °C) sur les rendements d'enlèvement de l'As en conditions contrôlées.

(H3) L'écoulement ascendant combiné à l'ajout de matériaux granulaires (ex. gravier) augmentent la conductivité hydraulique, limitent le tassement, et assurent le maintien des performances du biofiltre à long terme.

- Test 3 : Mesure de la conductivité hydraulique des mélanges avec et sans gravier, conception et mise à l'échelle de biofiltres passifs (dm^3 au m^3).

(H4) Un TRH = 24 h favorise des conditions oxydantes (vs. réductrices).

- Test 4 : Mesure de la composition et rapport isotopique du soufre-sulfate ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) dans le biofiltre de Wood-Cadillac, et analyse des concentrations en sulfates ainsi que de la structure des communautés microbiennes dans l'ensemble des biofiltres passifs étudiés.

(H5) Le changement d'échelle accroît l'hétérogénéité physique du système et entraîne une diversification verticale des communautés microbiennes, favorisant l'émergence de niches fonctionnelles spécialisées (réductrices, méthylatrices, oxydantes) et une répartition différenciée des formes d'As.

- Test 5 : Comparaison de la structuration microbienne verticale à différentes échelles (laboratoire à terrain), et analyse de la spéciation de l'As à Wood-Cadillac.

1.4 Objectifs de la thèse

1.4.1 Objectif général

L'objectif général de ce doctorat est de documenter, en climat froid, les mécanismes impliqués dans le traitement du DNC-As par des biofiltres passifs composés de matériaux organiques

naturels (copeaux de bois, tourbe) et inorganiques résiduels (boues de géotube) alimentés avec du DNC-As réel en combinant des essais de laboratoire et de terrain en vue d'identifier les critères de design nécessaires à leur optimisation.

1.4.2 Objectifs spécifiques

Pour atteindre l'objectif général et permettre de répondre aux hypothèses, les objectifs spécifiques (OS) du présent projet sont les suivants :

(OS1) Évaluer comparativement l'efficacité d'un matériau/mélange de matériaux à immobiliser l'As présent dans le DNC-As ;

(OS2) Identifier et quantifier les processus géochimiques et biochimiques impliqués dans l'immobilisation de l'As présent dans des DNC-As en s'appuyant sur des analyses isotopiques ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) et sur la caractérisation des communautés microbiennes impliquées dans le cycle du S, du Fe, et de l'As;

(OS3) Réaliser une étude comparative des résultats obtenus en laboratoire et sur le terrain afin de déterminer les critères de conception adaptés au développement de nouveaux systèmes de traitement passif au DNC-As en contexte nordique.

1.5 Originalité du projet

L'originalité de ce projet réside dans : (1) la minimisation des coûts de traitement via l'utilisation circulaire de matériaux organiques naturels (tourbe, copeaux de bois) et inorganiques résiduels (boue de géotube), abondants et à faibles coûts, à proximité des sites miniers générateurs de DNC-As ; (2) l'utilisation de matière organique dans le traitement de deux DNC-As réels en climat froid ; (3) l'identification, en conditions de laboratoire (cm^3 , dm^3) et terrain (m^3), des mécanismes biogéochimiques impliqués dans l'immobilisation de l'As ; (4) l'identification des communautés microbiologiques (bactériennes, fongiques) impliqués dans le cycle du S, du Fe et de l'As ; (5) l'obtention d'un point unique de comparaison entre nos résultats et le biofiltre de Wood-Cadillac en fonctionnement depuis 25 ans ; (6) la recommandation d'un nouveau système de traitement passif qui s'adresse aux compagnies minières exploitant des sites générateurs de DNC-As, comme Dhilmar Éléonore (Québec), ainsi

qu'au MELCCFP, responsable de la gestion des sites miniers fermés ou abandonnés produisant du DNC-As, comme le site minier Wood-Cadillac (Québec).

1.6 Organisation de la thèse

La présente thèse est divisée en 8 chapitres dont 3 sont rédigés sous forme d'articles scientifiques publiés ou soumis dans des revues ou des conférences avec comité de lecture. La présente introduction constituant le chapitre 1.

Le chapitre 2 présente une brève revue de la littérature récente et pertinente sur le traitement passif du DNC-As et les conditions opératoires et facteurs d'influence à considérer dans la mise en place d'un biofiltre pour le traitement du DNC-As.

Le chapitre 3 présente la démarche méthodologique adoptée durant ce projet de doctorat, comprenant l'échantillonnage et la caractérisation physico-chimique des matériaux collectés, les protocoles expérimentaux suivis, le traitement des données et la configuration d'échelle des essais de laboratoire et de terrain : lots (cm^3), biofiltre de laboratoire (dm^3), biofiltre pilote de terrain (m^3), biofiltre à grande échelle (plusieurs m^3). Dans ce chapitre, sont aussi présentés les sites à l'étude, la mine active Dhilmar Éléonore et le site fermé et restauré Wood-Cadillac.

Le chapitre 4, présenté sous forme d'un premier article scientifique publié dans la revue *Ecological Engineering* (2025), répond à OS1 et OS2. Il repose sur des essais de laboratoire menés à petite échelle (lots, cm^3) et à moyenne échelle (biofiltre de laboratoire, dm^3), visant à :

- Caractériser les propriétés physico-chimiques de matériaux potentiellement utilisables pour la conception de biofiltres passifs (tourbe et boues de géotube) ;
- Évaluer l'efficacité comparative de ces matériaux, seuls/mélangés, pour immobiliser l'As présent dans un DNC-As synthétique et réel (salinité élevée) à 22 et 5 °C, pour sélectionner le meilleur mélange et le temps de contact optimal pour la conception d'un biofiltre de laboratoire ;
- Évaluer les performances d'un biofiltre de laboratoire en conditions contrôlées (22 °C, DNC-As synthétique) sur plusieurs semaines de fonctionnement ;
- Identifier les communautés microbiennes bactériennes et fongiques impliquées dans les cycles du S, du Fe, et de l'As.

Le chapitre 5, présenté sous forme d'un deuxième article scientifique publié dans la revue *Science of the Total Environment* (2025), répond aux OS1 et OS2 qui discutent plus spécifiquement de :

- L'efficacité du biofiltre pilote de terrain en conditions non contrôlée (température, salinité, écoulement réel) à immobiliser l'As présent dans un DNC-As réel;
- La structure et des fonctions des communautés bactériennes et fongiques impliquées dans les cycles biogéochimiques du S, du Fe, et de l'As, et de leur évolution selon la profondeur.

Le chapitre 6, présenté sous forme d'un troisième article scientifique (accepté) dans la revue *Water Research*, poursuit l'analyse des OS1 et OS2 à travers l'étude d'un biofiltre à grande échelle en fonctionnement depuis plus de deux décennies (site de Wood-Cadillac, Québec). Ce chapitre se concentre sur :

- L'évaluation de la stabilité du biofiltre dans l'immobilisation de l'As ;
- L'étude de l'isotope lourd du soufre ^{34}S ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) comme traceur des processus microbiens de réduction ;
- La caractérisation des communautés microbiennes (procaryotes et fongiques) et de leur structuration verticale, en lien avec les cycles du S, du Fe, et de l'As.

Le chapitre 7 propose une discussion intégrée des résultats obtenus dans les trois études expérimentales. Il met en perspective les enseignements croisés des échelles laboratoire, pilote et terrain, en lien avec les objectifs scientifiques initiaux, et traite plus spécifiquement de l'OS3, portant sur les effets d'échelle, les critères de conception, la mise en œuvre et le suivi des biofiltres passifs et la transférabilité des systèmes de traitement passif du DNC-As en climat froid.

Le chapitre 8 présente les conclusions générales de la thèse, formule des recommandations techniques pour la conception, et identifie plusieurs perspectives de recherche et d'applications opérationnelles.

Enfin, un ensemble d'annexes complète le manuscrit, incluant l'article accepté avec comité de lecture pour la 13^e *Conférence internationale sur le drainage minier acide (ICARD 2024)*

2. REVUE DE LITTÉRATURE

Ce chapitre est un complément des revues de littérature qui ont été rédigées dans chaque introduction des chapitres 4, 5 et 6 de la thèse.

2.1 Industrie minière au Canada : croissance économique et contraintes réglementaires

L'industrie minière est un pilier économique du Canada, contribuant à hauteur de 74,6 milliards de dollars, soit 7,8% du PIB en 2022, contre 58,6 milliards en 2021 (MAC, 2024). Néanmoins, la période de pandémie mondiale de la COVID-19 a fortement déstabilisé ce secteur, compromettant la productivité des années antérieures (Marshall, 2021). Face à ces enjeux, le gouvernement du Québec a encouragé les industries minières à intensifier la valorisation des minéraux critiques et stratégiques tout en assurant une gestion responsable des rejets miniers, qui représentent le plus grand volume de rejets industriels au monde (Marshall, 2021). Tout au long du cycle de vie d'une mine, les résidus (rejets de concentrateurs conventionnellement entreposés dans les parcs à résidus après exploitation du minerai d'intérêt) et les stériles miniers (amoncellements de matériaux non exploitables en surface) sont continuellement entreposés aux intempéries, posant d'importants défis environnementaux.

L'ampleur de la dégradation dépend de l'état de la mine (exploitée, fermée, abandonnée), du type de gisement, des méthodes d'extraction, de traitement et des conditions climatiques. Au Québec, plus d'une trentaine de mines actives génèrent individuellement une extraction moyenne de plusieurs millions de tonnes de roches par année (Madore, 2021). Certaines compagnies se disent prêtes à anticiper la destruction de lacs, ruisseaux, zones humides et milieux boisés pour stocker leurs résidus produits au cours de leurs prochaines années d'exploitation (MELCC, 2020). Pourtant, cette déposition de roches naturellement contaminées engendre des risques de contamination durant des décennies (sols, aquifères souterrains et surfaciques) (Sprague et al., 2018 ; Bondu et al., 2023). Paradoxalement, la transition vers les énergies renouvelables conduit à l'extraction de quantités croissantes de ressources minérales. Les gisements exploités présentent des teneurs de plus en plus faibles, les minerais sont plus difficiles à raffiner, et les ressources en eau sont davantage exposées à la contamination ainsi qu'au durcissement de la réglementation (REMMMD, 2025 ; MELCCFP, 2025). Pour un site minier en activité, la restauration et l'entreposage planifié des stériles et des résidus permet de

prévenir les risques de lixiviation, minimisant la génération de drainage minier contaminé. La maîtrise du risque devrait être atteinte dans les 5 j suivant l'incidence de la contamination. En l'absence de mesures, la dispersion rapide de l'As pourrait fortement polluer un aquifère d'un rayon de 3 km en 147 j et de 6,5 km en seulement 350 j (Cao et al., 2023).

Pour des sites miniers fermés et abandonnés où l'entreposage n'a pas été anticipé, la majorité des rejets miniers peut s'avérer chimiquement instable, altérable et lixiviable lorsqu'ils sont exposés de manière prolongée aux conditions atmosphériques et biologiques (Ray et Dey 2020). Avec des aquifères dépassant les concentrations totales d'As de 2 à 3 ordres de grandeurs supérieures à la moyenne des rivières mondiales et des limites d'eau potable (Li et al., 2022) ; le rejet des effluents miniers contaminés est un enjeu environnemental majeur dans l'industrie minière. Au Canada, la réglementation sur les rejets d'effluents miniers est encadrée par le Règlement sur les Effluents des Mines de Métaux et des Mines de Diamants (REMMMD, 2025) (DORS/2002-222). Au Québec, ces exigences peuvent être renforcées par la Directive 019 (D019), élaborée par le Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les Changements Climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP, 2025). Le **Tableau 2.1** présente les concentrations maximales autorisées et les paramètres analytiques des effluents miniers, établis pour limiter les impacts environnementaux et sanitaires.

Outre ces exigences réglementaires, les compagnies minières ont des obligations sociales envers les communautés locales et autochtones fondées sur le principe du *consentement libre, préalable et éclairé*, reconnu comme norme internationale en matière de droits humains. Au Québec, plusieurs sites miniers ont été restaurés dans le cadre du programme lancé en 2007 pour la réhabilitation des sites abandonnés contaminés. Toutefois, la contamination plus importante que prévue de certains sites a entraîné une augmentation des coûts de restauration de plusieurs millions de dollars, représentant une charge financière significative pour l'État et les fonds publics (MRNF, 2024). Aucun cadre réglementaire ne régit la qualité des drainages miniers issus des sites miniers abandonnés.

Tableau 2.1

Concentrations maximales permises pour des substances nocives désignées d'après la Directive 019 et le Règlement sur les effluents des Mines de Métaux et des Mines de Diamants (REMMMD) avant et après le 1^{er} juin 2021.

Substances nocives	D019		REMMMD Ancienne mine active avant le 1 ^{er} juin 2021		REMMMD Nouvelle mine active après le 1 ^{er} juin 2021	
	Inst.	Moy.Mens.	Inst.	Moy.Mens.	Inst.	Moy.Mens.
pH	6,00 – 9,50		/	/	/	
As (mg/L)	0,20	0,10	0,60	0,30	0,20	0,10
Cu (mg/L)	0,20	0,10	0,60	0,30	0,20	0,10
Fe (mg/L)	6,00	3,00	/	/	/	/
MES (mg/L)	30,0	15,0	30,0	15,0	30,0	15,0
Ni (mg/L)	0,50	0,25	1,00	0,50	0,50	0,25
Pb (mg/L)	0,16	0,08	0,20	0,10	0,16	0,08
Zn (mg/L)	0,80	0,40	1,00	0,50	0,80	0,40
Cyanures (mg/L)	1,00	0,50	1,00	0,50	1,00	0,50
Ammoniac (mg/L)	/	/	1,00	0,50	1,00	0,50
C ₁₀ -C ₅₀ (mg/L)	2,00	/	/	/	/	/
Radium 226 (Bq/L)	1,11	0,37	1,11	0,37	1,11	0,74

Les concentrations indiquées sont des valeurs totales hormis l'ammoniac (non ionisé) sous forme d'azote.
/: Absence de réglementation ; Inst. : Instantanée ; Moy.Mens. : Moyenne mensuelle ; MES : Matières en suspension.

2.1.1 Sites abandonnés et drainage minier : les vestiges d'un passé contaminé

Les sites miniers abandonnés, vestiges du passé industriel, demeurent des sources majeures de contamination en l'absence de mesures de contrôle et de mitigation. Ils génèrent des effluents enrichis en métaux(oïdes), dont l'As, persistants durant des décennies. Cette problématique concerne de nombreux pays à l'échelle mondiale. Au Japon, ~5 000 mines ont été abandonnées ou fermées depuis les années 1970 en raison des coûts de main-d'œuvre et de la libéralisation des importations des ressources métalliques. Ces sites présentent une grande diversité de drainage minier (Soda et Nguyen, 2023). Cette dernière étude recense plus de 100 qualités de drainage présentant des caractéristiques physico-chimiques variables, soulignant les défis liés au développement de stratégies de traitement adaptées.

Au Pays de Galles, plus de 1 300 mines de métaux abandonnées témoignent de l'héritage des exploitations de Pb et de Zn menées aux 18^e et 19^e siècles, avec des concentrations en Zn atteignant 23,5 mg/L ([Warrender et al., 2011](#)). En Slovaquie, les anciennes mines d'antimoine comme Dúbrava et Poproč présentent des concentrations pouvant atteindre 10 000 µg Sb/L et 2 053 µg As/L ([Ondrejko et al., 2013](#) ; [Sekula et al., 2018](#)), tandis qu'à Agnès (Slovaquie), les concentrations atteignaient 2 400 µg As/L ([Flakova et al., 2017](#)).

En Italie, la dispersion d'eau contaminée depuis les bassins de résidus vers le ruisseau Rio del Lago constitue une préoccupation majeure ([Barago et al., 2023](#)). Bien que les concentrations d'As dans l'eau porale des résidus soient généralement faibles (1,00–10,0 µg/L), certains échantillons atteignaient 1 500 mg As/kg, suggérant une forte co-précipitation/sorption entre l'As et les (oxy)hydroxydes de Fe. Toutefois, les concentrations d'As, étaient plus élevées et mobiles dans les suintements des galeries ($74,4 \pm 7,58$ µg/L). Cette mobilisation pourrait résulter à la fois d'un pH relativement élevé (~8,50) et des conditions anoxiques, favorisant la désorption de l'As et éventuellement du Sb (principalement sous forme As(V) et Sb(V)) à partir des surfaces d'(oxy)hydroxydes de Fe ([Barago et al., 2023](#)).

En France, l'exploitation d'une mine abandonnée depuis l'époque romaine dans les Cévennes génère un DNC-As tamponné par la dissolution des carbonates, enrichi en Fe (588 mg/L), Al (52,5 mg/L), Cu (1,50 mg/L), Pb (1,60 mg/L), Mn (4,60 mg/L), Zn (36,5 mg/L), Ni (150 µg/L), Cd (202 µg/L) et As (40,0 µg/L) ([Bondu et al., 2023](#)). Bien que cette contamination soit restreinte aux abords du site, elle indique une immobilisation rapide des métaux(oïdes) dans les eaux de surface/souterraines, via leur séquestration dans des phases secondaires. Cela illustre les risques environnementaux inhérents à ces exploitations historiques.

Au Canada, le site minier fermé Cobalt (Ontario) a généré des concentrations d'As atteignant 20 000 µg/L en 1993 ([Dumaresq, 1993](#)) tandis que [Sprague et al. \(2018\)](#) ont rapporté jusqu'à 1 340 µg As/L dans les plans d'eau environnements, soit 268 fois la limite recommandée pour la protection de la vie aquatique (5,00 µg/L ; [CCME, 2001](#)). Au Québec, 346 sites miniers abandonnés ont été recensés, dont plusieurs anciennes mines d'or et d'argent, responsables d'une contamination environnementale persistante ([Nairn et al., 2020](#) ; [MRNF, 2024](#)). Environ 50% des sites miniers abandonnés présentaient un degré de contamination indéterminé dont le manque de connaissances techniques et la sous-estimation des impacts environnementaux ont

entraîné une gestion inadéquate des rejets miniers, source majeur de drainage minier (MRNF, 2024). Par exemple, le site minier de Wood-Cadillac (Abitibi-Témiscamingue) a généré pendant plus de 50 ans un drainage minier dont les concentrations en As atteignaient jusqu'à 1 200 µg As/L (Tassé et al., 2002).

2.1.2 Drainage minier

Le drainage minier est une conséquence directe de l'exploitation minière, avec une chimie influencée par les facteurs suivants : le type de gisement, les conditions locales d'extraction et d'entreposage, la réactivité des matériaux, ainsi que la disponibilité en oxygène, la température, le pH et l'activité bactérienne (Nordstrom et al., 2015 ; Fontaine, 2019). Il peut contenir des concentrations variables d'éléments métalliques (ex. Fe, Al, Ni, Pb, Zn, Mn, Cd, Co, Cr, Cu, Hg), de métalloïdes (ex. As, Se, Sb) et de sels dissous (ex. Cl^- , Na^+ , SO_4^{2-}), allant de traces (µg/L) à plusieurs g/L.

Trois types de drainage minier sont généralement distingués (Stantec, 2004 ; Nordstrom et al., 2015) :

- DMA : $\text{pH} < 6$
- DNC : $6 < \text{pH} < 9$
- Drainage minier alcalin : $\text{pH} > 9$

Historiquement, les efforts de gestion ont principalement ciblé le DMA, où la précipitation constitue le principal mécanisme d'enlèvement des métaux(oïdes) en raison d'un pH acide et des concentrations élevées en contaminants (ex. Fe, SO_4^{2-}). En revanche, le DNC repose davantage sur la sorption en raison des concentrations en métaux plus faibles, ne permettant pas d'atteindre les seuils de sursaturation nécessaires à la précipitation. Toutefois, la gestion du DNC est devenue une priorité croissante en raison de ses concentrations élevées en métaux(oïdes), supérieures chroniquement ou sporadiquement aux seuils réglementaires en vigueur (**Tableau 2.1**).

2.1.3 Conditions d'apparition du DNC-As

Les eaux de drainage neutre contaminées à l'As (DNC-As) se caractérisent par un pH neutre à légèrement basique (6–8), conforme aux normes environnementales, avec des concentrations en As dépassant sporadiquement ou régulièrement les seuils réglementaires ([REMMMD, 2025](#) ; [MELCCFP, 2025](#)). La chimie du DNC-As résulte de processus concurrents de formation et de neutralisation de l'acidité. Il peut se former lorsque (1) la quantité de minéraux neutralisants est suffisante pour contrebalancer l'acidité générée par l'oxydation des minéraux sulfurés (ex. pyrite (FeS_2), pyrrhotite (Fe_{1-x}S)) présents dans les stériles et résidus miniers (ex. captation d'ions H^+ par échange ionique ou hydratation) ; (2) la lixiviation des métaux issus de ces matériaux ne génère pas d'acidité ; (3) des mesures de mitigation du DMA sont appliquées sur des roches potentiellement acidogènes ([Stantec, 2004](#)).

Si la capacité de neutralisation est suffisante, soit par la présence d'une gangue carbonatée, soit par une oxydation modérée des sulfures, l'altération des minéraux sulfurés [ex. galène (PbS), chalcopryrite (CuFeS_2) sphalérite (ZnS)] libère des cations métalliques solubles sans acidification notable ([Stantec, 2004](#) ; [Nordstrom et al., 2015](#)). Il en résulte une eau de drainage riche en sulfates mais pauvre en fer. À ces pH, peu de contaminants sont immobilisés par précipitation (**Figure 2.1**). Dans ces conditions, les métaux(oïdes) (ex. As, Sb, Cu, Ni, Pb, Zn, Co, Mg) faiblement hydrolysés constituent les principales menaces pour la qualité de l'eau à pH circumneutre.

Les carbonates sont les minéraux neutralisants les plus efficaces et répandus dans les rejets miniers [ex. calcite (CaCO_3), dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), sidérite (FeCO_3)]. Par exemple, à la mine d'Osor en Espagne, la dissolution de ces minéraux (116–189 mg/L CaCO_3 ; 290–377 mg/L, HCO_3^-) maintient un pH proche de la neutralité dans l'eau de drainage depuis 1980 ([Navarro et al., 2015](#)). En revanche, les hydroxycarbonates [(ex. manganite ($\text{MnO}(\text{OH})$), goethite ($\text{FeO}(\text{OH})$), gibbsite ($\text{Al}(\text{OH})_3$)] et les silicates [(ex. albite ($\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$), biotite $\text{K}(\text{Mg,Fe})_3(\text{OH,F})_2(\text{Si}_3\text{AlO}_{10})$, chlorite ($(\text{Fe,Mg,Al})_6(\text{Si,Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$)] sont moins réactifs et semblent jouer un rôle plus limité dans la neutralisation ([Bussière et al., 2005](#)).

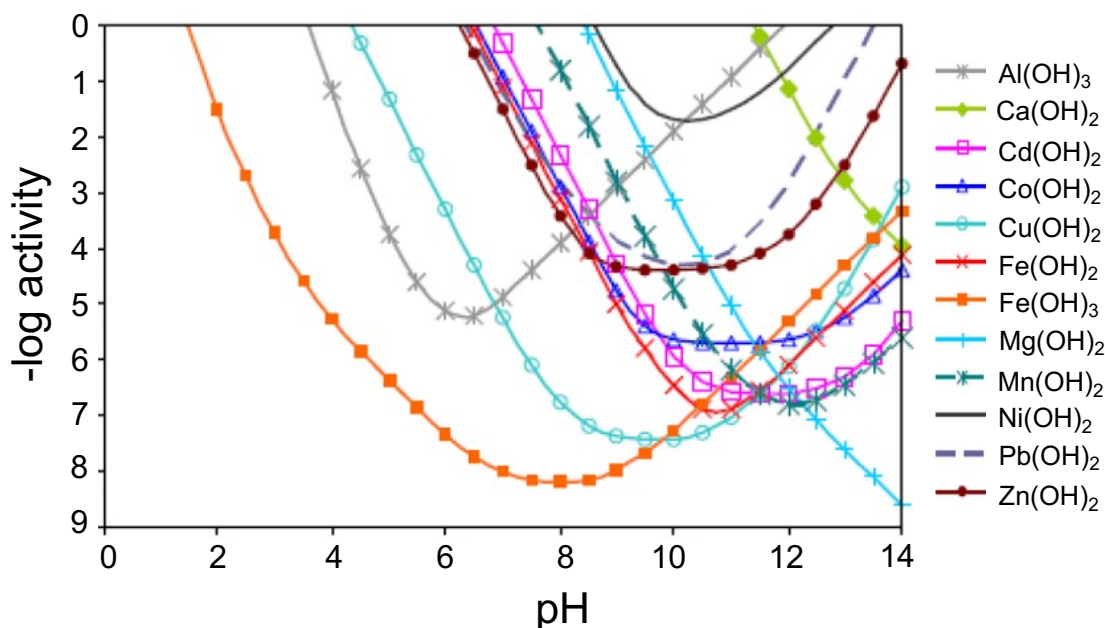


Figure 2.1

Liste exhaustive de solubilité des hydroxydes métalliques en fonction du pH à 25°C.

Source ([Cravotta, 2002](#)). La courbe orange (carrés pleins) représente la solubilité de $\text{Fe}(\text{OH})_3$.

2.2 Caractérisation géochimique et dynamique de l'As

2.2.1 Origine géochimique et minéralogique de l'As

En raison de sa similarité géochimique avec le soufre, l'As est fréquemment associé aux gisements de sulfures polymétalliques, où il peut atteindre des concentrations élevées ([Paikaray, 2015](#)). Il constitue le 20^{ème} élément le plus abondant de la croûte terrestre, avec une concentration moyenne de 3 mg/kg ([Smedley et Kinniburgh, 2002](#)). Sa mobilisation dans l'environnement résulte principalement de la dissolution oxydative des minéraux sulfurés polymétalliques présents dans les rejets miniers.

L'As est largement présent dans les gisements aurifères et argentifères, où il est incorporé dans plus de 200 minéraux ([Proust et Picot, 2019](#)), dont 156 sulfures répertoriés dans la base de données Mindat ([Paikaray, 2015](#)). Il se trouve majoritairement sous forme de minéraux tels que l'arsénopyrite (FeAsS), la pyrite arsénienne $[(\text{Fe},\text{As})\text{S}_2]$, le réalgar (As_4S_4), l'orpiment (As_2S_3), l'engartite (Cu_3AsS_4), la tennantite $[(\text{Cu},\text{Ag},\text{Zn},\text{Fe})_{12}(\text{As},\text{Sb})_4\text{S}_{13}]$ ou la cobaltite $[(\text{Co},\text{Fe})\text{AsS}]$. L'As est également présent dans certains gisements d'U et de Cu-Ni ([Stantec, 2004](#)).

Au Québec, l'As se retrouve naturellement dans les aquifères rocheux fracturés (Bondu et al., 2020), mais ses concentrations les plus élevées sont principalement d'origine anthropique, liées à l'exploitation passée et actuelle de gisements aurifères. L'or est souvent associé à des minéraux sulfurés riches en As, comme l'arsénopyrite (Sprague et al., 2018). Néanmoins, la pyrite arsénienne plus abondante, constitue probablement la principale source d'As dans les zones minéralisées (Nordstrom et al., 2015). Dans le sud du Bouclier canadien, des concentrations élevées (0,28 mg As/L) ont été observées dans les formations schisteuses, ardoisières et phylliteuses via des processus de dissolution oxydative (Bondu et al., 2020).

En outre, les résidus immergés porteurs d'As sont généralement considérés comme une source potentielle d'As par altération oxydative plutôt qu'un puit d'immobilisation (Sekula et al., 2018; Jurkovic et al., 2019; Bondu et al., 2020). Toutefois, Jurkovic et al. (2019) soulignent une faible libération d'As du sol vers les milieux aquatiques, indiquant que le sol agit davantage comme un puit plutôt qu'une source. En conséquence, les concentrations d'As dans les lixiviats restent faibles, même en présence de teneurs élevées dans les résidus (Jurkovic et al., 2019).

2.2.2 Altération des sulfures d'As et impacts sur la dynamique de l'As

L'altération des sulfures d'As conduit à la formation de minéraux secondaires tels que la lollingite (FeAs_2), l'arsénolite (As_4O_6), et la scorodite ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Coudert et al., 2020). Bien que rares à l'état naturel, ces phases sont fréquentes dans les résidus miniers, où l'oxydation de la pyrite et de la pyrrhotite favorise leur formation (Coudert et al., 2020). L'As ainsi libéré peut être partiellement immobilisé par sorption ou co-précipitation avec les (oxy)hydroxydes de Fe, limitant sa mobilité (Rakotonimaro et al., 2017, 2019 ; Kasiulienė et al., 2019). Toutefois, ces interactions restent sensibles aux conditions géochimiques et à la nature des sorbants, pouvant entraîner sa remobilisation (Rakotonimaro et al., 2019, 2021). L'atténuation du DNC-As résulte de processus complexes liés à la source minéralogique (ex. pyrite, arsénopyrite) (Bondu et al., 2020), aux propriétés de surface des minéraux (Hu et al., 2015), aux conditions physico-chimiques (ex. pH, Eh, température) (Smedley et Kinniburgh, 2002), à la spéciation de l'As (Coudert et al., 2020), aux ions compétiteurs (Rakotonimaro et al., 2021) et à l'activité microbienne (Kujala et al., 2024). La spéciation de l'As reste centrale, car elle détermine sa mobilité, sa toxicité et son potentiel de sorption sur les phases minérales et la MO.

2.2.3 Spéciation de l'As en milieux aqueux

Près de deux douzaines d'espèces d'As ont été répertoriées ([Gong et al., 2002](#)), dont la distribution et la toxicité en milieu aqueux dépendent de leur configuration chimique et état d'oxydation ([Wang et Mulligan, 2006](#)). Ces espèces sont classées sous formes inorganiques – arsénite As(III) et arséniate As(V) – et organiques – monométhylarsinite (MMA(III)), monométhylarsonate (MMA(V)), diméthylarsinite (DMA(III)) et diméthylarsinate (DMA(V)). En général, elles diffèrent considérablement en termes de réactivité et toxicité, selon l'ordre décroissant : MMA(III) = DMA(III) > As(III) > As(V) > MMA(V) = DMA(V) ([Rahman et Hassler, 2014](#) ; [Proust et Picot, 2019](#)). Les espèces méthylarséniques trivalentes (MMA(III)) produites par la méthylation de l'As sont instables et se transforment facilement en MMA(V) et en espèces volatiles ([Qian et al., 2023](#)). L'As(III), plus mobile et toxique que l'As(V) en raison de sa neutralité électrique, rend sa sorption limitée sur les surfaces minérales/organiques.

Dans le corps humain, l'affinité de l'As pour les thiolates ($R-S^-$) contribue à sa cytotoxicité, bien que sa méthylation diminue sa toxicité et facilite son élimination (urines, fèces, kératines) ([Proust et Picot, 2019](#)). L'As(V) perturbe la phosphorylation oxydative, induisant un stress énergétique affectant la signalisation, l'expression génique et la réparation de l'ADN, tout en favorisant la production d'espèces réactives de l'oxygène. Leur accumulation endommage l'ADN, augmentant le risque de mutations et de cancers ([Proust et Picot, 2019](#)).

Les principaux états d'oxydation de l'As dans les systèmes naturels sont -3 (arséniure), 0 (élémentaire), $+3$ (As(III)) et $+5$ (As(V)). L'As élémentaire est rarement observé, et les arséniures ne se forment que sous conditions très réductrices ([Wang et Mulligan, 2006](#)). En milieu aqueux, la spéciation de l'As dépend fortement du pH. Entre pH 3 et 9, l'As(V) domine sous forme anionique ($H_2AsO_4^-$ et $HasO_4^{2-}$), favorisant sa sorption sur les (oxy)hydroxydes métalliques. En revanche, As(III) reste majoritairement sous forme neutre (H_3AsO_3) ce qui limite son immobilisation et accroît sa mobilité dans les milieux naturels.

Aux extrêmes du pH, ces spéciations évoluent selon les équilibres acidobasiques :

- As(III) : H_3AsO_3 (pH < 9), H_2AsO_3^- (pH 9–14), HAsO_3^{2-} (pH 12–13), AsO_3^{3-} (pH 13–14)
- As(V) : H_3AsO_4^0 (pH 0–2), H_2AsO_4^- (pH 2–7), HAsO_4^{2-} (pH 7–12), AsO_4^{3-} (pH 12–14)

Ces variations de charge influencent fortement l'adsorption, la précipitation et la remobilisation de l'As dans l'environnement, soulignant l'importance des conditions géochimiques dans son comportement et sa biodisponibilité (Nordstrom et Archer, 2003). Un exemple de spéciation aqueuse de l'As peut être visualisé à l'aide de la mosaïque Eh–pH présenté à la **Figure 2.2**. Elle intègre les principaux domaines de stabilité des espèces d'arsenic en solution (As(III) et As(V)) en fonction des conditions d'oxydoréduction (Eh), en cohérence avec les potentiels redox définis pour les systèmes naturels.

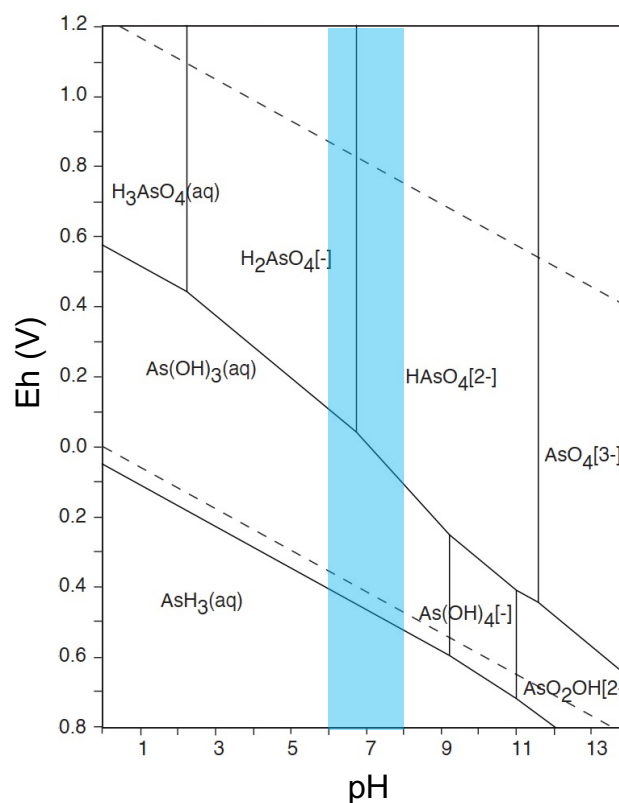


Figure 2.2

Diagramme de prédominance des espèces d'As dissoutes dans le système As–O–H.
 $\Sigma \text{As} = 10^{-10}$, 298.15K, 10^5 Pa.

Source : Takeno, 2005. La bande bleue représente la gamme du pH du DNC-As (6–9).

Dans les systèmes oxydés, comme les eaux de surface, As(V) se présente principalement sous forme d'oxyanions H_2AsO_4^- et HAsO_4^{2-} (Proust et Picot, 2019). En milieux réduits, tels que les eaux profondes, As(III) prédomine sous forme neutre H_3AsO_3 (Smedley et Kinniburgh, 2002). Une étude des sédiments du delta du Mékong (carottage jusqu'à 20 m) a identifié quatre formes principales d'As : (1) As(III) complexé au soufre et à la MO, (2) As incorporé à la pyrite, (3) As(III) oxygène et (4) As(V) oxygéné (Wang et al., 2018). En conditions anoxiques, As(III) domine, confirmant sa dominance accrue (Proust et Picot, 2019).

2.2.3.1 Échantillons, conservation et stabilité des espèces d'arsenic

Conserver la stabilité des espèces d'As dans les échantillons est essentiel pour obtenir des informations fiables sur leur spéciation (Gong et al., 2002). La collecte, le stockage et la manipulation des échantillons doivent minimiser la contamination et la perte d'analytes. Cette transformation peut se produire lors de la collecte et de la manipulation des échantillons, entraînant des altérations dans la spéciation de l'As (Gong et al., 2002). En particulier, l'As(III) s'oxyde rapidement en As(V) dans des conditions oxydantes (4–9 j) (Henke, 2009). Une méthode d'extraction adéquate doit permettre de récupérer quantitativement toutes les espèces d'arsenic sans modifier leur spéciation d'origine, et le solvant utilisé ne doit pas interférer avec l'analyse (Gong et al., 2002).

Sur le terrain, l'utilisation de cartouches d'extraction en phase solide (SPE) préconditionnées permet de préserver la spéciation des espèces dissoutes d'As (As(III), As(V), MMA(V), DMA(V)) (Watts et al., 2010). Cette méthode a été utilisée pour analyser la mobilité de l'As dans les eaux souterraines du Bouclier canadien (Bondu et al., 2020) et le lixiviat de résidus miniers Dhilmar Éléonore (Rakotonimaro et al., 2021). Elle facilite la conservation des échantillons en région isolée, avec une stabilité de 1 à 4 semaines à température ambiante, ou jusqu'à 180 jours après acidification. La stabilité des espèces est meilleure à +3 °C qu'à -20 °C (Lindemann et al., 2000).

2.3 *Principal mécanisme physico-chimique d'immobilisation des métaux(oïdes) dans le DNC-As*

2.3.1 La sorption

L'As libéré par l'oxydation des minéraux sulfurés arsénifères peut être atténué par des réactions redox et des processus de sorption (adsorption, échange ionique, (co)précipitation, complexation, polymérisation sur la MO). Ce processus comporte trois étapes : (1) transfert vers la surface externe du sorbant, (2) diffusion interne, (3) fixation sur les sites actifs ([Largitte et Pasquier, 2016](#)). Son efficacité dépend des propriétés du sorbant : surface spécifique, capacité d'échange cationique (CEC), capacité d'échange anionique (CEA) et le pH_{pzc}, ce dernier définissant le pH auquel la surface est électriquement neutre ([Rezanezhad et al., 2016](#)). Un pH_{pzc} < pH favorise la sorption de cations ; un pH_{pzc} > pH favorise celle des anions ([Bakatula et al., 2018](#)). Le pH influence donc à la fois la charge des surfaces et la spéciation du contaminant (pK_a) ([Kim et al., 2021](#)).

Les interactions de surface impliquent la formation de complexes de sphères internes ou externes. Les complexes internes résultent de liaisons chimiques directes entre ions métalliques et groupes fonctionnels de surface, formant des structures stables ([Brown et al., 2000](#)), efficaces pour immobiliser des cations comme Fe, Ni ou Al. À l'inverse, les complexes externes reposent sur des interactions électrostatiques sans liaison chimique, plus sensibles au pH et à la force ionique. L'adsorption des cations par les substances humiques (OM) s'effectue principalement via des forces de Van der Waals et des interactions hydrophobes, avec une stabilité relative et une efficacité réduite en présence d'ions compétiteurs ([Brown et al., 2000](#)).

À pH neutre (6–9), l'As est principalement sous forme anionique (AsO_4^{3-} et HAsO_4^{2-}) et présente une forte affinité pour les oxydes de fer ([Mehdaoui et al., 2025a,b](#)). Son immobilisation repose sur l'attraction électrostatique entre espèces anioniques et sites protonés. Les hydroxydes de fer, chargés positivement, jouent un rôle central ([Hu et al., 2015](#)), tandis que les surfaces négatives, comme la MO, peuvent limiter la sorption de l'As par répulsion. La force ionique influence la compétition entre ions-As pour les sites disponibles ([Calugaru et al., 2019](#)). Contrairement aux métaux qui, lorsqu'ils sont solubles, apparaissent généralement sous une forme cationique (ex. Fe^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+}), l'As reste soluble sous forme d'oxyanion à pH élevé. Sa fixation aux substances humiques est maximale à pH 6–7, lorsque les groupes fonctionnels

sont déprotonés (Palmer et al., 2015). Toutefois, des anions compétiteurs (ex. PO_4^{3-}), ou des pesticides peuvent mobiliser l'As (Hu et al., 2015 ; Pathak et al., 2022). Enfin, la MO dissoute des tourbières peut réduire la sorption de l'As et d'autres métalloïdes (ex. Sb) en saturant les sites des oxydes de Fe ou par répulsion électrostatique (Besold et al., 2019).

2.3.2 Immobilisation de l'arsenic par interactions chimiques avec les phases minérales et organiques

Dans les sédiments organiques de lacs subarctiques impactés par l'activité minière, As(III,V) se lie préférentiellement aux (oxy)hydroxydes de Fe, indiquant une immobilisation par sorption (Miller et al., 2022). En milieu oxydant et neutre, l'As est majoritairement sorbé sur les (oxy)hydroxydes de Fe et Mn, ou sur les minéraux argileux (Yang et al., 2015). À l'inverse, des conditions réductrices ou alcalines favorisent sa remobilisation via la dissolution des phases métalliques et la désorption, As(III) étant plus mobile du fait de sa faible affinité pour les solides (Yang et al., 2015).

Dans les environnements suboxiques et acides, comme les tourbières du Peak District (pH 4,00–4,40 ; Eh 165–190 mV), As(III) prédomine (Mikutta et Rothwell, 2016), notamment sous forme H_3AsO_3 . Dans le bassin de Datong (Chine), l'augmentation du rapport As(III)/As total (jusqu'à 490 $\mu\text{g/L}$), corrélée aux sulfures (jusqu'à 2700 $\mu\text{g/L}$), suggère une réduction d'As(V) liée à l'oxydation de la MO ou des sulfures (Pi et al., 2017). La baisse du potentiel redox, induite par l'engorgement de la nappe phréatique, favoriserait également la mobilisation de l'As (Kasiulienė et al., 2019).

En Asie du Sud/Sud-Est, la réduction des (oxy)hydroxydes de Fe(III) dans les sols inondés est le principal facteur de libération de l'As vers les eaux souterraines. Dans le delta du Mékong, ces phases disparaissent au-delà de 7 m de profondeur (Wang et al., 2018). En traitement passif, la solubilité de l'As(V) semble être contrôlée par l'arséniate ferrique amorphe (Diaz-Vanegas et al., 2022). La jarosite agit comme piège en milieu acide et sulfaté, bien que sa capacité soit inférieure à celle de la schwertmannite (Diaz-Vanegas et al., 2022), confirmée comme sorbant efficace par modélisation géochimique (Tum et al., 2022).

Les (oxy)hydroxydes de Fe(III), seuls ou associés à la MO, forment des complexes stables par sorption ou co-précipitation (Hu et al., 2015 ; Rakotonimaro et al., 2017). Toutefois, le rôle

stabilisateur de la MO reste controversé (Rakotonimaro et al., 2021). La sorption de l'As(V) sur la MO nécessite un pont cationique (ex. Fe^{3+} , Al^{3+}) entre anions organiques (carboxylate/phénolate) et espèces d'As(V), avec des énergies variables selon le cation impliqué (Gorb et Shukla, 2017). L'As est alors immobilisé sous forme de complexes ternaires As–Fe–MO dans les tourbières, zones humides ou eaux souterraines (Catrouillet et al., 2015). Les études sur ces interactions concernent principalement l'As(V), tandis que la stabilité des complexes As(III)–Fe–MO en conditions réductrices demeure incertaine (Figure 2.3). Peu d'études ont examiné l'adsorption de l'As(III) sur la MO via des ponts ioniques Fe^{3+} et Fe^{2+} (Catrouillet et al., 2015, 2016), et leur contribution semble limitée (26%), As(III) restant plus labile et sujet au relargage dans l'environnement (Catrouillet et al., 2016). La mobilité de l'As(III) lié à la MO dépend de la nature particulière ou colloïdale de cette dernière.

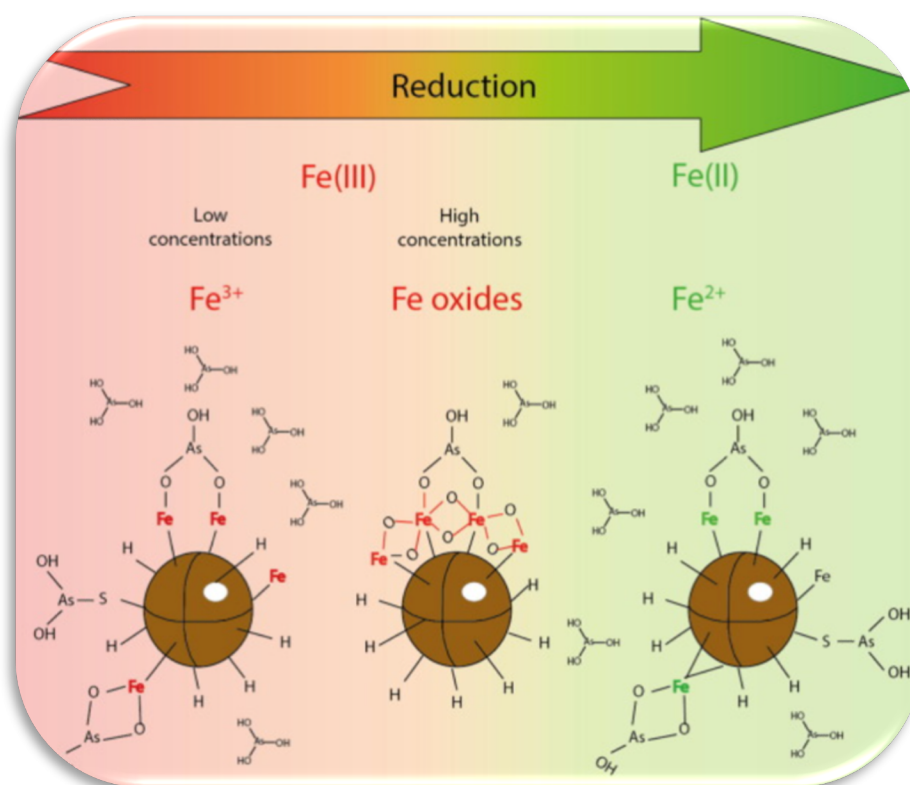


Figure 2.3

Modèles schématiques illustrant la formation de complexes entre As(III), Fe(II)/Fe(III) à la MO en fonction des concentrations et l'état redox de Fe dans les zones humides.

Source : Catrouillet et al., 2016.

La MO constitue également une source de carbone pour les microorganismes hétérotrophes (bactéries, archées, champignons) capables de mobiliser l'As par dissolution réductrice des (oxy)hydroxydes de Fe ou par réduction directe d'As(V) en As(III) à des fins de détoxification métabolique (Dabrowska et al., 2021). Glodowska et al. (2020) ont montré que le CH₄, utilisé comme donneur d'électrons par les méthanotrophes, favorisait la dissolution des minéraux porteurs de Fe³⁺ et la mobilisation de l'As.

2.3.3 Formation et stabilité des thioarsenicaux dans les eaux souterraines : rôle des conditions redox et de la matière organique

Dans les milieux aquatiques, Buschmann et al. (2006) ont montré qu'environ 10% de l'As(V) pouvait se complexer avec le carbone organique dissous (COD). En revanche, la liaison As(III)–COD ne devenait significative qu'à de très faibles rapports As(III)/COD, suggérant que sa mobilisation via la MO dissoute était surtout pertinente en présence de concentrations élevées de COD, comme dans les tourbières. Le mécanisme dominant impliquait l'échange des groupements hydroxyles (OH⁻) de la MO, bien qu'As(III) ait une affinité plus forte pour les groupes thiols organiques (ex. CH₃–SH) que pour les groupes fonctionnels oxygénés, en raison de sa forte attraction avec le soufre (trivalence), qui favorise la formation de complexes covalents stables.

En conditions réductrices, des études spectroscopiques suggèrent que les sites thiols (–SH) jouent un rôle majeur dans la liaison entre l'As(III) et la tourbe, grâce aux acides humiques (Hoffman et al., 2012; Catrouillet et al., 2016). Dans les couches profondes des tourbières (catotélme), la dissolution des (oxy)hydroxydes métalliques libère l'As(III), qui peut alors : (1) se lier à la MO via des groupes thiols en milieu légèrement acide, (2) former des thioarsénates par réaction avec des sulfures, ou (3) précipiter sous forme de sulfures d'As (Kujala et al., 2022). Ces interactions restent stables malgré des variations d'oxygénation. Les végétaux et microorganismes précurseurs de la tourbe peuvent également complexer l'As(III) via des groupements protéiques et enzymatiques. Cette affinité des thiols pour l'As(III) est cohérente avec son interaction avec les sites dithiol et trithiol de nombreuses protéines et peptides, inhibant partiellement ou totalement leur fonction biologique dans le corps humain (Smedley et Kinniburgh, 2002).

Dans le bassin de Datong (Chine), des concentrations variant de 8,0 à 2700 $\mu\text{g As/L}$ ont été mesurées entre 19–40 m de profondeur, avec des teneurs en sulfures ($< 5\text{--}490 \mu\text{g/L}$) et en Fe^{2+} ($< 20\text{--}280 \mu\text{g/L}$) relativement faibles (Pi et al., 2017). La détection des thioarsenicaux reste difficile, même en présence de sulfures élevés, en raison de leur instabilité chimique. Cependant, l'As(III) (H_3AsO_3) était l'espèce dominante, bien que certaines zones riches en sulfures favorisaient la formation de thio-As(III). De même, dans les tourbières du Peak District (Angleterre), Mikutta et Rothwell (2016) ont mesuré des concentrations d'As de 3,0 à 129 $\mu\text{g/L}$, associées à des teneurs en SO_4^{2-} de 0,66 à 2,75 mg/L. Les eaux interstitielles contenaient 4,0–71% d'As(III), 1,0–14% d'As(V), 1,0–15% d'arsénobétaïne et $\leq 4,0\%$ de MMA(V) et DMA(V), tandis que 13–87% des espèces d'As restaient non identifiées, probablement en raison de limitations analytiques (coélution d'espèces cationiques ou rétention sur les colonnes chromatographiques).

La présence de formes thiolées d'As, telles que les thioarsénites (thio-As(III)) et thioarsenates (thio-As(V)), a été mise en évidence dans divers environnements anoxiques. Par exemple, Kujala et al. (2024) ont observé ces espèces dans des microcosmes anoxiques, tandis que Besold et al. (2018) ont rapporté que les thio-As(V) représentaient jusqu'à 93% de l'As total dans l'eau interstitielle des tourbières de Laponie (Finlande). L'utilisation de la tourbe pourrait donc être bénéfique pour la biotransformation d'éléments métalliques en composés organométalliques moins toxiques, en particulier dans le cas de l'As (organoarsénique) (Palmer et al., 2015 ; Besold et al., 2018). Dans le delta du Mékong (Vietnam), Wang et al. (2018) ont identifié des interactions fortes entre les groupes thiols de la MO et l'As, observant des concentrations d'As plus élevées (34–69 mg/L) à 16 m de profondeur. L'As(III) y formait des complexes thiolés (40–55%), suggérant une accumulation prolongée, probablement initiée il y a environ 8079 ans dans une paléo-mangrove, où l'As dissous continue d'être libéré par la bioréduction de l'As(V).

Les calculs thermodynamiques réalisés avec PHREEQC ont renforcé l'hypothèse de la présence de thioarsenicaux (thio-As(III), thio-As(V)) dans les aquifères profonds (Helz et Tossell, 2008). Pour des eaux à faible teneur en sulfures (12,0 $\mu\text{g/L}$), le thio-As(V) était modélisé comme l'espèce dominante (77% de l'As total), tandis que l'As(III), l'As(V) et le thio-As(III) représentaient respectivement 18%, 5,0% et 0%. En revanche, à des concentrations plus élevées

en sulfures (367 µg/L), l'As(III) prédominait (87%), avec une co-présence de 10% de thio-As(V), 2,0% d'As(V) et 1,0% de thio-As(III). De plus, selon [Pi et al. \(2017\)](#), les eaux souterraines pourraient contenir des formes thiolées d'As en présence de sulfures (5–490 µg/L), en particulier pour l'As(V), suggérant qu'il ne précipiterait pas systématiquement sous forme de sulfure d'As.

Les conditions physico-chimiques influencent fortement la stabilité et la formation des thioarsenicaux. Bien que les environnements sulfato-réducteurs des tourbières puissent favoriser leur apparition, la faible concentration en sulfures libres limite leur formation directe. Ces sulfures sont rapidement incorporés dans la MO (tourbière, pH 4,5) sous forme de thiols, polysulfures ($-S_n^{2-}$) et sulfhydryles ($-SH$) ([Besold et al., 2018](#)) et peuvent être intégrés sous forme de ZnS dans les cellules racinaires ([Smieja-Krol et al., 2022](#)). De plus, la faible disponibilité en oxygène et les conditions réductrices induisent des micro-gradients physico-chimiques, comme dans les cellules de hyalines de la tourbe, favorisant la formation de minéraux sulfurés (FeS, CdS) couplée par la présence des BSR, un processus amplifié par un temps de rétention hydraulique prolongé (~5 j) ([Ben Ali et al., 2020](#)).

La disponibilité des sites de sorption, le pH et le potentiel redox régissent ces processus. Selon [Kasiulienė et al. \(2019\)](#), un Eh de $+47,7 \pm 8,9$ mV peut significativement affecter la mobilité de l'As, entraînant une lixiviation plus élevée en conditions réductrices (60%) qu'en conditions oxydantes (+270 mV ; 22%), tandis que la réduction du potentiel redox influence plus faiblement le lessivage du Cr, Cu et Zn.

2.3.4 Immobilisation de l'arsenic par mécanisme biochimique

Les environnements pollués par l'As, notamment les eaux minières, les sédiments d'eau douce et les aquifères, hébergent des souches microbiennes (bactériennes et fongiques) résistantes, témoignant d'une adaptation de milieux historiquement contaminés (**Tableau 2.2**). La diversité microbienne est plus limitée dans les environnements contaminés au DMA que ceux affectés par le DNC, encore peu étudiés ([Kujala et al., 2018, 2022](#)).

Malgré un siècle de contamination, certaines communautés microbiennes atteignent une diversité comparable à celle des sites de référence ([Bouskill et al., 2010](#)).

Tableau 2.2

Communautés de microorganismes identifiées dans les environnements contaminés au DNC/DNC-As.

Site d'étude	Drainage	Système de traitement utilisé	Procaryotes	Fungi	Référence
Laboratoire	DNC-Ni synthétique (Mn, Zn)	Essais en colonnes : cendres (bois), fumier (volailles), tourbe, compost (feuilles), copeaux et sciures.	<i>Sulfuricurvum</i> ^{S,D} , <i>Thiobacillus</i> ^{S,D} , <i>Rhodoplanes</i> ^D , <i>Hydrogenophaga</i> ^D , <i>Rhodospirillaceae</i> ^D , <i>Erythrobacteraceae</i> ^F , <i>Desulfosporosinus</i> ^{BSR} <i>Desulfotomaculum</i> ^{BSR} , <i>Desulfovibrio</i> ^{BSR} , <i>Nitrososphaera</i> ^N , <i>Nitrosopumilus</i> ^N , <i>Methanosarsina</i> ^{MH} , <i>Methanomassillicoccus</i> ^{MH} , <i>Methanolobus</i> ^{MH} , <i>Methanoculleus</i> ^{MH}	—	(Hamani, 2020)
Laponie finlandaise	DNC-As réel (Fe, Ni, SO ₄ ²⁻)	Traitement de polissage 2 tourbières	<i>Rhodoplanes</i> ^{D,AG} , <i>Thiobacillus</i> ^{S,D} , <i>Pseudomonas</i> ^{AG} , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Chloroflexi</i> , <i>Proteobacteria</i> ^{AO} , <i>Methanomicrobia</i> , <i>Methanobacteria</i> , <i>Thermoplasmata</i> , <i>Bathyarchaeota</i>	<i>Ascomycètes</i> , <i>Leotiomycetes</i> , <i>Dothideomycetes</i> , <i>Pezizomycetes</i> , <i>Sordariomycetes</i> , <i>Eurotiomycetes</i>	(Kujala et al., 2018)

^S : oxydation des composés réduits du soufre / ^F : fermentation / ^N : nitrification / ^D : dénitrification / ^{MH} : méthanogénèse / ^{BSR} : sulfato-réduction / ^{AG} : protéine anti-gel / ^{AO} : oxydation de l'arsenite / ^{OF} : oxydation du fer / ^{RO} : réduction du fer.

Tableau 2.2

Communautés de microorganismes identifiées dans les environnements contaminés au DNC/DNC-As. (suite)

Site d'étude	Drainage	Système de traitement utilisé	Procaryotes	Fungi	Référence
Slovaquie Elizabeth's shaft	DNC-As réel (SO ₄ , Mn, Sb)	Aucun Collecte à la source du drainage	<i>Gallionella</i> ^{OF} , <i>Leptothrix</i> ^{OF} , <i>Protéobactéria</i> ^{AO} , <i>Actinobactérie</i> , <i>Pseudomonas</i> ^{AG} , <i>Dechloromonas</i> ^{OF} , <i>Methyloversatilis</i> ^{OF} , <i>Desulfobacteraceae</i> ^{BSR} , <i>Desulfovibrionaceae</i> ^{BSR} , <i>Ferribacterium</i> ^{RO}	–	(Kiskova et al., 2018)
Brésil Mine Sossego	DNC réel (Cd, Pb, Cu, Ni)	Aucun Collecte à la source du drainage	<i>Proteobacteria</i> ^{AO} , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Actinobactérie</i> , <i>Gemmatimonadetes</i> , <i>Acidobacteria</i> , <i>Chloroflexi</i>	–	(Pereira et al., 2014)
Brésil Rivière Velhas	DNC-As réel (Fe, Mn, Cu, Zn)	Aucun Collecte à la source du drainage	<i>Proteobacteria</i> ^{AO} , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Acidobactérie</i> , <i>Nitrospira</i> ^N , <i>Crenarchaeota</i> , <i>Euryarchaeota</i>	–	(Reis et al., 2013)

^S : oxydation des composés réduits du soufre / ^F : fermentation / ^N : nitrification / ^D : dénitrification / ^{MH} : méthanogénèse / ^{BSR} : sulfato-réduction / ^{AG} : protéine anti-gel / ^{AO} : oxydation de l'arsenite / ^{OF} : oxydation du fer / ^{RO} : réduction du fer.

Les micro-organismes atténuent la toxicité de l'As par divers mécanismes, influencés par l'apport en nutriments, qui favorise leur développement (Zhang et Wang, 2014), et par des conditions abiotiques telles que la salinité et la température, qui peuvent l'inhiber (Ben Ali et al., 2020). La production de polymères extracellulaires facilite la sorption de l'As, particulièrement sous forme d'As(V) (Dabrowska et al., 2021). En conditions anoxiques, les BSR (ex. *Desulfovibrio*, *Desulfosporosinus*) favorisent la bio-précipitation des métaux(oïdes), réduisant leur mobilité (Sato et al., 2025).

L'analyse par microscopie électronique à balayage met en évidence des phases sulfurées de Fe(II) associées à l'As, suggérant que la précipitation des sulfures de Fe(II) limite l'accumulation de Fe(II) dissous et piège l'As dans les sédiments des eaux souterraines (Wang et al., 2017). De plus, Battaglia-Brunet et al. (2012) indiquent que l'efficacité de la bio-précipitation de l'As(III) dépend davantage d'un excès de sulfures que de l'activité des BSR. L'identification des processus biogéochimiques contrôlant le transfert de l'As du sol vers l'hydrosphère est cruciale pour prévenir les risques de toxicité.

2.4 Communauté bactérienne indigènes en environnement minier : eaux et sols contaminés au DNC-As

2.4.1 Généralités sur le microbiote bactérien en contexte minier arsénifère

Les activités minières perturbent les horizons de surface (dynamitage, déversements, entreposage de résidus), réduisant la teneur en MO et en nutriments, ce qui limite la productivité et l'activité biologique des sols. Or, les micro-organismes, moteurs des cycles biogéochimiques, jouent un rôle central dans le fonctionnement des écosystèmes (Tableau 2.2), notamment dans les tourbières où ils influencent le cycle des métaux (Kujala et al., 2024). Leur structuration (abondance, diversité) varie selon le stress environnemental (ex. pH, MO, température), les saisons et les gradients physico-chimiques (ex. profondeur, oxygène, métaux) (Ji et al., 2018 ; Navas et al., 2021 ; Chen et al., 2022 ; Kujala et al., 2018, 2022, 2024).

Ces communautés sont des bioindicateurs précoces de la qualité des sols et des eaux, utiles pour prédire les risques de toxicité et orienter la bioremédiation (Beattie et al., 2018 ; Hong et al., 2015). Dans les résidus d'une mine de cuivre à Sossego, des taxons aux fonctions xénobiotiques ont été identifiés, bien que la majorité des bactéries présentes restent peu connues

(Pereira et al., 2015). La richesse spécifique des communautés microbiennes, définie par le nombre d'espèces présentes, ainsi que leur composition et leur diversité, influencent directement la résilience des sols perturbés.

L'accumulation de résidus miniers et stériles expose les sols à la dispersion de contaminants par le vent et l'érosion hydraulique, modifiant la biomasse et les communautés microbiennes (Pereira et al., 2014 ; Ji et al., 2018 ; Dey, 2022). L'absence de MO exacerbe ces conditions extrêmes, favorisant les espèces microbiennes les plus tolérantes. Des phylums tels que *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Planctomyces* et *Bacteroidetes*, sont fréquemment retrouvés dans ces milieux (Nkongolo et Narendrula-Kotha, 2023). L'assemblage fongique est corrélé au pH, à la biomasse, à l'eau et au C/N, tandis que la végétation influence davantage les communautés bactériennes et archéennes.

2.4.2 Communauté microbienne du sol

La structure microbienne en lien avec la géochimie est bien étudiée pour les drainages acides, mais reste peu documentée dans les milieux contaminés par le DNC-As (Dey, 2022). Des analyses métagénomiques (séquençage Illumina) révèlent une forte variabilité des phylums bactériens prospérant dans ces environnements. Le **Tableau 2.3** résume les connaissances actuelles sur la distribution et l'abondance des communautés microbiennes dans les sols contaminés au DNC-As.

À l'échelle mondiale, ces sols sont dominés généralement par les *Proteobacteria* (*Alpha*, *Beta*, *Delta*, *Gamma*), *Actinobacteria* et *Acidobacteria*, suivis des *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia* et *Planctomycetes*. Les *Proteobacteria* dépassent souvent 50% de la diversité (**Tableau 2.3**). *Actinobacteria* et *Firmicutes* sont corrélés aux sols riches en métaux, tandis que les *Bacteroidetes*, spécialisés dans la dégradation de la MO complexe (végétale, animale, algale), sont sous-représentés, en lien avec la faible teneur en carbone dans ces milieux (Dey, 2022). La composition microbienne reste très variable selon les sites.

La diversité au niveau du phylum est globalement stable, mais celle au niveau du genre est plus élevée dans les zones polluées (ex. usine, digue, site d'extraction) que dans les zones témoins non polluées situées à 1–5 km (Hong et al., 2015). La structure microbienne évolue avec la contamination, même plusieurs décennies après la fin des activités (Beattie et al., 2018).

Tableau 2.3

État des lieux des communautés de microorganismes retrouvées dans les sols au DNC/DNC-As.

Site d'étude	Drainage	Extraction/séquençage ADN	Phylum	Genre	Point principal de l'article	Référence
Nord-Est Ontario Canada	Mine abandonnée Cobalt, exploitation Co.	Kit d'isolement ADN Sox	<i>Proteobacteria</i> (14–75%), <i>Actinobacteria</i> (5,0–48%), <i>Chloroflexi</i> (5,0–21%), <i>Cyanobacteria</i> (0–20%), <i>Firmicutes</i> (4,0–13%), <i>Gemmatimonadetes</i> (3,0–12%), <i>Acidobacteria</i> (0–9,0%), <i>Planctomycètes</i> (0–8,0%), <i>Euryarchaeota</i> (3,0%), <i>Patescibacteria</i> (3,0%), <i>Theumarchaeota</i> (0–3,0%)	<i>Sphingomonas</i> (30%), <i>Gaiella</i> (3,0–18%), <i>Nocardiodes</i> (20%), <i>Rubrobacter</i> (10%), <i>Gallionella</i> (5,0%), <i>Nitrospira</i> (2,0–6,0%), <i>Nitrosospora</i> (7,0%), <i>Hyphomicrobium</i> (3,0%), <i>Methylobacter</i> (2,0–16%), <i>Methylocystis</i> (4,0%), <i>Sideroxydans</i> (6,0%), <i>Thiobacillus</i> (9,0%), <i>Sulfurifustis</i> (3,0–28%), <i>Methylocapsa</i> (3,0–25%)	Profondeur et pH déterminent la composition des communautés dans les cycles biogéochimique (Fe, S, N, C, As). Impact mineur de l'As sur l'assemblage des communautés.	(Courchesne et al., 2021)
	pH neutre, As, Co, S.	Séquenceur Illumina			Présence des BSR à des profondeurs plus importantes est associée à une faible valence de l'As, tandis que les bactéries oxydantes (Fe, S) dans les résidus pourraient être liés aux (sulf-)arséniures.	
	Profils de sols échantillonnés en profondeur (30 cm).	ARNr 16S (région V4)				

Tableau 2.3
État des lieux des communautés de microorganismes retrouvées dans les sols au DNC/DNC-As. (suite)

Site d'étude	Drainage	Extraction/ séquençage ADN	Phylum	Genre	Point principal de l'article	Référence
Colmenarejo Espagne	Mine abandonnée Antigua Pilar, exploitation Cu. pH neutre, As, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn. Profils de sols (20 cm).	Kit d'isolement ADN Ultra Clean + kit de purification QIAquick PCR Séquenceur Illumina	<i>Protéobactéria</i> (46–57%), <i>Actinobacteria</i> (38–49%), <i>Firmicutes</i> (3,0%), <i>Bacteroidetes</i> (2,0–6,0%)	<i>Bradyrhizobium</i> (11%), <i>Streptomyces</i> (10%), <i>Mycobacterium</i> (6,5%), <i>Burkholderia</i> (4,6%), <i>Pseudomonas</i> (4,0%)	<i>Proteobacteria</i> augmentent avec la contamination (57%) vs. <i>Actinobacteria</i> dominant en zone non contaminée (49%). Gènes de résistance (Fe, Cu, As) plus abondants avec la contamination. Ceux liés au Cu prédominent en zone fortement contaminée.	(Navas et al., 2021)
Oklahoma Canada	Mine abandonnée Picher, exploitation Pb, Zn. pH neutre, Al, Cd, Pb, Zn, As. Profils de sols échantillonnés en profondeur (10 cm).	Kit MoBio Power Soil DNA Isolation Séquenceur Illumina ARNr 16S (région V4)	<i>Acidobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Chloroflexi</i> , <i>Planctomycetes</i> , <i>Protéobactéria</i> , <i>Verrucomicrobia</i>	<i>Streptomyces</i> , <i>Amycolatopsis</i> , <i>Flavisolibacter</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Geobacter</i> , <i>Gemmata</i> , <i>Planctomyces</i>	Total de copies de gènes d'ARNr 16S négativement corrélé avec Pb, Cd, Zn et Mg. Corrélation positive des archées avec le pH. Communauté microbienne influencée par les métaux plusieurs décennies après l'arrêt de l'exploitation minière.	(Beattie et al., 2018)

Tableau 2.3

État des lieux des communautés de microorganismes retrouvées dans les sols au DNC/DNC-As. (suite)

Site d'étude	Drainage	Extraction/ séquençage ADN	Phylum	Genre	Point principal de l'article	Référence
Pékin Chine	Résidus entassés près de la zone d'extraction de l'or districts de Huairou et Miyun. pH neutre, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, Cr. Profils de sols jusqu'à 75 cm de profondeur.	Kit EZNA1 Soil DNA	<i>Firmicutes</i> (3,0–92%), <i>Proteobacteria</i> (4,0–37%), <i>Actinobacteria</i> (2,0–30%), <i>Acidobacteria</i> (0–23%), <i>Chloroflexi</i> (0–18%), <i>Bacteroidetes</i> (0–15%), <i>Cyanobactéries</i> (0–4,0%), <i>Nitrospirae</i> (0–3,0%)	<i>Geobacillus</i> (1,0–2,0%), <i>Bacillus</i> (54–68%), <i>Lactococcus</i> (6,0–11%), <i>Streptococcus</i> (1,0–2,0%)	Communautés microbiennes variaient selon les sites et la profondeur du sol, avec une distribution similaire entre 30–45 cm et 45–60 cm. pH, COT et métaux influencent les communautés. <i>Bacillus</i> et <i>Lactococcus</i> espèces dominantes dans les résidus.	(Ji et al., 2018)
Lanestosa Espagne	Mine abandonnée Coto Txomin. Exploitation Pb et Zn. pH neutre et sols contaminés en Cd, Pb, Zn.	Séquenceur Illumina	<i>Proteobacteria</i> (18–28%) <i>Actinobacteria</i> (12–15%) <i>Acidobacteria</i> (10–18%), <i>Planctomycètes</i> (10%) <i>Chloroflexi</i> (3,0–10%)	–	L'abondance des <i>Actinobactéries</i> , et <i>Acidobactéries</i> diminue à des concentrations de métaux élevées, tandis que <i>Chloroflexi</i> augmente (1–10%).	(Epelde et al., 2015)

Des tests de Mantel montrent une forte corrélation entre la diversité bactérienne et les concentrations en métaux ($r = 0,647$; $p < 0,05$), supérieure à celle observée avec les propriétés physico-chimiques du sol ($r = 0,364$; $p < 0,05$) (Hong et al., 2015).

L'abondance bactérienne diminue avec la présence de Pb, Cd, Zn et Mg, tandis que les archées sont corrélées positivement au pH, mais pas aux métaux (Beattie et al., 2018). Sept phylums sont significativement corrélés à au moins un métal : *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* et *Verrucomicrobia*. Certains genres le sont plus particulièrement, notamment *Streptomyces* et *Amycolatopsis* (*Actinobacteria*), *Flavisolibacter* (*Bacteroidetes*), *Sphingomonas* et *Geobacter* (*Proteobacteria*), ainsi que *Gemmata* et *Planctomyces* (*Planctomycetes*). Ces observations sont répertoriées dans le **Tableau 2.3**.

2.4.3 Communauté microbienne des eaux

Les contaminants affectent la structure microbienne non seulement dans les sols, mais aussi dans les milieux aquatiques. Plusieurs études révèlent des modifications de la diversité et de la composition microbienne en lien avec la contamination des eaux (**Tableau 2.4**). En Slovaquie, l'analyse des eaux du puits d'Elizabeth, contaminées par le DNC-As (ex. Fe, Mn, Sb, SO_4^{2-}), a révélé une augmentation des bactéries tolérantes aux métaux, accompagnée d'une baisse de la diversité globale. Néanmoins, les genres *Leptothrix* et *Gallionella* (*Proteobacteria*), connus pour oxyder le Fe et le Mn, ont été détectés de façon persistante entre 2008 et 2014 (Kiskova et al., 2018). En revanche, les BSR, telles que *Desulfobacteraceae* (0,3%) et *Desulfovibrionaceae* (0,2%), étaient peu abondantes, suggérant une activité réduite de réduction du soufre en raison de faibles teneurs en S.

Au Brésil, après 16 ans d'exploitation de la mine de cuivre de Sossego, les sols contaminés (ex. Cu, S, Fe, Ni, Zn, Mn, Ca) présentaient une forte influence sur la composition microbienne sans impact marqué sur la diversité (Pereira et al., 2014). Les échantillons d'eau présentaient une diversité plus faible et une communauté bactérienne plus homogène, suggérant que seules certaines espèces tolérantes s'adaptent aux conditions extrêmes. Selon Pereira et al. (2014), une exposition aiguë au DNC réduit la diversité microbienne, tandis qu'une contamination chronique favorise la sélection de bactéries résistantes.

Tableau 2.4

État des lieux des communautés de microorganismes retrouvées dans les eaux au DNC/DNC-As.

Site d'étude	Drainage	Système de traitement utilisé	Extraction/séquençage ADN	Phylum	Genre	Point principal de l'article	Référence
Pennsylvanie	Mine de charbon abandonnée.	4 systèmes passifs, : biefs d'alimentation, bassins de décantation, d'aération et zones humides aérobie pour traitement de polissage.	Kit Qiagen Dneasy PowerSoil	<i>Actinobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Bacteroidota</i> , <i>Bdellovibrionota</i> ,	<i>Aurantimicrobium</i> , <i>Bacteriovorax</i> , <i>Bdellovibrio</i> , <i>Crenothrix</i> ,	Présence de SRB et SOB mais source de carbone inadéquate pour traiter le SO_4^{2-} .	(Valkanas et al., 2021)
États-Unis	4 DNC réels (Fe, Mn, SO_4^{2-}).		Illumina MiSeq	<i>Campylobacterota</i> , <i>Firmicutes</i> , <i>Nitrospirae</i> , <i>Proteobacteria</i> , <i>Verrucomicrobia</i>	<i>Flavobacterium</i> , <i>Gallionella</i> , <i>Methylobacter</i> <i>Nitrospira</i> , <i>Sediminibacterium</i>	Prédominance du genre <i>Desulfobulbus</i> , <i>Desulfovibrio</i> , <i>Sulfurospirillum</i> (10mM lactate).	
Laponie	Eaux usées de procédé et de drainage. Mine d'or.	Traitement de polissage par 2 tourbières et 1 tourbière témoin.	Kit PowerLyzer PowerSoil	<i>Proteobacteria</i> (25–50%) <i>Acidobacteria</i> (1,0–10%),	<i>Rhodoplanes</i> (4,5%),	Les communautés bactériennes s'adaptent aux fortes concentrations de métaux et au froid.	(Kujala et al., 2018)
Finlande	DNC-As réels (Fe, Sb, Ni, SO_4^{2-} , NO_3^-).		ARNr 16S (régions V1, V2)	<i>Actinobacteria</i> (1,0–5,0%) <i>Bacteroidetes</i> (1,0–3,0%)	<i>Thiobacillus</i> (1,3%)	Présence d'As associée à une abondance relative accrue de gènes impliqués dans la résistance à l'As : ArsC1, ArsC2 et AioA.	

ArsC1 et ArsC2 : gènes de résistances pour l'arséniate réductase / AioA : gène de résistance pour l'arsénite oxydase

Tableau 2.4

État des lieux des communautés de microorganismes retrouvées dans les eaux au DNC/DNC-As. (suite)

Site d'étude	Drainage	Système de traitement utilisé	Extraction/séquençage ADN	Phylum	Genre	Point principal de l'article	Référence
Slovinky Slovaquie	Eaux du puit Élizabeth, mine de cuivre abandonnée. DNC-As réel (Fe, Mn, Sb, SO ₄ ²⁻).	–	Kit d'ADN GenElute™ Pyroséquençage 454 instrument Roche 454 GS-FLX Titanium ARNr 16S (régions V1, V3)	<i>Proteobacteria</i> (70%), <i>Chloroflexi</i> (10%), <i>Actinobacteria</i> (4,0%), <i>Planctomycètes</i> (3,0%), <i>Acidobacteria</i> (2,0%)	<i>Azotobacter</i> (25%), <i>Pseudomonas</i> (14%), <i>Dechloromonas</i> (11%), <i>Methyloversatilis</i> (9%), <i>Bellilinea</i> (5%),	<i>Actinobacteria</i> , <i>Chloroflexi</i> , <i>Proteobacteria</i> dominant (Fe, S). <i>Dechloromonas</i> (11%) et <i>Ferribacterium</i> (2,0%) prédominant pour Fe. <i>Acidithiobacillus</i> est favorisé en milieu acide (Fe, S).	(Kiskova et al., 2018)
Canaã dos Carajás Brésil	Mine de cuivre Sossego, en activité. pH du sol neutre (0–10 cm), DNC réel (Cu, S, Fe, Ni, Zn).	Canal calcaire précipitation des métaux (S, Fe), augmentation pH.	Kit d'isolation d'ADN Power Soil Pyroséquençage ARNr 16S (régions V3, V4)	<i>Proteobacteria</i> (~27%) <i>Deinococcus</i> (25–70%) <i>Gemmatimonadetes</i> (15%), <i>Chloroflexi</i> (10–18%), <i>Acidobacteria</i> (7,0–15%), <i>Actinobacteria</i> (13,5,0%)	<i>Blastococcus</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Gemmatimonas</i> , <i>Meiothermus</i> , <i>Novosphingobium</i> , <i>Phenylobacterium</i> , <i>Porphyrobacter</i> , <i>Sphingomonas</i>	Cu influence <i>Proteobacteria</i> (60%) et <i>Deinococcus/Thermus</i> (62%), moins d'effet pour <i>Acidobacteria</i> (34%), <i>Gemmatimonadetes</i> (3,1%). Genres résistants aux métaux : <i>Meiothermus</i> (49%), <i>Bradyrhizobium</i> et <i>Sphingomonas</i> .	(Pereira et al., 2014, 2015)

Par ailleurs, le faible nombre d'OTU partagés entre les échantillons indique des différences marquées entre les communautés bactériennes dans les DNC et celles des sols adjacents. Ces observations soulignent l'influence du matériel et du degré de contamination sur la structuration des communautés microbiennes (**Tableau 2.3, 2.4**).

Dans ces milieux aquatiques affectés par le DNC-As, l'adaptation des communautés ne se limite pas à des changements de composition, mais s'accompagne aussi d'une sélection de traits fonctionnels. La détection récurrente de gènes de résistance à l'As (ex. *arsC*, *aioA*) témoigne de la pression exercée par les métaux. Cette spécialisation, bien qu'efficace pour la survie microbienne, peut réduire la résilience globale du système, en limitant la diversité fonctionnelle disponible pour répondre à de nouvelles perturbations.

2.4.4 Microorganismes et rôle géochimique dans le cycle de l'As

Les bactéries jouent un rôle central dans le cycle de l'As, influençant sa mobilité, tandis que l'As modifie en retour la composition et la structure des communautés bactériennes (Yin et al., 2022). L'As(V) et l'As(III) pénètrent facilement dans les cellules via les transporteurs de phosphate (Pit/Pst) et de glycérol (GlpF), en raison de leur similarité structurale (Wang et al., 2019) (**Figure 2.4**). Une fois assimilé, l'As peut servir de source d'énergie et intervenir comme donneur ou accepteur d'électrons dans les chaînes respiratoires (Pi et al., 2017).

Par oxydation, l'As(III) agit comme donneur d'électrons, tandis que l'As(V), réduit par la protéine *arsC* (arséniate réductase), peut servir d'accepteur final lors de la respiration anaérobie dissimilatrice (Tsai et al., 2009). Certains microorganismes stockent l'As sous forme de complexes protéiques ou nucléiques, éliminés par régénération ou lyse cellulaire (Huang, 2014). Toutefois, une accumulation intracellulaire dans des vésicules peut entraîner une toxicité pour l'organisme (Yin et al., 2022).

L'As(III) se lie aux thiols protéiques et groupes sulfhydryles, tandis que l'As(V) inhibe la phosphorylation oxydative, les rendant hautement toxiques (Wang et al., 2019). Pour limiter ces effets, plusieurs stratégies cellulaires ont été développées (**Figure 2.4**). La réduction microbienne du SO_4^{2-} limite l'accumulation d'As aqueux dans les aquifères réducteurs en favorisant la précipitation de minéraux soufrés qui séquestrent l'As (Mehdaoui et al., 2025a).

Des concentrations en SO_4^{2-} inférieures au seuil de détection n'impliquent pas nécessairement une activité des BSR, entraînant une mobilisation accrue de l'As en l'absence de précipitation des sulfures de Fe associés à l'As (Pathak et al., 2022). Néanmoins, la co-augmentation des sulfures dissous ($< 5\text{--}490 \mu\text{g/L}$) et l'As ($8\text{--}2700 \mu\text{g/L}$), particulièrement dans les échantillons à forte teneur ($\text{As} > 500 \mu\text{g/L}$), suggère que la sulfurogénèse contribue à la mobilisation de l'As, notamment par la dissolution des phases solides contenant de l'As (ex. (oxy)hydroxydes de Fe) (Pi et al., 2017).

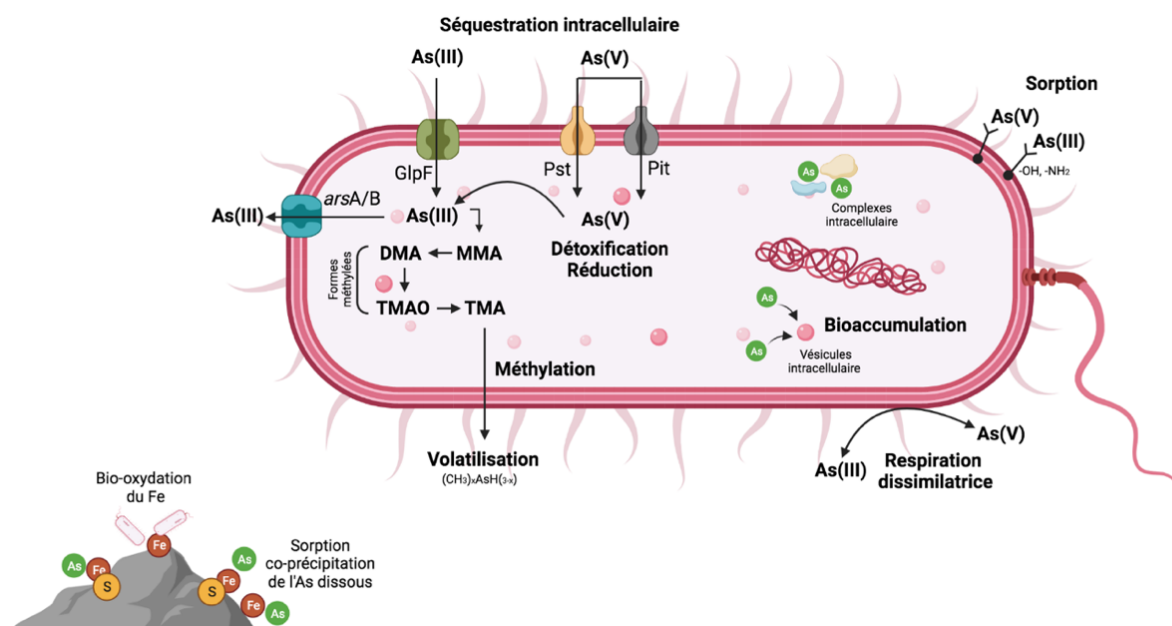


Figure 2.4

Représentation des différents mécanismes liés au cycle biogéochimique de l'As.

Source : adapté de Tsai et al., 2009 ; Huang, 2014. TMAO : triméthylamine N-oxyde ; TMA : triméthylamine.

Il a été démontré que la réduction des sulfates en sulfures (S^{2-}) en conditions anaérobies peut libérer l'As des oxydes de fer (Fe^{3+} , Fe^{2+}) (Shi et al., 2021), ce qui corrobore les conclusions d'une autre étude (Pathak et al., 2022), qui identifie la dissolution réductrice des (oxy)hydroxydes de Fe-As, couplée au métabolisme microbien du COD, comme étant probablement le principal mécanisme de libération de l'As dans les eaux souterraines.

Par conséquent, un échantillon d'eau contenant du COD, utilisable comme source de nourriture, pourrait s'il est scellé, privilégier des conditions anoxiques et favoriser la réduction d'As(V) durant le stockage (McCleskey et al., 2004).

Toutefois, la caractérisation de la biodiversité microbienne et la compréhension du cycle biogéochimique de l'As ne permettent pas de quantifier ni de discriminer les processus géochimiques et biochimiques impliqués dans l'(im)mobilisation de l'As. L'analyse isotopique constitue ainsi un outil complémentaire prometteur pour affiner cette distinction.

2.5 Composition et fractionnement isotopique du soufre : étude de l'origine biotique et abiotique des sulfures d'As

2.5.1 Généralités sur l'isotopie du soufre et son fractionnement isotopique

Le soufre est un élément chimique qui possède plusieurs isotopes définis par leur nombre de masse, correspondant à la somme du nombre de protons et de neutrons présents dans leur noyau atomique. Le soufre possède 4 isotopes stables avec des abondances relatives variées : ^{32}S (95,04%) ; ^{33}S (0,75%) ; ^{34}S (4,20%) et traces ^{36}S (0,015%) (Coplen, 2002). En raison de la faible abondance des isotopes ^{33}S et ^{36}S , seules les variations dans l'abondance relative des isotopes ^{32}S et ^{34}S sont généralement étudiées pour caractériser la composition isotopique du soufre. L'étude des isotopes stables du soufre s'avère particulièrement utile notamment dans la perspective d'examiner les processus naturels qui engendrent le fractionnement isotopique (ex. : réactions chimiques impliquant des espèces comportant le soufre) indépendamment des effets de désintégration radioactive.

2.5.1.1 Rapport isotopique et notation $\delta^{34}\text{S}$

Le rapport isotopique du soufre est défini comme le ratio entre l'abondance d'un isotope lourd (^{34}S) et d'un isotope léger (^{32}S) dans un même échantillon :

$$R = \left(\frac{^{34}\text{S}}{^{32}\text{S}} \right) \quad (2.1)$$

La notation $\delta^{34}\text{S}$ exprime la déviation relative du rapport isotopique du soufre d'un échantillon ($(^{34}\text{S}/^{32}\text{S})_{\text{ech}}$) par rapport à un standard de référence international ($(^{34}\text{S}/^{32}\text{S})_{\text{standard}}$; Vienna-Canyon Diablo Troilite, V-CDT) (Sharp, 2017) :

$$\delta^{34}S_{éch.} = \left(\frac{\left(\frac{^{34}S}{^{32}S} \right)_{éch.}}{\left(\frac{^{34}S}{^{32}S} \right)_{standard}} - 1 \right) \times 1000\text{‰} \quad \text{V-CDT} \quad (2.2)$$

Les variations sont exprimées en ‰ et δ est une grandeur sans dimension. Une valeur positive ($\delta^{34}S > 0$) indique un enrichissement en ^{34}S (isotope lourd) par rapport au standard de référence tandis qu'une valeur négative ($\delta^{34}S < 0$) traduit un appauvrissement en ^{34}S par rapport au standard de référence. La notation $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ est utilisée pour désigner la composition isotopique du soufre-sulfate.

2.5.1.2 Processus de fractionnement isotopique

Les processus de fractionnement isotopique peuvent être séparés en deux catégories. Le fractionnement cinétique se produit lors de processus unidirectionnels et irréversibles (ex. évaporation, diffusion ; $A \rightarrow B$). Les isotopes plus légers réagissent généralement plus rapidement, provoquant un déséquilibre isotopique. Le fractionnement à l'équilibre survient lorsque deux composés atteignent un équilibre chimique stable ($A \leftrightarrow B$). Dans les systèmes naturels, les fractionnements isotopiques sont rarement purement cinétiques ou à l'équilibre, relevant plutôt de processus hors équilibre (Mook, 2001). Le facteur de fractionnement isotopique (α) exprime ce fractionnement :

$$\alpha_A^B = \frac{R_B}{R_A} \quad (2.3)$$

où R_A et R_B représentent respectivement le rapport isotopique du composé A et B.

Généralement, les valeurs du facteur de fractionnement isotopique sont proches de 1 ($\alpha \approx 1$). Ainsi, la déviation de α par rapport à 1 est exprimée par le facteur d'enrichissement isotopique (ϵ), en partie par mille (‰) selon l'équation :

$$\epsilon_A^B = (\alpha_A^B - 1) \times 1000 \quad (2.4)$$

où ϵ représente un enrichissement (si $\epsilon > 0$) ou un appauvrissement (si $\epsilon < 0$) en isotope lourd.

Dans un processus irréversible ($A \rightarrow B$), ϵ reflète le changement de composition isotopique entre l'état initial et final (ex. $H_2S \rightarrow SO_4^{2-}$) (Mook, 2001).

La **Figure 2.5** illustre un outil de diagnostic conceptuel permettant d'analyser les processus influençant la concentration et la composition isotopique des sulfates dans le DNC-As au sein d'un système de traitement. Les tendances isotopiques et les modifications de concentrations (**Figure 2.5**) s'appuient sur les plages de valeurs rapportées dans le **Tableau 2.5** et sur les processus décrits dans la littérature. Le point bleu représente l'eau échantillonnée à l'entrée, indiquant la concentration initiale en sulfates et la composition isotopique du soufre. Les points rouges, associés aux flèches bleues, schématisent l'impact de divers processus (ex. réduction, dissolution, sorption).

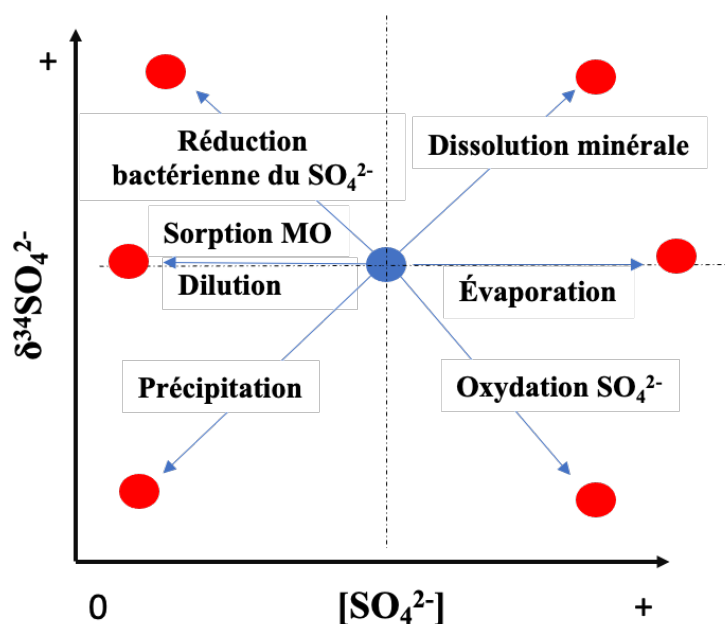


Figure 2.5
Outil de diagnostic conceptuel à la compréhension des processus isotopiques du sulfate.

Par exemple, une valeur élevée en $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ accompagné d'une diminution de la concentration en sulfates est caractéristique de la réduction bactérienne du sulfate (Canfield, 2001 ; Detmers et al., 2001) à l'inverse de la précipitation. La dissolution minérale ou l'oxydation de minéraux sulfurés, notamment la pyrite, génère une augmentation de la concentration en sulfates et une valeur $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ élevée (Pisapia et al., 2007; Wang et al., 2023). La dissolution de phases sulfurées (ex. gypse, pyrite secondaire) tend à augmenter la concentration en sulfate avec des $\delta^{34}S$ plus modérés (Pisapia et al., 2007) tandis que l'évaporation conduit à une augmentation en

SO_4^{2-} sans induire de fractionnement isotopique (le SO_4^{2-} reste dissous dans l'eau) (Hoefs, 2009). À l'inverse, les processus de dilution (ex. infiltration d'eau de pluie ou de nappe peu profonde), de mélange entre sources contrastées en SO_4^{2-} (d'origine atmosphérique, minière ou organique) ou de sorption sur les surfaces minérales ou organiques réduisent les concentrations de sulfates disponibles et n'induisent généralement pas de fractionnement isotopique mesurable comme l'ont montré des études sur les sols forestiers podzoliques (Van Stempvoort et al., 1990).

2.5.2 Fractionnement isotopique du soufre dans les milieux naturels

Le soufre subit divers processus de transformation dans l'environnement, notamment l'oxydation des sulfures, la réduction des sulfates et la dismutation du soufre (ex. $2\text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{S} + \text{H}_2\text{S}$; $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{S}^0$), qui entraînent généralement un fractionnement isotopique mesurable (Blodau et al., 2007). Ce fractionnement résulte des différences de réactivité entre isotopes légers et lourds, l'isotope lourd réagissant généralement plus lentement (Wang et Zhang, 2019). Dans les eaux souterraines, la réduction bactérienne des sulfates par les BSR est l'un des principaux moteurs du fractionnement isotopique du soufre. Lorsque cette réduction est complète, elle entraîne un enrichissement en isotopes lourds dans les sulfates résiduels, exprimé sous la notation $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$. Ce paramètre est couramment utilisé pour retracer les processus du cycle redox du soufre et évaluer l'intensité de la réduction bactérienne via le modèle de fractionnement de Rayleigh (Pathak et al., 2022).

Le cycle redox du soufre joue également un rôle clé dans la dynamique de l'As influençant occasionnellement la formation de sulfures d'As dans les aquifères peu profonds (Pi et al., 2017). Les sources de soufre, qu'elles soient d'origine organique ou inorganique, présentent des valeurs isotopiques distinctes (**Tableau 2.5**). L'analyse isotopique du soufre constitue ainsi un outil essentiel pour identifier l'origine des sulfates et les processus de transformation du soufre dans les systèmes naturels.

La réduction des sulfates est influencée par la nature du matériel de remplissage (ex. disponibilité en électrons), les conditions physicochimiques (ex. pH, Eh, température) et la physiologie des BSR. Des facteurs tels que la température (ex. 5, 15, 25°C) et la nature de la MO (acétate, lactate, éthanol) modulent l'ampleur du fractionnement isotopique associé à la

réduction bactérienne du sulfate ($\epsilon \sim +8,0\text{‰}$ à $+40\text{‰}$) (Canfield, 2001), c'est-à-dire l'enrichissement en ^{34}S du sulfate résiduel par rapport au sulfure produit. Par exemple, Detmers et al. (2001) ont mesuré des ϵ compris entre $+14\text{‰}$ et $+37\text{‰}$ chez *Desulfobacterium autotrophicum*, selon l'utilisation de l'hydrogène ou du butyrate comme donneur d'électrons.

Dans le biofiltre de Wood-Cadillac, en fonctionnement depuis 25 ans, des sulfures d'As ont été identifiés en profondeur (60–90 cm) (Mehdaoui et al., 2025a). Cependant, la complexité des interactions entre les processus géochimiques et microbiologiques complique l'interprétation du cycle du soufre en lien avec l'As. La composition isotopique du soufre peut être influencée par plusieurs facteurs, notamment :

1. Les processus géologiques responsables de la formation des minéraux soufrés (Li et al., 2022)
2. Les transformations biologiques, incluant la minéralisation du soufre organique et la réduction dissimilatrice des sulfates (Martinez et al., 2019)
3. Les effets abiotiques régulant la migration et la transformation des sulfures (Blodau et al., 2007)
4. Les réactions chimiques entre espèces soufrées (Blodau et al., 2007)
5. Les phénomènes de précipitation, de dissolution et d'adsorption/désorption des minéraux sulfatés, et d'oxydation des formes réduites du soufre (S^0 , HS^- , H_2S , FeS_2) (Wang et al., 2019).

Bien que ces processus induisent un fractionnement isotopique, la réduction bactérienne des sulfates par les BSR peut provoquer un fractionnement plus marqué (**Tableau 2.5**). L'analyse du $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ dans ces systèmes permet de tracer l'origine et les mécanismes de transformation du soufre, offrant une meilleure compréhension de son rôle dans la dynamique de l'As.

Tableau 2.5

Composition isotopique du soufre ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) et fractionnements (ϵ) géochimiques et microbiens.

Source de soufre	$\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ (‰ V-CDT)	ϵ (‰)	Commentaires	Références
Engrais	-3,2 à +13		Influencé par les conditions géologiques et les sources industrielles	(Wang et Zhang, 2019)
	-6,5 à +21,4		Compilation de 27 fertilisants utilisés en Espagne	(Vitoria et al., 2004)
Sol	+4,1 à +13,6		Plage typique retrouvée dans la littérature	(Wang et Zhang, 2019)
Évaporite	+9,5 à +28,3			
Minéraux sulfurés (ex. Pyrite)	-25 à +16,2			
Pyrite	+4,95 à +9,68		Huit échantillons de pyrite, chalcoppyrite et sphalérite dans les champs hydrothermaux d'Iheya North et de Yonaguni Knoll (Chine) avec une fréquence d'enrichissement lorsque les équilibres sont atteints : $\delta^{34}\text{S}_{\text{pyrite}} > \delta^{34}\text{S}_{\text{sphalérite}} > \delta^{34}\text{S}_{\text{chalcoppyrite}}$	(Wang et al., 2023)
Chalcoppyrite	+4,87 à +8,89			
Sphalérite	+4,78 à +8,60			
Dissolution de la pyrite	+ 2,8 à +4,5		Bio-oxydation : sulfates produit à partir de l'oxydation des sulfures	(Pisapia et al., 2007)
Précipitations atmosphériques	-3,2 à +14,4		Composition isotopique des précipitations atmosphériques présentait des caractéristiques de distribution spatiale significatives (Nord $\neq$ Sud)	(Wang et Zhang, 2019)
Eaux souterraines peu profondes	+4,4 à +30,23		Plages isotopiques plus larges pour échantillons saisonniers d'eaux souterraines peu profondes, prédominance recharge par la mousson, suivie de l'influence de l'oxydation et réduction des composés soufrés	(Pathak et al., 2022)

Tableau 2.5

Composition isotopique du soufre ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) et fractionnements (ϵ) géochimiques et microbiens. (suite)

Source de soufre	$\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ (‰ V-CDT)	ϵ (‰)	Commentaires	Références
Eau usée de fusion Eau usée de fonderie Drainage minier	-1,4‰ à +4,4‰ -1,4‰ +3,5‰ à +4,4‰		Composition $\delta^{34}\text{S}$ saison des pluies ($+3,8 \pm 0,9\text{‰}$) légèrement plus lourde qu'en saison sèche ($\delta^{34}\text{S} = +1,4 \pm 1,2\text{‰}$). Corrélation positive [As] et [SO_4^{2-}] durant la saison des pluies	(Li et al., 2022)
Fractionnement du soufre entre SO_4^{2-} et la pyrite	$\delta^{34}\text{S} : +30$		Sédiments d'estuaire (Chine), divergence des valeurs $\delta^{34}\text{S}$ entre pyrite et sulfures volatiles $+1\text{‰}$ à $+24\text{‰}$ avec la profondeur	(Nang-Htay et al., 2023)
Communauté naturelle BSR		+2 à +40	Fractionnement modifié par le substrat et la température. Non affecté par la [SO_4^{2-}]. 5°C a un effet inhibiteur sur le fractionnement	(Canfield, 2001)
<i>Desulfobacterium autotrophicum</i>		+14 à +37	Fractionnement selon la source de donneur d'électron	(Detmers et al., 2001)
<i>Desulfurivibrio alkaliphilus</i>		+12 à +13	Fractionnement selon la temporalité de la phase d'inoculation des cellules	(Pellerin et al., 2019)
<i>Allochromatium vinosum</i>		+0,1 $\pm$ 0,2	Fractionnement durant l'oxydation du sulfure au sulfate	(Brabec et al., 2012)
<i>Chlorobium tepidum</i> <i>Thiobacillus denitrificans</i>		-2,3 $\pm$ 0,6 à -0,7 $\pm$ 0,3 -4,3 à -1,3	Sulfures oxydés en sulfates après l'amendement au nitrate dans des conditions de réduction	(Poser et al., 2014)

2.5.3 Fractionnement isotopique du soufre d'origine inorganique

Les facteurs d'enrichissement isotopique sont essentiels pour comprendre les processus géochimiques et biologiques, ainsi que pour retracer l'origine et les voies de contamination des effluents miniers. Les compositions isotopiques du soufre-sulfate ($\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$) sont distinctes dans les eaux minières par rapport aux eaux naturelles, notamment en raison de l'oxydation des sulfures. À la mine de Xikuangshan, en Chine, la proportion de sulfate d'origine minière dans la rivière Feishuiyan, estimée par analyse isotopique du soufre, variait de 37 ± 10 à $96 \pm 4,0\%$ en saison sèche, et de $28 \pm 8,0$ à $88 \pm 8,0\%$ en saison des pluies. Les valeurs de $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ mesurées étaient comprises entre $-0,4\%$ et $+2,9\%$ en saison sèche, et entre $+2,6\%$ et $+3,8\%$ en saison des pluies (Li et al., 2022). En Corée du Sud, le suivi des suintements contaminés issus des haldes des mines d'or-argent de Daema et de cuivre d'Okdong a révélé un $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ de $+8,6\%$ dans l'eau de la galerie, une composition isotopique proche de celle des minerais (arsénopyrite, grès, chalcoppyrite, galène ; $+8,2\%$ à $+9,0\%$), reflétant leur oxydation (Kim et al., 2020).

En revanche, le $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ du suintement des résidus entreposés variait davantage ($-1,32\%$ à $+7,59\%$) reflétant la contribution simultanée de plusieurs sources de sulfate et de processus géochimiques, tels que la dissolution de minéraux secondaires et la réduction bactérienne du sulfate, en contraste avec la signature isotopique plus homogène de l'eau de la galerie, dominée par l'oxydation des minéraux sulfurés primaires. Ces valeurs étaient plus élevées que celles observées dans les effluents de la mine de Xikuangshan : eaux usées de fusion ($-1,4\%$ à $+4,4\%$), de fonderie ($-1,4\%$) et de drainage ($+3,5\%$ à $+4,4\%$) (Li et al., 2022, Tableau 2.5).

La pyrite est abondante dans les sédiments et les eaux interstitielles minières. Lors de sa formation, elle présente un fractionnement isotopique d'environ $+1\%$ par rapport au soufre réduit dissous (H_2S ou S^0), c'est-à-dire qu'elle est légèrement enrichie en ^{34}S (Price et Shieh, 1979). Une fois précipitée, la pyrite n'échange plus d'isotopes avec le soufre dissous, de sorte que son $\delta^{34}S$ enregistre la valeur isotopique du sulfure à l'instant de sa formation (Nang-Htay et al., 2023).

Les facteurs d'enrichissement isotopique permettent de retracer les sources d'eau souterraine et les processus de formation minérale dans les roches. En Chine, la composition isotopique

$\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ dans les précipitations atmosphériques a été estimée à +5,7‰ (Wang et Zhang, 2019). Ainsi, des eaux souterraines peu profondes présentant un $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ supérieur à cette valeur pourraient témoigner d'une réduction bactérienne des sulfates. À l'inverse, des valeurs inférieures ($\leq 5\%$) suggèrent généralement une oxydation authigène des sulfures (Pathak et al., 2022).

Une corrélation positive a également été observée entre le rapport $1/(SO_4^{2-})$ et le $\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$ dans la majorité des échantillons prélevés dans des aquifères profonds anoxiques de la plaine du Gange (Inde), notamment dans des formations sédimentaires quaternaires riches en MO (Pathak et al., 2022). Ce phénomène semble résulter du mélange entre une eau interstitielle riche en sulfate provenant de sédiments argileux ou tourbeux et une faible contribution d'eau oxygénée peu profonde (Pathak et al., 2022). Enfin, les infiltrations d'engrais contenant du sulfate d'ammonium ou du gypse peuvent enrichir les eaux souterraines en ^{34}S , se traduisant par une augmentation du $\delta^{34}S-SO_4^{2-}$, introduisant un biais dans l'interprétation des processus géochimiques (Kim et al., 2020, **Tableau 2.5**).

2.5.4 Fractionnement isotopique du soufre d'origine organique

La valeur de $\delta^{34}S$ dans le sol reflète généralement la source de soufre et les processus de transformation qui l'accompagne. Il a été montré que *Desulfurivibrio alkaliphilus*, une bactérie oxydant les sulfures, induit un enrichissement constant en ^{34}S dans le sulfate produit (+12,5‰) (Pellerin et al., 2019). Ce résultat remet en question le consensus général selon lequel l'oxydation microbienne des sulfures engendre peu de fractionnement isotopique et souligne que l'activité métabolique microbienne peut influencer significativement les signatures isotopiques du soufre dans les sédiments.

Dans des terres agricoles (rizières) contaminées par du drainage minier-As (Chine), Chen et al. (2022) ont trouvé des phénomènes divergents quant à la variation de $\delta^{34}S$ dans différents profils de sols. Les valeurs de $\delta^{34}S$ du sol allaient de -0,69‰ à +11,44‰. Par ailleurs, l'augmentation progressive de $\delta^{34}S$ avec la profondeur suggère une réduction dissimilatrice des sulfates dans le sol, produisant des formes réduites de soufre telles que le FeS.

Au Canada, Blodau et al. (2007) ont observé un enrichissement en ^{34}S (+3,6 à +6,0‰) du sulfate présent dans la tourbe peu profonde, attribué à l'activité des BSR. En profondeur (75 cm),

l'appauvrissement en ^{34}S du sulfate résiduel suggère un réapprovisionnement du pool en sulfate à partir de sources naturelles telles que le soufre inorganique réduit (SIR) ou organique présent dans la tourbe. La réduction des sulfates enrichit le pool résiduel en ^{34}S , tandis que les produits tels que le H_2S , le SIR et le soufre lié au carbone sont appauvris en ^{34}S , traduisant un fractionnement isotopique élevé (Canfield, 2001). À l'inverse, la reconstitution du pool de sulfate à partir de ces composés réduit la teneur en ^{34}S du sulfate (Blodau et al., 2007).

Dans l'étude de Pathak et al. (2022), les eaux peu profondes (≤ 60 m) présentaient des facteurs d'enrichissement isotopique du soufre ($\epsilon \sim +2,0\text{‰}$ à $+10\text{‰}$, jusqu'à $+25\text{‰}$), mesurant l'écart entre le $\delta^{34}\text{S}$ du sulfate résiduel et celui du sulfure produit, et indiquant une forte activité des BSR. Ces variations semblent liées à la fois aux conditions redox et à la composition des matériaux organiques (lactate, éthanol) et à l'excès de sulfate, modulant l'activité des BSR (Canfield, 2001). Toutefois, aucune corrélation significative n'a été établie entre les concentrations d'As total dissous et les facteurs d'enrichissement isotopique du soufre, suggérant que l'intensité des BSR n'influence pas directement la mobilisation de l'As (Pathak et al., 2022).

2.6 *Approche méthodologique dans la mise en place d'un système de traitement passif pour des sites en fermeture ou abandonnés générateurs de DNC-As*

Les compagnies minières produisant un drainage minier doivent assurer sa gestion tout au long du cycle de vie de la mine. Depuis les années 1970, les systèmes de traitement passifs ont été largement privilégiés pour les sites en fermeture ou abandonnés, en raison des présomptions de performance d'amélioration continue de la qualité de l'eau avec des engagements limités d'exploitation et de maintenance (Skousen et al., 2017). Comme la durée de génération d'un DNC-As peut persister de nombreuses années (Sprague et al., 2018), le recours à un traitement actif en continu pour des sites fermés ou abandonnés n'est pas une option viable à long terme en raison des coûts élevés (Wolkdersdorfer, 2022; MRNF, 2024). Les technologies de traitement passif se répartissent en deux grandes catégories : les procédés chimiques et biochimiques (Figure 2.6).

Ces méthodes sont particulièrement attrayantes pour l'industrie minière, car elles assurent un traitement efficace après la fermeture du site, y compris en conditions climatiques extrêmes (Duncan et al., 2010 ; Dean et al., 2022). Fonctionnant par gravité avec des TRH adaptés au

débit et à la charge en contaminants, elles ne nécessitent ni énergie externe ni réactifs chimiques, et peuvent rester opérationnelles pendant plusieurs décennies avec un entretien minimal (Skousen et al., 2017). En outre, elles offrent aussi un potentiel de valorisation des éléments de terres rares (Hedin et al., 2019), renforçant leur intérêt économique et environnemental. Contrairement aux traitements actifs, adaptés aux DMA, les systèmes passifs conviennent mieux aux contaminations modérées, comme celles du DNC-As.

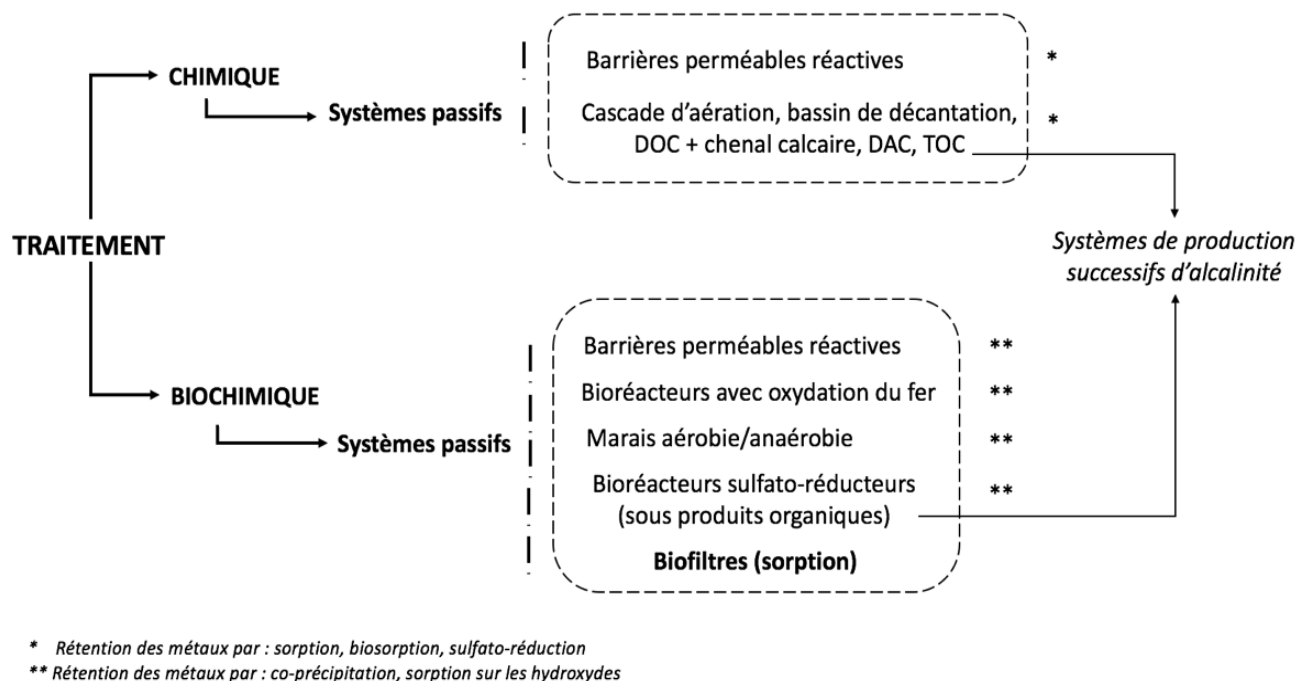


Figure 2.6
Classification des systèmes de traitement passif par voie chimiques et biochimiques.

Source : adapté de Genty, 2012. DOC : drain oxique calcaire ; DAC : drain anoxique calcaire ; TOC : tranchée oxique calcaire.

2.6.1 Traitement passif chimique

Les procédés chimiques permettent l'enlèvement séquentielle des métaux et/ou de l'acidité. Ils incluent les systèmes suivants (**Figure 2.6**) :

1. Drain oxique calcaire (DOC)
2. Tranchée oxique calcaire (TOC)
2. Drain anoxique calcaire (DAC)
4. Barrière réactive perméable

Ces méthodes sont particulièrement efficaces pour le traitement du DMA, car elles favorisent l'augmentation du pH et de l'alcalinité, entraînant la précipitation des métaux(oïdes) (Skousen et al., 2017). Toutefois, elles restent inadaptées au traitement du DNC en raison de son pH neutre et de ses faibles concentrations en métaux(oïdes).

2.6.2 Traitement passif biochimique

Les traitements passifs biochimiques reposent sur des processus écologiques, microbiologiques et géochimiques au sein de systèmes naturels ou artificiels à l'apparence naturelle. Ces écosystèmes épurateurs peuvent être :

1. *Des biofiltres/marais épurateurs*, tels que les zones humides (marais artificiels, tourbières naturelles), utilisés seuls ou en association avec un prétraitement chimique ou physique. Composés de matériaux naturels, ces systèmes, largement déployés sur les sites miniers fermés et abandonnés, sont privilégiés pour leur faible coût de maintenance, leur efficacité dans la purification et le polissage des drainages modérément contaminés, DNC-As (Duncan et al., 2010 ; Skousen et al., 2017 ; Heiderscheidt et al., 2020a,b).
2. *Des réacteurs sulfato-réducteurs*, constitués d'un matériel organique et de bactéries sulfato-réductrices (BSR), qui favorisent en conditions anaérobies la réduction des métaux(oïdes) sous forme de sulfures métalliques (Skousen et al., 2017).
3. *Des barrières réactives perméables*, similaires aux réacteurs sulfato-réducteurs, mais appliquées aux eaux souterraines qui traversent un matériau réactif perméable (Wang et al., 2016).

Toutefois, la majorité des études sur le traitement passif se sont concentrées sur la remédiation des eaux acides riches en fer, dont les mécanismes d'enlèvement sont bien documentés (Skouzen et al., 2017). À l'inverse, les stratégies de traitement du DNC, caractérisé par des concentrations plus faibles en sulfates et en fer, restent peu explorées. Des exemples de systèmes de traitement passif mis en place pour différents types de drainages miniers ont été répertoriés (Tableau 2.6).

Tableau 2.6

Exemples de systèmes de traitement passif mis en place pour différents types de drainages contaminés.

Traitement passif	Système	Échelle	Site d'étude	Drainage/ Hydraulique	Design système	Efficacité d'enlèvement (%)	Référence
Bio chimique	Biofiltre artificiel	Terrain	Site minier abandonné Wood-Cadillac, Québec, Canada	DNC-As réel TRH = 25 h ~25 200 L/h	Biofiltre : 57 l x50 Lx1 H (m). Écorces de bois de bouleaux jaunes	As : 76–92 SO ₄ ²⁻ : 67–99	(Germain et Cyr, 2003)
	Bioréacteur passif sulfato-réducteur	Laboratoire	–	DMA synthétique TRH = 1–4 j	Colonne : 15% fumier (vache), 10% compost (champignons), 25% sciure (bois), 15% graviers, 20% calcaires, 15% sédiments	SO ₄ ²⁻ > 60 Fe ²⁺ : 85-99 Zn ²⁺ : 70–100 Mn ²⁺ : 60	(Vasquez et al., 2018)
	Bioréacteur avec oxydation du fer	Pilote de terrain	Site minier abandonné d'Agnès Petrová, Slovaquie	DNC-As réel TRH = 2,2 h 360 L/h	Deux réacteurs en série (1 m ³). n°1 précipite, n°2 sorbe (150 kg de Fe)	As : 89 Sb : 86 Fe : –21 SO ₄ ²⁻ : 2,0	(Sekula et al., 2018)

LNOF : lagune naturelle d'oxydation du Fe ; SAD : substrat alcalin dispersé ; ETR : éléments de terre rare ; GH : gradient hydraulique

Tableau 2.6

Exemples de systèmes de traitement passif mis en place pour différents types de drainages contaminés. (suite)

Traitement passif	Système	Échelle	Site d'étude	Drainage/ Hydraulique	Design système	Efficacité d'enlèvement (%)	Référence
Bio chimique	Barrière réactive perméable	Système pilote	Mine phosphates, Charlestone, Etats-Unis	DMA réel GH : 0,0024 m/m	Pilote : 7,9 l x 1,8 L x 4,1 H (m). 30% feuilles + 20% limaille de fer + 5% gravier calcaire	As, Pb, Cd, Ni, Zn, Fe, Al : >98 SO ₄ ²⁻ : 85–99	(Ludwig et al., 2009)
	Zone humide	Terrain	Fonderie Teck Metals, Colombie Britanique, Canada	DNC-As réel Débit variable (saisonnalité) : 2 500–40 000 L/j	Deux bioréacteurs anaérobies à flux verticaux + trois zones humides végétalisées à flux souterrain horizontal + filtre à sable + bassin de rétention	As, Zn, Cd : 91,5–100	(Duncan, 2010)

LNOF : lagune naturelle d'oxydation du Fe ; SAD : substrat alcalin dispersé ; ETR : éléments de terre rare ; GH : gradient hydraulique

Tableau 2.6

Exemples de systèmes de traitement passif mis en place pour différents types de drainages contaminés. (suite)

Traitement passif	Système	Échelle	Site d'étude	Drainage/ Hydraulique	Design système	Efficacité d'enlèvement (%)	Référence
Chimique	Multi-étapes avec LNOF + SAD	Terrain	Site minier abandonné de Monte Romero, Espagne	DMA réel TRH = 24 h–4 j selon design des bassins	Lagune naturelle (100 m ²) + deux réservoirs de 3 m ³ en série avec deux bassins de décantation (6 m ³). SAD + 80% copeaux pins, 20% sable calcaire	As, Fe, Al, Cu, Pb : 100, Zn : 6,0	(Macías et al., 2012)
	Multi-étapes avec LNOF + SAD	Terrain	Site minier Mina Concepción, ceinture de pyrite ibérique, Espagne	DMA réel Débit variable (saisonnalité): 0,8–0,1 L/s	Lagune naturelle de 100m ² oxydant Fe + cascades + deux réservoirs alcalins 960 et 720 m ³ + deux bassins de décantation 100 m ² (Fe, Al) + réservoir 400 m ³ copeaux de bois + SAD	As, Cr, Al, Cu, Pb, Zn, Cd, ETR : 100 Co, Ni : > 95 Fe : > 90 SO ₄ ²⁻ < 69	(Martinez et al., 2019)
	Barrière réactive perméable	Système pilote	Décharge municipale fermée, Escambia, Floride	DNC réel GH : 0,003–0,0267 m/m	Béton concassé 100 t + calcaire 91 t	Fe : 91–95 Mn : 61–64	(Wang et al., 2016)

LNOF : lagune naturelle d'oxydation du Fe ; SAD : substrat alcalin dispersé ; ETR : éléments de terre rare ; GH : gradient hydraulique

L'accaparement de tourbières naturelles près des sites miniers (Palmer et al., 2015 ; Kujala et al., 2024) ou la mise en place par biomimétisme de systèmes artificiels d'apparences naturelles comme les biofiltres (Libero, 2007 ; Turcotte et al., 2021) permet de tirer parti des processus écologiques, microbiens et géochimiques du milieu (Skousen et al., 2017). Ces systèmes sont particulièrement adaptés aux drainages modérément contaminés (ex. Fe, Sb, As, Ni), comme le DNC-As (Palmer et al., 2015 ; Mehdaoui et al., 2025a,b). Ils ralentissent l'écoulement de l'eau et offrent de vastes surfaces de filtration via les racines, tissus végétaux, et particules organo-minérales du sol (Vymazal, 2011).

À la différence de tout système inerte, ces réacteurs biochimiques vivants ne devraient être soumis à une quelconque obsolescence programmée. Leurs capacités épuratoires devraient donc s'accroître avec les années dès lors que leurs designs de conceptions ont correctement été mis en place (Skousen et al., 2017). Leur fonctionnement en climat froid et leur coût réduit en font une solution attrayante pour l'industrie. Leurs conceptions sont donc davantage appréciées économiquement par les industriels et environnementalement plus acceptable.

Dans les biofiltres, la sorption constitue le principal mécanisme d'immobilisation des métaux dans le DNC (Calugaru et al., 2018). En raison de la faible teneur en fer du DNC-As, les processus de co-précipitation avec le fer sont limités (Mehdaoui et al., 2025a,b). De plus, sa faible concentration en sulfates pourrait réduire l'efficacité des bioréacteurs sulfato-réducteurs, limitant la sulfato-réduction (Hamani, 2020). Chaque drainage minier contaminé présente une composition physico-chimique unique (ex. pH, métaux et sels) (Soda et Nguyễn 2023). Bien que des formulations proposées existent pour le traitement du DMA selon la charge en contaminants (Neculita et al., 2021), aucun consensus scientifique n'a clairement été défini pour le traitement du DNC-As.

2.6.3 Démarche préliminaire à la conception de biofiltres au DNC-As

Avant la mise en service d'un biofiltre à grande échelle (milliers de m³), des tests progressifs à petite (cm³), moyenne (dm³) et échelle pilote (m³) sont nécessaires. Les essais à petite échelle permettent, en quelques jours, d'évaluer l'influence de multiples variables (ex. mélange, chimie de l'eau, température, salinité) sur l'efficacité du traitement. Les scénarios les plus prometteurs sont ensuite testés à moyenne échelle en laboratoire sur plusieurs semaines

(Ben Ali et al., 2019), puis validés à l'échelle pilote sur le terrain, en conditions environnementales réelles (El-Kilani et al., 2021). Généralement, les tests suivent une approche graduelle de complexité, débutant avec un drainage synthétique réalisé en laboratoire puis réel, permettant d'ajuster les paramètres de conception avant l'application sur le terrain (Neculita et al., 2021).

2.6.3.1 Expériences de sorption en lots (150 cm³, j)

Les expériences de sorption évaluent la capacité des sorbants à retenir un métal donné dans des conditions géochimiques définies (Tan et Hameed, 2017). Elles dépendent des propriétés du sorbant (ex. taille, polarité, charge, solubilité), des caractéristiques physico-chimiques du soluté et des paramètres environnementaux (ex. température, pH, salinité) (**Tableau 2.7**).

Dans les essais en lots (erlenmeyer), un sorbant (ex. MO, résidus industriels) de quelques grammes est mis en contact avec un drainage minier synthétique/réel (centaines de mL) contenant le métal(oïde) cible (ex. As) à concentration initiale connue. Deux types d'expériences sont généralement menées successivement : (1) la cinétique de sorption, qui détermine la vitesse d'adsorption/désorption en fonction du temps et est corrélée à la porosité du sorbant (Byambaa et al., 2021), et (2) l'isotherme de sorption, qui quantifie la capacité d'adsorption à l'équilibre en fonction de la concentration résiduelle du soluté en phase liquide. Ces paramètres sont essentiels pour orienter la sélection des matériaux adsorbants et affiner les stratégies de conception des biofiltres (Kim et al., 2021).

Les vitesses d'agitation varient considérablement dans la littérature, allant de 20 à 500 tr/min (**Tableau 2.7**). Une agitation rapide et des petites particules réduisent les limitations diffusive. Une intensité excessive peut fragmenter le sorbant et surestimer sa capacité de sorption (Tan et Hameed, 2017). Heiderscheidt et al. (2020b), ont observé une efficacité optimale d'enlèvement d'As à 170 tr/min (40–300 tr/min) tandis qu'une agitation excessive (300 tr/min) augmentait la turbidité résiduelle en favorisant la désagrégation des particules (90–250 µm).

La dose de sorbant varie également selon les études (**Tableau 2.7**). Plusieurs travaux suggèrent un ratio de 1 à 2 g de sorbant pour 100 mL de solution (Genty et al., 2012 ; Hamani, 2020 ; Richard, 2020). Toutefois, Aguilar-Garrido et al. (2022) ont exposé un DNC-As (As : 0, 50, 100, 200 µg/L) à un mélange tourbe/carbonate avec un ratio solide/liquide de 30 g pour 150 mL.

Tableau 2.7

Synthèse des cinétiques et isothermes de sorption des matériaux utilisés dans le traitement du DNC-As.

Tests lots	Matériaux	Drainage	pH initial/final	Agitation / température	Design des essais	Sorption maximale	Référence
Essais cinétiques	8 matériaux : biochars activés/non + greffé Fe/non, dolomite modifiée + cendres de bois modifiées/non.	DNC-As synthétique As(V) : 850 µg/L HAsNa ₂ O ₄ ·7H ₂ O DNC-As réel As : 300 µg/L	pH = 7/6*-12	500 tr/min 20°C	Ratio solide/liquide : 100 (0,4 g/40 mL). Temps de contact : 1, 4, 8, 10, 18, 24 et 48 h.	Dolomite modifiée : (q _t 18 h = 820 µg/g) Biochar-Fe : (q _t 18 h = 270 µg/g)	(Braghiroli et al., 2020)
	Adsorbant MIRESORB™ : boues de géotube (DMA) + absorbant GFH (hydroxydes de Fe).	DNC-As synthétique As(V) : 30 mg/L HAsNa ₂ O ₄ ·7H ₂ O	pH = 6*/6*	Agitée en continu —	Ratio solide/liquide : 1000 (1 g/1000 mL). Temps de contact : 1, 3, 6, 24 h et 2, 3, 5, 7 j. 3 mL prélevé à chaque pas de temps.	MIRESORB™ : 50% (q _t 2,5 h = 10 mg/g) 75% (q _e 10 h = 20 mg/g) GFH : 50% en 6,7 h, max 67% (q _t = 20 mg/g)	(Byambaa et al., 2021)
	Biochar brut (cendres de bois) + greffé Fe.	DNC-As synthétique As(V) : 50 mg/L HAsNa ₂ O ₄ ·7H ₂ O	pH = 6*/8,2-9,7	300 tr/min 25°C	Ratio solide/liquide : 100 (0,4 g/40 mL). Temps de contact : 1, 3, 8 et 24 h.	Biochar brut : 61% (q _t 24 h = 4,8 mg/g) Biochar-Fe : 90% (q _t 8 h = 4,8 mg/g)	(Calugaru et al., 2019)

* limite de pH autorisé par le MELCCFP.

Tableau 2.7

Synthèse des cinétiques et isothermes de sorption des matériaux utilisés dans le traitement du DNC-As. (suite)

Tests lots	Matériaux	Drainage	pH initial/ final	Agitation / température	Design des essais	Sorption maximale	Référence
Isothermes de sorption	Biochar brut (cendres de bois) + greffé Fe.	DNC-As synthétique As(V) : 5–500 mg/L $\text{HAsNa}_2\text{O}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	pH = 6*/8,2–9,7	300 tr/min 25°C	Ratio solide/liquide : 100 (0,4 g/40 mL). Biochar brut ($R^2 = 0,14$, Langmuir). Biochar–Fe ($R^2 > 0,83$, Langmuir, Freundlich)	Biochar–Fe : 96,3% Chute à 30% [As] = 450 mg/L (q_e 24 h = 7,5 mg/g)	(Calugaru et al., 2019)
	Biochar brut (copeaux de bois) + greffé Fe.	DNC-As synthétique As(V) : 0,1–55 mg/L $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	pH = 5,8/–	– 20°C	Ratio solide/liquide : 500 (0,1 g/40 mL) Biochar–Fe ($R^2 > 0,81$, Langmuir, Freundlich).	Biochar brut : (q_e 50 h= ~0 mg/g) Biochar–Fe: (q_e 12 h=2 mg/g)	(Hu et al., 2015)
	Adsorbant MIRESORB™ boues de géotube + absorbant GFH (hydroxydes de Fe).	DNC-As synthétique As(V) : 50 mg/L $\text{HAsNa}_2\text{O}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	pH = 6*/6,6	20 tr/min –	Ratio solide/liquide : 500–20.000 (0,0025–0,5 g/50 mL) MIRESORB™ + GFH ($R^2 > 0,91$, Langmuir, Freundlich).	MIRESORB™ : ($q_e = 50$ mg/g) GFH : $q_e = 29,07$ mg/g	(Byambaa et al., 2021)

* limite de pH autorisé par le MELCCFP.

L'optimisation repose sur un équilibre entre volume, taille des particules et vitesse d'agitation, à ajuster selon les objectifs du traitement. Enfin, pour assurer la reproductibilité des expériences, des lots sacrificiels devraient être prélevés à chaque période d'échantillonnage afin de maintenir un ratio liquide/solide constant et permettre une comparaison rigoureuse des performances de traitement (Tan et Hameed, 2017).

2.6.3.2 Cinétiques de sorption

Les modèles de cinétique de sorption permettent de prédire la quantité de soluté adsorbée ou désorbée par une phase solide ou liquide à un temps donné. La capacité de sorption q_t (mg/g), définie comme la quantité d'ions métalliques (mg) retenue par gramme de matériau, est calculée selon l'équation suivante :

$$q_t = (C_0 - C_t) * \frac{V}{m} \quad (2.5)$$

où C_0 et C_t (mg/L) sont respectivement les concentrations initiale et résiduelle du métal(oïde) en solution au temps t , V est le volume de solution (L), et m la masse de matériau (g).

La sorption en fonction du temps est généralement modélisée à l'aide d'équations cinétiques, certaines considérant l'adsorption comme l'étape limitante du processus, tandis que d'autres attribuent cette limitation à la diffusion (Largitte et Pasquier, 2016). Le modèle d'Elovich ne sera pas abordé ici, car il repose sur l'hypothèse d'une adsorption illimitée, ce qui le rend inadapté aux concentrations métalliques étudiées. Son utilisation n'est pertinente que pour des cinétiques loin de l'équilibre (Tan et Hameed, 2017).

Les modèles de chimisorption de pseudo-premier ordre (Lagergren, 1898 ; Febrianto et al., 2009) et de pseudo-second ordre (Blanchard et al., 1984 ; Febrianto et al., 2009) sont les plus couramment employés pour décrire la sorption des métaux(oïdes). Toutefois, ces modèles présentent des limites et des hypothèses simplificatrices qui ne permettent pas toujours une description précise des cinétiques, notamment pour des temps longs de contact ou dans des conditions expérimentales spécifiques (ex. influence de la concentration initiale du soluté, surface spécifique de l'adsorbant).

2.6.3.2.1 Modèle de pseudo-premier ordre

Le modèle de pseudo-premier ordre de Lagergren (1898) repose sur l'hypothèse que la vitesse de sorption est proportionnelle à la différence entre la capacité d'adsorption à l'équilibre (q_e) et la quantité de soluté adsorbée à l'instant t (q_t). Cependant, cette approximation ne reflète pas toujours fidèlement les mécanismes réels d'adsorption. De plus, le modèle ne tient pas compte de l'effet des interactions entre les molécules de soluté (Febrianto et al., 2009). Il est principalement utilisé pour décrire la sorption sur des surfaces non poreuses.

Malgré ses limites, le modèle de pseudo-premier ordre demeure un outil largement employé pour l'étude des cinétiques de sorption. La constante de vitesse de sorption (k_1) est définie par l'équation différentielle suivante :

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 (q_e - q_t) \quad (2.6)$$

L'intégration de cette équation conduit à l'expression suivante décrivant la quantité de soluté adsorbée en fonction du temps :

$$q = q_{\max} (1 - e^{-k_1 t}) \quad (2.7)$$

où e est la constante de Néper équivalente à $\sim 2,71828$.

2.6.3.2.2 Modèle de pseudo-second ordre

Le modèle de pseudo-second ordre, proposé par Blanchard et al. (1984), suppose que la vitesse de sorption est proportionnelle au carré de la quantité de soluté adsorbée. Toutefois, la cinétique dépend aussi de la quantité d'ions métalliques sorbés à l'équilibre et de leur concentration à la surface du sorbant (Ho et McKay, 2000). Ces auteurs suggèrent que l'étape limitante du processus repose sur une chimisorption, impliquant un partage ou un échange d'électrons entre le sorbant et le soluté. La capacité d'adsorption à l'équilibre (q_e), influencée par la concentration initiale en ions, la dose de sorbant et la nature des espèces en solution, apparaît comme le principal facteur contrôlant la cinétique. Le modèle de pseudo-second ordre est décrit par l'équation différentielle suivante :

$$\frac{dq}{dt} = k_2 (q_{\max} - q_t)^2 \quad (2.8)$$

L'intégration de cette équation donne l'expression de la quantité de soluté adsorbée en fonction du temps :

$$q_t = \frac{k_2 * q_{\max}^2 t}{1 + k_2 * q_{\max} * t} \quad (2.9)$$

2.6.3.3 Isothermes de sorption

L'isotherme de sorption décrit la relation entre la quantité de soluté adsorbée par unité de masse (ou de volume) de l'adsorbant et sa concentration en solution à l'équilibre. Ces modèles permettent de caractériser les performances des adsorbants et d'optimiser leur utilisation en traitement de l'eau. La nature du soluté, de l'adsorbant, ainsi que des paramètres comme la concentration initiale ou la température, influencent le comportement des isothermes. Les plus utilisés sont ceux de Langmuir et Freundlich.

2.6.3.3.1 Isotherme de Langmuir

L'isotherme de Langmuir ([Langmuir, 1918](#)) décrit une adsorption en monocouche sur des sites homogènes, sans interaction entre molécules adsorbées. Ce modèle suppose une saturation de l'adsorption, où la quantité adsorbée atteint un maximum ($q_{\max}$) à une concentration en équilibre donnée (C_e). Il repose sur les hypothèses suivantes : (1) adsorption homogène sur une monocouche, (2) occupation d'un seul site par molécule sans interaction intermoléculaire, (3) cinétique rapide assurant l'équilibre. L'équation associée est la suivante:

$$q_e = q_{\max} \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (2.10)$$

où q_e est la quantité adsorbée à l'équilibre (mg/g), $q_{\max}$ la capacité d'adsorption en monocouche (mg/g), K_L la constante d'affinité de l'adsorbat, et C_e la concentration résiduelle en solution. Une forte capacité d'adsorption (q_e élevé) et une faible constante K_L sont généralement souhaitables ([Kratochvil et Volesky, 1998](#)). Toutefois, ce modèle ne prend ni en compte les interactions intermoléculaires ni l'adsorption multicouche.

2.6.3.3.2 Isotherme de Freundlich

Le modèle de [Freundlich \(1906\)](#) décrit une adsorption sur surface hétérogène, sans saturation, où la quantité adsorbée augmente avec la concentration en équilibre. L'équation du modèle est :

$$q_e = K_F C_e \left(\frac{1}{n} \right) \quad (2.11)$$

où C_e est la concentration résiduelle en solution, q_e la quantité adsorbée (mg/g), K_L la constante de Freundlich liée à la capacité de sorption, et n un paramètre empirique représentant l'hétérogénéité de l'adsorbant. Une valeur de $n > 1$ indique une adsorption favorable avec des interactions coopératives entre sites, tandis qu'un $n < 1$ traduit une faible adsorption. Des valeurs $n > 10$ suggèrent des conditions expérimentales extrêmes ou des erreurs de mesure (Febrianto et al., 2009).

2.6.3.4 Efficacité de sorption

L'efficacité de sorption quantifie la performance d'un matériau à sorber un contaminant (ex. As) en solution. Elle est exprimée en pourcentage ou en unité de concentration, calculée en comparant les concentrations initiale et finale du contaminant après traitement :

$$\text{Efficacité (\%)} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} * 100 \quad (2.12)$$

où C_0 et C_e (mg/L) sont respectivement les concentrations initiale et résiduelle du contaminant.

La sorption de contaminants dépend du pH, du temps de contact et de la concentration initiale. Les matériaux modifiés thermiquement, comme le biochar greffé au fer, la biomasse bactérienne, les balles de riz ou les pneus usagés, présentent une efficacité supérieure à celle des biosorbants bruts (ex. bois, compost de champignon) pour l'As (III, V) (**Tableau 2.7, 2.8**). La détermination en laboratoire de la capacité de sorption et du temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est essentielle avant le déploiement de systèmes pilotes (Neculita et al., 2021). Toutefois, la stabilité de l'As sorbé doit également être évaluée, car elle dépend des conditions environnementales et physicochimiques.

2.6.4 Matériaux et stratégies de conception des biofiltres au DNC-As

Des approches innovantes, mais coûteuses, comme l'incorporation de matériaux composites ou l'activation de matériaux organiques par traitements thermiques ou chimiques, peuvent accroître la sélectivité des biofiltres pour l'As et d'autres contaminants métalliques (**Tableau 2.7, 2.8**). Plus économique, l'intégration de matériaux inorganiques riches en Fe (ex. boues de géotube) avec des matériaux organiques naturels (ex. tourbe) améliore significativement l'efficacité de traitement. Cette synergie (1) augmente les sites de sorption grâce à divers groupes fonctionnels

Tableau 2.8
Exemple de matériaux utilisés pour le traitement de l'As (III, V).

Matériaux	Concentration initiale en As	Capacité de sorption	Efficacité de sorption	pH	Commentaires	Référence
Compost de champignons	DNC-As synthétique As(V) : 0,07 mg/L As(III) : 150 mg/L	As(V) : 1,20 mg/g As(III) : 1,80 mg/g	As(V) : < 26% As(III) : 11–16%	6,70	Rapport C/N = 12. Teneur acides organiques : 40–80%. Efficacité similaire pH 3, 7, et 9. Diminution pH 5. À pH élevé (11), absorption As(III) 2,5 fois plus élevée qu'As(V).	(Dabrowska et al., 2021)
Tourbe et écorces +/- récentes > 5 ans	DNC-As synthétique As total : 0,50–1,00 mg/L	—	As total : 85–95%	6,00–8,00	Meilleure performance écorces de composition mixte vs. écorces de conifères jeunes. Bois de feuillus préférable dans un biofiltre. Temps de contact court diminue l'efficacité.	(Tassé et al., 2002)
6 matériaux sableux naturels	DNC-As synthétique As(III) : 0,50 mg/L	As(III) : 2,70 mg/g	As(III) : 17–89% Temps de contact : 8 h pour 2,50 g	7,00	Sable–Fe efficacité << sable naturel « Skye ». PO ₄ ³⁻ compétition avec As(III). Surface spécifique 0,50–7,00 m ² /g. Taille des pores : 4–15 nm. Porosité moyenne : 0,11–0,94.	(Khan et al., 2021)

Tableau 2.8
Exemple de matériaux utilisés pour le traitement de l'As (III, V). (suite)

Matériaux	Concentration initiale en As	Capacité de sorption	Efficacité de sorption	pH	Commentaires	Référence
Balle de riz naturelle	DNC-As synthétique As(V) : 90,0 µg/L	As(V) : 14,0 µg/g	As(V) : 25% avec 8,00 g/L d'adsorbant	6,70–9,50	Balle de riz–Fe > 95% avec 800 µg/L d'As(V).	(Agrafioti et al., 2014)
Biomasse bactérienne + Fe(III)	DNC-As synthétique As(V) : 1,00–5,00 g/L As(III) : 0,50–5,00 g/L	As(V) : 4,20 mg/g As(III) : 5,90 mg/g	As(V) : 83% (150 min) As(III) : 49% (30 min)	1,00–10,0 Optimum : 3,00 : As(V) 7,00 : As(III)	Biosorption biomasse brute : aucune différence d'enlèvement As(III, V) vs. biomasse–Fe(III) (1 g/L). Temps de contact long favorise l'enlèvement de l'As	(Aryal et al., 2010)
Pneu brut et PyrC350® modifié	DNC-As synthétique 0–10 mg/L NaAsO ₂	As(III) : 6,80 mg/g	Pneu brut 400% moins efficace vs. PyrC350® modifié	4,00–8,50 Optimum : 7,00	PyrC350® a conservé 99–92% de sa capacité de sorption durant 3 cycles (sorption/désorption, KNO ₃). Dès pH 6, sorption As(III) pneu brut diminue 1,20–0,40 mg/g. PyrC350® (10 min) sorbe en 6 fois moins de temps vs pneu brut (60 min)	(Mouzourakis et al., 2017)

(ex. phénoliques, carboxyliques) et (2) limite la lixiviation des substances humiques par complexation avec les cations métalliques (Gorb et Shukla, 2017). Par exemple, la combinaison tourbe-Fe forment des sorbants polyvalents capables de cibler à la fois des cations (ex. Cu, Zn, Cr) et des anions (ex. As) (Kasiulienė et al., 2019). Ces combinaisons améliorent l'efficacité du traitement et prolongent la durée de vie des matériaux en retardant la saturation des sites actifs.

Dans des tests en lots, la combinaison MO-Fe a permis un enlèvement de 90% d'As(V) en moins de 8 h, contre 61% en 24 h avec la MO seule (Calugaru et al., 2019). En colonne (pH : 6 ; As(V) : 1,00 mg/L, Eh : 218–398 mV), le mélange MO-Fe a traité efficacement le DNC-As pendant plus de 286 j (TRH = 1 h ; débit : 54,6 mL/h), avec un pH d'effluent conforme (6,0–9,5) et un relargage de Fe < 0,30 mg/L. Ces mélanges permettent ainsi de réduire le TRH et la taille du biofiltre, tout en optimisant la performance. Par ailleurs, l'efficacité de sorption dépend de paramètres tels que le pH, la température et la composition chimique de l'eau. L'ajustement du pH dans une plage légèrement acide (5,5–6,5) a notamment amélioré la fixation de l'As dans les systèmes tourbe-Fe, en augmentant la disponibilité des sites de sorption (Huang et al., 2021).

2.6.4.1 Matériaux organiques naturels : écorces de bois et tourbe

2.6.4.1.1 Les écorces de bois

Issues du broyage ou du découpage, les écorces varient selon l'essence, l'âge et les conditions environnementales. Constituées de cellulose, hémicellulose et lignine, elles forment une matrice poreuse propice à la sorption des métaux. Leur capacité de sorption dépend de leur composition chimique et de leur état de dégradation. Les feuillus, plus riches en composés phénoliques, présentent une meilleure affinité pour les métalloïdes que les conifères, dont la lignine hydrophobe limite les interactions (Tassé et al., 2002).

Tassé et al. (2002) ont montré que les écorces de feuillus étaient plus efficaces pour traiter un DNC-As (0,2–0,5 mg/L), grâce à la présence de groupes phénoliques et carboxyliques impliqués dans la complexation des métaux. L'oxydation des phénols en quinones accroît encore le nombre de sites réactifs (Rechberger et al., 2019). Les tanins, également présents, favorisent la fixation des métaux(oïdes) par liaisons covalentes et électrostatiques. Un mélange d'écorces maximise la performance, combinant la rétention hydrique et la porosité des conifères avec la

forte capacité adsorptive des feuillus. Des modifications chimiques ou thermiques peuvent encore améliorer leur efficacité en augmentant la disponibilité des groupes fonctionnels (Rechberger et al., 2019).

2.6.4.1.2 La tourbe

La tourbe est un dépôt biogénique formé par l'accumulation anaérobie de végétaux partiellement décomposés (mousses, sphaignes, carex). Elle se compose d'une fraction minérale et d'une fraction organique, incluant une biomasse vivante (bactéries, champignons) et nécromasse végétale (Rezanezhad et al., 2016). Ses propriétés physiques et chimiques varient selon l'âge, le régime hydrique et la profondeur, influençant sa porosité et son degré de minéralisation. L'origine botanique, le pH et l'humidité modulent la répartition des microorganismes (méthanogènes, dénitrifiants, BSR) et la disponibilité des nutriments (C, S, N). Selon sa teneur en fibres et son taux de décomposition, la tourbe est classée en trois types : fibrique (> 67% fibres), hémique (semi-fibreuse) et saprique (< 33% fibres), allant de la moins à la plus décomposée (Boelter et al., 1969 ; Huat et al., 2011).

Dotée d'une capacité de rétention d'eau élevée (jusqu'à 244%) (Rakotonimaro et al., 2019), la tourbe est un excellent biosorbant, naturel ou modifié (Gogoi et al., 2018). Ses biopolymères (ex. subérine, cutine, lignine) et substances humiques contiennent des groupes fonctionnels actifs (ex. carboxyles, phénols, thiols) capables de fixer préférentiellement les métaux (ex. Fe, Ni, Cu, Pb, Zn) par complexation de surface (Besold et al., 2019 ; Ben Ali et al., 2020). Si les échanges cationiques dominent (ex. NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Na^+) (Huat et al., 2011), les groupes thiols de la MO peuvent également lier l'As (Catrouillet et al., 2015, 2016). L'association tourbe-Fe agit comme sorbant polyvalent, ciblant à la fois cations et anions, l'As étant immobilisé de manière plus stable via des complexes tridentés où Fe joue un rôle de pont cationique (Kasiulienė et al., 2019 ; Catrouillet et al., 2016) (**Figure 2.7**).

Toutefois, son faible coefficient de conductivité hydraulique (10^0 – 10^{-2} m/s pour l'acrotelme et 10^{-5} – 10^{-8} m/s pour le catotelme) (Rosa et Larocque, 2008) et ses TRH élevés limitent son usage pour des biofiltres à flux horizontal (Heiderscheidt et al., 2020a,b). Des modifications chimiques sont parfois nécessaires pour réduire la lixiviation des substances humiques (Gogoi et al., 2018) notamment avant son application en traitement des eaux (Heiderscheidt et al., 2020b). Des expériences de sorption ont montré une meilleure fixation de l'As avec la tourbe en présence

de sulfures et à pH acide (4,5) (Besold et al., 2018), conditions typiques des tourbières. Cependant, les substances humiques en contact avec des matériaux initialement contaminés (ex. boues de géotube, résidus) peuvent aussi favoriser la désorption de l'As et influencer sa mobilisation dans l'environnement (Rakotonimaro et al., 2019, 2021).

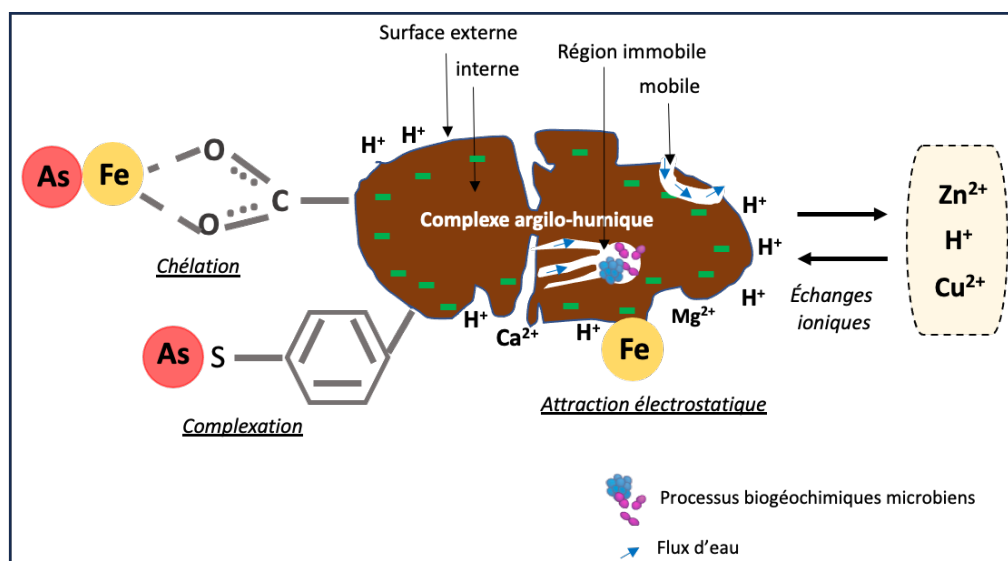


Figure 2.7

Exemple schématique des différents mécanismes physico-chimiques entre le complexe argilo-humique du sol tourbeux et les éléments métalliques(oïdes) de l'eau interstitielle et de la matrice poreuse.

2.6.4.2 Matériaux inorganiques résiduelles : la boue de géotube

Dans l'industrie minière, les géotubes sont couramment utilisés pour contenir et gérer les boues générées lors du traitement du DMA (SNC-Lavalin, 2019). Ces boues, générées en grandes quantités au cours des processus de traitement du DMA, sont pompées dans les géotubes, où elles subissent une filtration et un séchage avant d'être entreposées dans les parcs à résidus (PAR). Les propriétés physicochimiques des boues varient selon le type de minerai, la qualité de la filtration, la durée de stockage et la composition chimique. Elles contiennent généralement : (1) des métaux(oïdes) (ex. Fe, Al, Pb, Cu, Zn, As), majoritairement sous forme d'(oxy)hydroxydes métalliques amorphes (Mehdaoui et al., 2025a,b) ; (2) des résidus de réactifs chimiques (ex. cyanure, surfactants, agents de flottation) ; (3) des sels (ex. Cl^- , Na_2SO_4). Composées principalement de Fe et d'Al, ces boues présentent un fort potentiel de sorption pour l'As (Byambaa et al., 2021 ; Kawazoe et al., 2023).

2.6.5 Conception et considerations opérationnelles

Les biofiltres passifs se composent généralement d'un bassin perméable rempli d'un mélange de matériaux organiques biodégradables à faible coût (ex. copeaux de bois, tourbe, fumier) (**Figure 2.8**), surmonté si nécessaire d'une couche de gravier calcaire pour neutraliser l'acidification induite par la dégradation de la MO (Tassé et al., 2002 ; Skousen et al., 2017). Une épaisseur minimale de 80 cm peut être requise selon les concentrations en contaminants (SO_4^{2-} , métaux) afin de réduire l'oxygène dissous et favoriser les BSR en profondeur (Yim et al., 2015). L'efficacité du biofiltre dépend fortement de la structure du matériel de remplissage. Un compactage excessif diminue la perméabilité, favorisant les court-circuits hydrauliques et réduisant le TRH. L'ajout de matériaux grossiers (ex. gravier, sable, copeaux) permet de maintenir une porosité suffisante (Skouzen et al., 2017), mais le choix des matériaux doit prévenir le tassement. Par exemple, l'utilisation de sable de rivière comme support bactérien a augmenté la surface de biofilm, mais induit un tassement rapide ($\text{TRH} = 10 \pm 1 \text{ h}$) et une oxydation incomplète du Fe(II), avec des rendements d'enlèvement d'As très variables (3,0–97%) (Fernandez-Rojo et al., 2018). L'aération active et des supports de croissance à haute porosité ont été identifiés comme éléments critiques pour les futurs biofiltres de terrain.

Pour contourner ces limitations, Diaz-Vanegas et al. (2022) ont testé une configuration sans support bactérien, mais avec un filet d'eau mince (4 mm) et un injecteur d'air, optimisant l'oxydation du Fe(II) et influençant positivement la structuration microbienne. Une autre étude a comparé deux biofiltres passifs traitant un DMA-As enrichi en Fe(II) (1 g/L) et As(III) (100 mg/L) provenant d'une ancienne mine de Carnoulès (France) (Rötting et al., 2008). Le premier, constitué de supports plastiques à porosité élevée (96%), offrait une surface spécifique $> 160 \text{ m}^2/\text{m}^3$ et limitait le colmatage grâce à sa structure irrégulière. Le second, composé de 80% de pouzzolane et 20% de copeaux de pin (20–40 mm), présentait une surface spécifique plus importante ($333 \text{ m}^2/\text{m}^3$) mais une porosité plus faible (64%), influençant les performances globales du système.

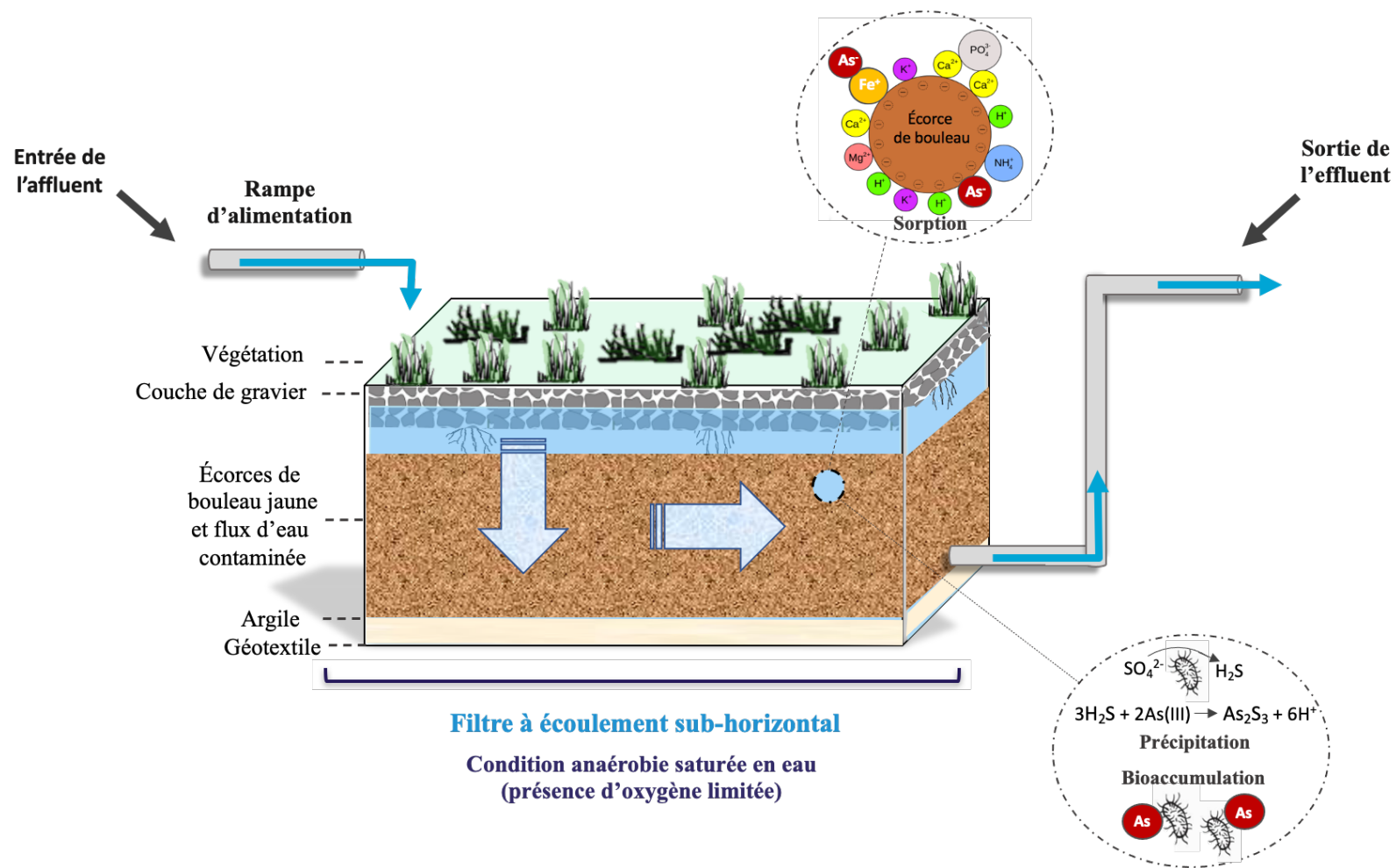


Figure 2.8
Représentation schématique du biofiltre passif de Wood-Cadillac.

Dans ces systèmes, l'infiltration du drainage minier à travers les matériaux de remplissage favorise la dégradation de la MO, fournissant une source d'électrons aux BSR impliqués dans le traitement (Neculita et al., 2007 ; Kujala et al., 2018). Les molécules de faible poids moléculaire (ex. éthanol, glucose) sont métabolisés plus rapidement par les BSR que les matériaux organiques complexes (ex. fumier, copeaux de bois, riz). Les BSR couplent l'oxydation de la MO à la réduction des sulfates (SO_4^{2-}), entraînant l'immobilisation par précipitation des sulfures métalliques insolubles et une augmentation du pH et de l'alcalinité du milieu (H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-}) (Neculita et al., 2008) :



où CH_2O représente une molécule de carbone organique à chaîne courte. Le H_2S formé précipite avec les métaux pour former des sulfures métalliques biogènes (MeS) :

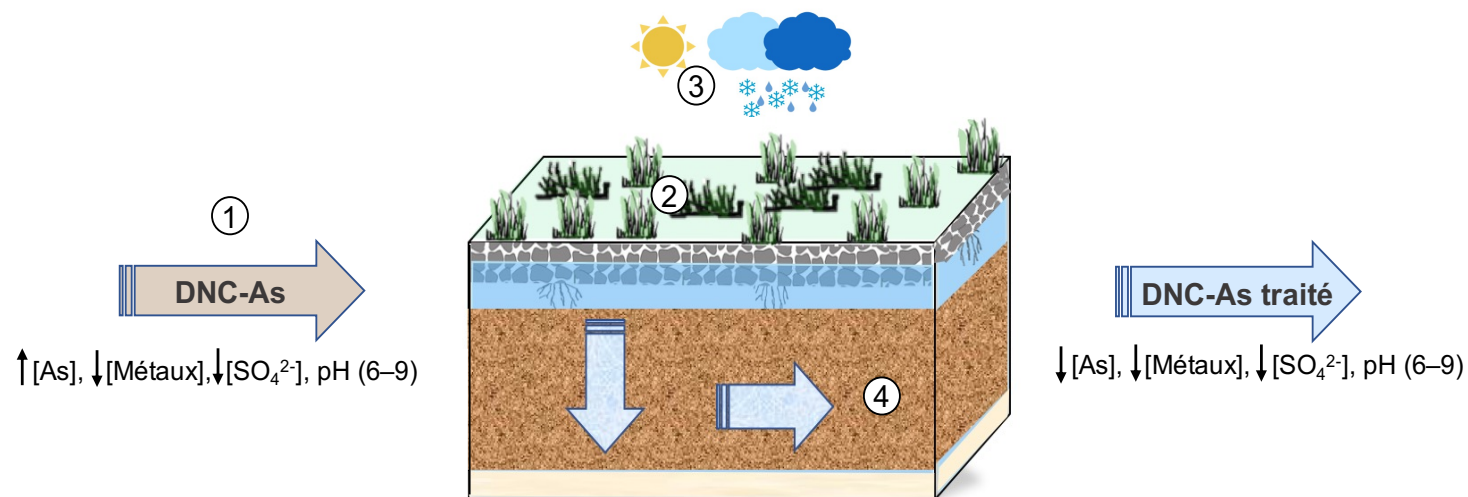


Cependant, dans le DNC-As, la faible teneur en sulfates et en métaux limite la sulfato-réduction et donc l'immobilisation des contaminants. En l'absence d'accepteurs métalliques, les sulfures (H_2S , HS^- , S^{2-}) peuvent s'accumuler dans l'effluent (Vasquez et al., 2018), augmentant sa toxicité. Ces composés sulfurés inhibent la respiration cellulaire des organismes aquatiques, perturbent les échanges gazeux et favorisent l'hypoxie par réduction de l'oxygène dissous (Liu et al., 2025).

2.6.6 Facteurs de performance

Un biofiltre doit être conçu pour fonctionner durablement sans maintenance majeure ni apport énergétique, durant de nombreuses années. Un exemple pertinent est celui d'une mine abandonnée en Irlande, où un système passif opère depuis plus de 120 ans, avec des rendements d'enlèvement de 95% pour le Zn et de 65% pour l'As (Gusek, 2002).

Cependant, la performance à long terme dépend de nombreux facteurs : tassement, fluctuations de débit, variabilité de la charge en contaminants, dégradation des matériaux et environnement (Neculita et al., 2021). Ces paramètres sont contrôlables en laboratoire (ex. type de drainage, charge hydraulique, température, pH, salinité, TRH, matériaux), mais leur maîtrise en conditions réelles reste complexe.



Facteurs d'influence

- ① Chimie et débit
- ② Conditions internes : TRH, pH, Eh, °C, CEC, CEA, pH_{PZC} , salinité, surface spécifique, matériaux, perméabilité
- ③ Conditions externes : saisonnalités, dégradation animaux

Mécanismes de traitement

- ④ Sorption : MO (ex. thiols), (oxy)hydroxydes (Fe, Al)
Précipitation : (oxy)hydroxydes (Fe, Al)
- ④ Sulfato-réduction et précipitation (ex. sulfures d'arsenic)
- ④ Biosorption microorganismes (ex. polymères extracellulaires)

Figure 2.9

Facteurs d'influence à prendre en compte dans la performance d'un biofiltre au DNC-As.

Idéalement, chaque biofiltre devrait être adapté au type de drainage ciblé. Parmi 100 drainages miniers étudiés, 21 présentaient des débits $< 50 \text{ m}^3/\text{j}$ et $48 < 500 \text{ m}^3/\text{j}$, avec des TRH variant de quelques jours à plusieurs semaines selon la charge en contaminants (Soda et Nguyen, 2023). La **Figure 2.9** présente les principaux facteurs internes et externes influençant les conditions opératoires d'un biofiltre traitant un DNC-As.

2.6.6.1 Variabilité du débit et influence climatique

Dans les climats froids comme au Canada, la variabilité du débit et de la qualité du drainage minier est fortement influencée par les variations saisonnières, elles-mêmes exacerbées par le changement climatique. Ces fluctuations posent des défis pour la gestion des résidus et entraînent des variations temporelles dans le flux des contaminants (Bondu et al., 2020). Au printemps, la fonte rapide des neiges ou des épisodes de pluie intense peuvent entraîner des hausses brutales de débit. Un bioréacteur anaérobie sous-dimensionné peut alors être submergé.

Cela réduit son efficacité et favorise la lixiviation des métaux, MO et microorganismes (Khan et al., 2019). Des observations similaires ont été faites en Laponie finlandaise dans des tourbières de polissage traitant du DNC-As. La dilution des effluents miniers par des eaux de fonte a été associée à un lessivage d'As, Sb, SO_4^{2-} et Ni initialement immobilisés (Palmer et al., 2015 ; Khan et al., 2019). Dans un biofiltre souterrain au Montana, le ruissellement printanier a mobilisé des précipités métalliques par « effet de rinçage », augmentant fortement la concentration des métaux dans l'effluent (Nordwick et al., 2006). Des observations similaires ont été faites dans un système passif à la mine Force Crag (Angleterre), où Zn, Cd, Fe et SO_4^{2-} étaient inversement corrélés au débit, tandis que Al, Pb et Cu l'étaient positivement, en lien avec la désorption de métaux fixés sur la ferrihydrite (Jarvis et al., 2023). La température module ces effets : l'oxydation abiotique augmente avec le débit et la température, alors que l'oxydation bactérienne diminue sous 10°C (Jarvis et al., 2023), bien qu'elle persiste près de 0°C (Kujala et al., 2024).

Au Cambodge (Mondulkiri), la saison des pluies entraîne une atténuation naturelle des concentrations en Fe, As, Ni, Se et Cu, les ramenant parfois sous les seuils de l'OMS pour l'eau potable (Tum et al., 2022). Cette diminution est attribuée à la dilution et à la précipitation de l'As avec le Fe dissous sous forme de schwertmannite. À l'inverse, en saison sèche, l'absence de dilution et la limitation des processus de précipitation maintiennent des concentrations

élevées de contaminants (Tum et al., 2022). Cette variabilité saisonnière est marquée pour l'As, dont la concentration fluctue (40–70 mg/L) pendant les périodes froides et pluvieuses, et peut doubler en périodes chaudes et venteuses (80–100 mg/L) (Diaz-Vanegas et al., 2022). Le Fe suit une tendance similaire, avec des pics corrélés aux périodes de sécheresse, soulignant l'influence des conditions hydrologiques sur la mobilité des contaminants (Diaz-Vanegas et al., 2022).

La topographie influence aussi la performance des systèmes passifs. En vallée, les précipitations intenses compliquent leur mise en œuvre (Diaz-Vanegas et al., 2022). À l'inverse, le biofiltre de Wood-Cadillac a été stabilisé par une couche de gravier géochimiquement inerte lui permettant, en partie, de s'adapter aux variations de débit (Germain et Cyr, 2003). Enfin, un surdimensionnement du biofiltre peut s'avérer problématique. Une baisse prolongée du débit peut exposer les matériaux à l'air, induisant l'oxydation des sulfures métalliques et la relibération de métaux(oïdes), notamment sous forme de sulfates solubles, compromettant leur immobilisation à long terme.

2.6.6.2 Effets du gel/dégel sur la rétention des contaminants

Les cycles de gel/dégel influencent fortement la performance des biofiltres en climat froid. Ils favorisent la mobilité des contaminants et, à basse température, stabilisent des sels soufrés métastables (thiosulfates, trithionates, tétrathionates) en limitant leur oxydation (Wainwright, 1984). Cette stabilisation, en accord avec la loi d'Arrhenius, qui relie la température à la vitesse des réactions chimiques, ralentit les réactions chimiques comme l'oxydation des sulfures (Elberling, 2005). En été, ces thiosels peuvent se retransformer, générant une acidité retardée, comme à la mine de Dananhu (Xinjiang, Chine), avec des concentrations en sels dissous ont atteint 22 225 mg/L (Feng et al., 2014).

À l'automne, la congélation de surface réduit l'infiltration et favorise la migration de l'eau vers des couches plus profondes, souvent plus réductrices (Heiderscheidt et al., 2020a), ce qui peut remobiliser les contaminants précédemment piégés en surface. En hiver, l'infiltration est fortement restreinte, entraînant l'accumulation des contaminants dans la matrice gelée. Lors du dégel printanier, la fonte rapide des neiges génère une charge hydraulique élevée qui peut provoquer un relargage brutal des contaminants accumulés (Palmer et al., 2015 ; Khan et al., 2019). De plus, les cycles répétés de gel/dégel : (1) accentuent la formation de chemins préférentiels d'écoulement réduisant le TRH (Heiderscheidt et al., 2020a) ;

(2) modifient la spéciation et la solubilité des contaminants (Fe, Zn, As, SO_4^{2-}) augmentant leur mobilité (Kujala et al., 2022). Par exemple, la formation d'As méthylés, observée en début de congélation, peut accroître la mobilité de l'As (Kujala et al., 2022).

Le froid affecte aussi les processus microbiens (Kujala et al., 2024). Il réduit l'activité des microorganismes et modifie la structure des communautés impliquées dans la transformation et la précipitation des contaminants (Kujala et al., 2024). La glace limite l'apport d'oxygène, créant des zones redox hétérogènes. Toutefois, des zones non gelées en profondeur peuvent maintenir une activité redox résiduelle pendant l'hiver, limitant ainsi les relargages au printemps (Kujala et al., 2024). Enfin, la couverture neigeuse agit comme isolant thermique, limitant les échanges d'oxygène avec l'atmosphère et modifiant les conditions en surface du biofiltre. L'optimisation du design du système (porosité, profondeur, maintien de zones non gelées) est donc essentielle pour assurer une performance stable en conditions hivernales (Heiderscheidt et al., 2020a ; Kujala et al., 2024).

2.6.7 Temps de rétention hydraulique (TRH)

Pour assurer une performance de traitement optimale, il est essentiel de limiter les variations hydrauliques, en définissant un TRH réel moyen (Neculita et al., 2021). Le TRH, dérivé de la loi de Darcy, constitue l'un des principaux critères de conception :

$$Q = \frac{V_v}{\text{TRH}} = \frac{V_t \times n_{\text{eff}}}{\text{TRH}} \quad (2.15)$$

Où V_t : volume total du biofiltre (m^3), V_v : volume des vides (m^3), n_{eff} : porosité effective (vides interconnectés) et Q : débit moyen (m^3/s). Alors que Q est mesuré sur site, n_{eff} est estimé au stade de la conception (après sélection des matériaux) et le TRH est sélectionné, sur la base des résultats de performances comparatives entre les essais à petites échelles (laboratoire) et/ou pilotes (terrain) (Neculita et al., 2021). La composition, la porosité (0,15–0,35 pour la MO) et la conductivité du mélange doivent être caractérisées afin de calculer le volume total du réacteur (V_t) prenant compte de l'espace disponible.

L'efficacité est atteinte lorsque le TRH est égal ou supérieur à la durée minimale requise à l'établissement des processus physico-géochimiques permettant de respecter les normes environnementales (REMMMD, 2025 ; MELCCFP, 2025). Un influent fortement contaminé, comme un DMA, exigera un TRH plus élevé qu'un DNC, moins contaminé

(Ben Ali et al., 2020). Toutefois, définir un TRH optimal reste complexe, en raison des interactions entre les paramètres hydrauliques et les processus réactionnels.

2.6.7.1 Défis et contraintes dans l'obtention d'un TRH optimal

L'efficacité du traitement dépend en partie de la concentration en métaux(oïdes) et en sulfates dans l'effluent. Une faible teneur en sulfates peut limiter la précipitation des métaux(oïdes) sous forme de sulfures métalliques (Neculita et al., 2008 ; Ben Ali et al., 2020). Un TRH trop long pour un effluent peu contaminé peut favoriser l'accumulation de sulfures résiduels par excès de BSR, dégradant la qualité de l'effluent (Vasquez et al., 2018). À l'inverse, un TRH trop court ne permet pas une réduction suffisante des sulfates ni une précipitation efficace des métaux(oïdes) (Sato et al., 2025). Le **Tableau 2.9** recense les paramètres de traitement couramment utilisés pour le DNC/DNC-As dans les biofiltres passifs.

La précipitation des sulfures métalliques s'observe généralement après 3–5 j de TRH (URS, 2003 ; Ben Ali et al., 2020), bien que ce délai puisse être réduit selon le substrat organique (Sato et al., 2025). Un TRH plus long améliore la rétention des contaminants (ex. 7,3 vs 10 j pour le DMA ; 0,5 vs 1 j pour le DNC) (Neculita et al., 2008 ; Ben Ali et al., 2020). Dans des essais pilotes, des colonnes de 4,8 L (compost, tourbe-calcite, cendres de bois) ont montré une performance optimale avec un TRH = 16,5 h, permettant le traitement continu de plus de 400 L de DNC synthétique (4,05 mg Ni/L) sur 11 à 14 semaines (Richard et al., 2020). Ce TRH favorisait des conditions réductrices propices à la précipitation des sulfures métalliques tandis qu'un TRH = 1 j aurait perturbé les conditions anaérobies et altéré la structure microbienne (Vasquez et al., 2018). À Wood-Cadillac, le biofiltre (TRH ~25 h) traitant un DNC-As à faible teneur en sulfates semble reposer principalement sur des mécanismes de sorption plutôt que sur la précipitation par les BSR (Libero et al., 2007). Toutefois, une durée de fonctionnement prolongée (8–15 mois) est souvent associée à : (1) l'épuisement du substrat organique, entraînant une lixiviation accrue ; (2) la réduction de la porosité et de la conductivité hydraulique ; (3) une perte de perméabilité liée à l'accumulation de biomasse.

La défaillance la plus courante reste la perte de conductivité hydraulique, souvent due à un exutoire obstrué ou à l'emploi de matériaux trop fins comme la tourbe (Heiderscheidt et al., 2020b). À Wood-Cadillac, après deux ans, un tassement de 6–10% a été observé, entraînant la formation de chemins préférentiels et une baisse du TRH

(débit réduit à 5–7 L/j) ([Germain et Cyr, 2003](#)). Dans l'étude de [Diaz-Vanegas et al. \(2022\)](#), deux biofiltres pilotes (1 m³) ont été alimentés en DMA (Fe(II) : 1 g/L ; As(III) : 100 mg/L) de 2019 à 2020. Le débit d'alimentation a été progressivement augmenté de 15 à 30 L/h, réduisant le TRH de 17,5 à 8,7 h pour le support plastique, et de 19,3 à 9,7 h pour le système bois/pouzzolane. Les rendements d'enlèvement observés variaient entre 30–60 % pour le Fe et 50–80 % pour l'As, suggérant qu'un TRH = ~9 h serait adapté à une mise à l'échelle. Le système a été influencé par des variations de débit et plusieurs incidents techniques, notamment le passage d'un générateur à une alimentation électrique fixe, des problèmes de pompe, et une interruption liée à la COVID-19. Une grille de 19 mm installée au fond des unités a permis de retenir le substrat bactérien et de limiter le colmatage du tuyau de sortie. Les réacteurs à diffusion d'air peuvent subir un colmatage des diffuseurs dû à l'accumulation de précipités métalliques ([Ben Ali et al., 2020](#) ; [Diaz-Vanegas et al., 2022](#)).

Pour optimiser le traitement et limiter les coûts, un apport en eau constant et une chimie stable sont à privilégier ([Dean et al., 2022](#)), bien que cela soit difficile (ex. précipitations enrichies en contaminants) ([Jarvis et al., 2023](#)). Par ailleurs, l'évolution des stériles et résidus dans les sites abandonnés peut entraîner des changements dans la composition des eaux d'infiltration. À long terme, l'accumulation des contaminants peut diminuer l'efficacité du traitement et accroître les risques de relargage, notamment pour l'As ([Palmer et al., 2015](#) ; [Khan et al., 2019](#) ; [Rakotonimaro et al., 2021](#) ; [Mehdaoui et al., 2025a,b](#)). Des variations dans les conditions physico-chimiques interne du biofiltre pourraient remobiliser les contaminants (pH, Eh, sulfures). Un TRH optimisé doit donc assurer la rétention des métaux(oïdes) tout en préservant la porosité, la perméabilité et la conductivité hydraulique du biofiltre. La gestion de ces paramètres est essentielle au maintien des performances à long terme. Leur prise en compte dans la conception et le déploiement du système est indispensable pour en évaluer la faisabilité technico-économique à grande échelle.

Tableau 2.9

Exemples de biofiltres à l'échelle de laboratoire/pilote/terrain pour traiter le DNC/DNC-As en climat froid.

Site d'étude / Échelle	Drainage / pH	Système utilisé	Matériaux	As (µg/L)	TRH/ Débit	Durée	Autres contaminants	Référence
Québec, Canada	DNC-Ni synthétique	4 colonnes écoulement vertical ascendant	50% tourbe, 20% compost (feuilles), 20% cendres (bois), 10% sable	—	12 h (11 mL/min)	8 mois	• Fe ²⁺ (mg/L), EM = 40–99% • Ni ²⁺ (mg/L), EM = 5,0–99% • SO ₄ ²⁻ (mg/L), EM = –50+30% Salinité + froid + court TRH diminue activité BSR	(Ben Ali et al., 2020)
Petite échelle Laboratoire	Entrée : 5,10–8,20 Sortie : 6,50–8,20	(5 vs. 25°C), salinités (0–20 g CaCl ₂ /L)			1 j (5,6 mL/min)	0–3 mois 25°C 3–8 mois 5°C		
Oulu, Finlande			Tourbe naturelle (Nat-P)		15–30 mn		• (i) Ni (µg/L), EM = 9,0–80% • (i) Sb (µg/L), EM = 0,0–6,0% (ii) Nat-P	(Heiderscheidt et al., 2020b)
Deux systèmes (i) réacteur (mL) + (ii) biofiltre à flux horizontal (HFF) (L)	DNC-As synthétique	(i) réacteur agité continu + sédimentation	Tourbe modifiée HCl (M-P)	EM = 8,0–61%	Débit ajusté faible	HFF : 27 j	• Ni (µg/L), EM = 2,0–96% • Sb (µg/L), EM = –1,0+22% (ii) M-P	
Petite échelle Laboratoire	(i, ii) 8,00	(ii) biofiltre à flux horizontal, pente 15%	Nat-P vs. M-P (ii) sable quartz (515 cm ³) + Nat/M-P (480 cm ³) + sable quartz (270 cm ³)	(ii) Nat-P EM = 25–87% (ii) M-P EM = –16+35%	conductivité hydraulique (écoulement surface) 8,5 à 6,5 mL/min		• Ni (µg/L), EM = 87–98% • Sb (µg/L), EM = –4,0+57% Efficacité Nat-P >> M-P (As).	

Tableau 2.9

Exemples de biofiltres à l'échelle de laboratoire/pilote/terrain pour traiter le DNC/DNC-As en climat froid. (suite)

Site d'étude / Échelle	Drainage / pH	Système utilisé	Matériaux	As (µg/L)	TRH/ Débit	Durée	Autres contaminants	Référence
Tourbière cycles de gel/dégel	DNC-As réel Surface : 7,00	Deux essais pilotes (duplicata) 50x38x30 cm	Tourbe	n°1 EM = 56–91%	43–84 j (sans gel) 14 j (gel)	12 semaines	• Sb (µg/L), EM = 58–64% • SO ₄ ²⁻ (mg/L), EM = 12–22%	(Heiderscheidt et al., 2020a)
Petite échelle Laboratoire	20 cm de profondeur 5,50	m (0,005 cm ³)		n°2 EM = 84–96%	Débit d'entrée 1,5–2,0 L (sans gel) 1,7 L (gel)			
Site minier abandonné d'Agnes Adit, Petrová, Slovaquie	DNC-As réel Entrée : 5,80–7,90 Sortie : 5,80–8,00	2 filtres en série	Filtre n°1 : stockage contaminants spontanément précipités Filtre n°2 : 150 kg Fe	n°2 EM = 89%	2,2 h dans chaque réacteur Débit de sortie 360 L/h	2,3 années	• Sb (µg/L), EM = 86% • Fe (mg/L), EM = –21% • SO ₄ ²⁻ (mg/L), EM = 2,0%	(Sekula et al., 2018)
Pilote de terrain	DNC-As réel							
Traitement par polissage d'une mine d'or, Laponie, Finlande	Surface : 7,50 80 cm profondeur : 5,50	1 tourbière naturelle	Tourbe	EM = 96%	7–42 j CS : 7 mm/j	2010 à 2017	• Sb (µg/L), EM = 74% • SO ₄ ²⁻ (mg/L), EM = 4,0%	(Heiderscheidt et al., 2020b)
Terrain								

EM : efficacité moyenne, CS : charge de surface

Tableau 2.9
Exemples de biofiltres à l'échelle de laboratoire/pilote/terrain pour traiter le DNC/DNC-As en climat froid. (suite)

Site d'étude / Échelle	Drainage / pH	Système utilisé	Matériaux	As (µg/L)	TRH/ Débit	Durée	Autres contaminants	Référence
Traitement par polissage d'une mine d'or, Laponie, Finlande	Eau prétraitée de procédé et de drainage minier	2 tourbières naturelles (1200 m et 550 m)	Tourbe	EM = -309%	CS : 7 mm/j	2013 à 2016	• Sb (µg/L), EM = -232% • Ni (µg/L), EM = 90% • SO ₄ ²⁻ (mg/L), EM = 33%	(Khan et al., 2019)
Terrain	6,00–7,50							
Traitement par polissage d'une mine d'or, Laponie Finlandaise	DNC-As réel 5,00–6,00	1 tourbière naturelle (44 ha)	Tourbe	EM = 71–95% As >> années As << profondeur	7–42 j CH : 2713 m ³ /j CS : 0,34–0,5 9 mm/h (7 mm/j)	2008 à 2013	• Sb (µg/L), EM = 0,6–88% • Fe (mg/L), EM = -73–41% • SO ₄ ²⁻ (mg/L), EM = -6,0%	(Palmer et al., 2015)
Terrain								
Site minier abandonné de Wood-Cadillac, Québec, Canada	DNC-As réel Entrée : 6,20 Sortie : 6,40	1 biofiltre	Écorces de bois	EM = 90–95%	25 h Débit sortie 7,3–5,0 L/h (2 ans)	2000 à 2004	• Fe (mg/L), EM = 74% • SO ₄ ²⁻ (mg/L), EM = -21%	(Libero, 2007)
Terrain								

EM : efficacité moyenne, CS : charge de surface

2.7 Approche technico-économique dans la mise en place d'un biofiltre

La mise en place d'un système passif de traitement, tel qu'un biofiltre, nécessite une planification intégrant sa conception, son transport, sa construction et le maintien de son efficacité dans le respect des normes réglementaires (**Figure 2.10**). Les coûts d'exploitation incluent l'énergie, l'entretien, les réparations, le remplacement des équipements et la main-d'œuvre. Ces coûts varient selon la technologie, la taille du système, la complexité opérationnelle, les contraintes réglementaires et la localisation du site ([Hengen et al., 2014](#)). Toutefois, des technologies à faible consommation énergétique, une gestion optimisée des déchets et de bonnes pratiques peuvent réduire ces dépenses. Une analyse détaillée des coûts de traitement de l'As est disponible dans [Calugaru \(2019\)](#).

Les systèmes passifs sont privilégiés pour les sites miniers abandonnés en raison de leur fonctionnement autonome et de leur faible maintenance. Leur durée de vie peut atteindre plusieurs décennies, mais des interventions périodiques (remplacement de conduites, faucardage) doivent être intégrées dans l'évaluation des coûts ([Nairn et al., 2020](#)). Les projections financières devraient également considérer les dommages aux ressources, une métrique d'analyse du cycle de vie (ACV) estimant la perte économique liée à l'extraction de ressources non renouvelables.

Selon [Hengen et al. \(2014\)](#), la réduction de moitié des distances de transport diminue considérablement l'impact des dommages aux ressources, le transport pouvant représenter jusqu'à 50% des impacts environnementaux d'une ACV. En région éloignée comme l'Abitibi-Témiscamingue, le coût du transport des matériaux devient un facteur déterminant. L'utilisation de matériaux locaux, abondants et peu transformés, constitue une stratégie efficace pour réduire les impacts économiques et environnementaux.

Enfin, le coût des réactifs peut devenir un facteur limitant. Par exemple, dans le cas du biochar greffé au fer, les réactifs représentent plus de 94% du coût total de fabrication ([Calugaru, 2019](#)). L'usage de matériaux alternatifs à faible coût comme la tourbe et les boues de géotube riches en fer apparaît ainsi plus viable économiquement. La récupération de métaux à haute valeur ajoutée pourrait également contribuer à compenser les coûts globaux du traitement.

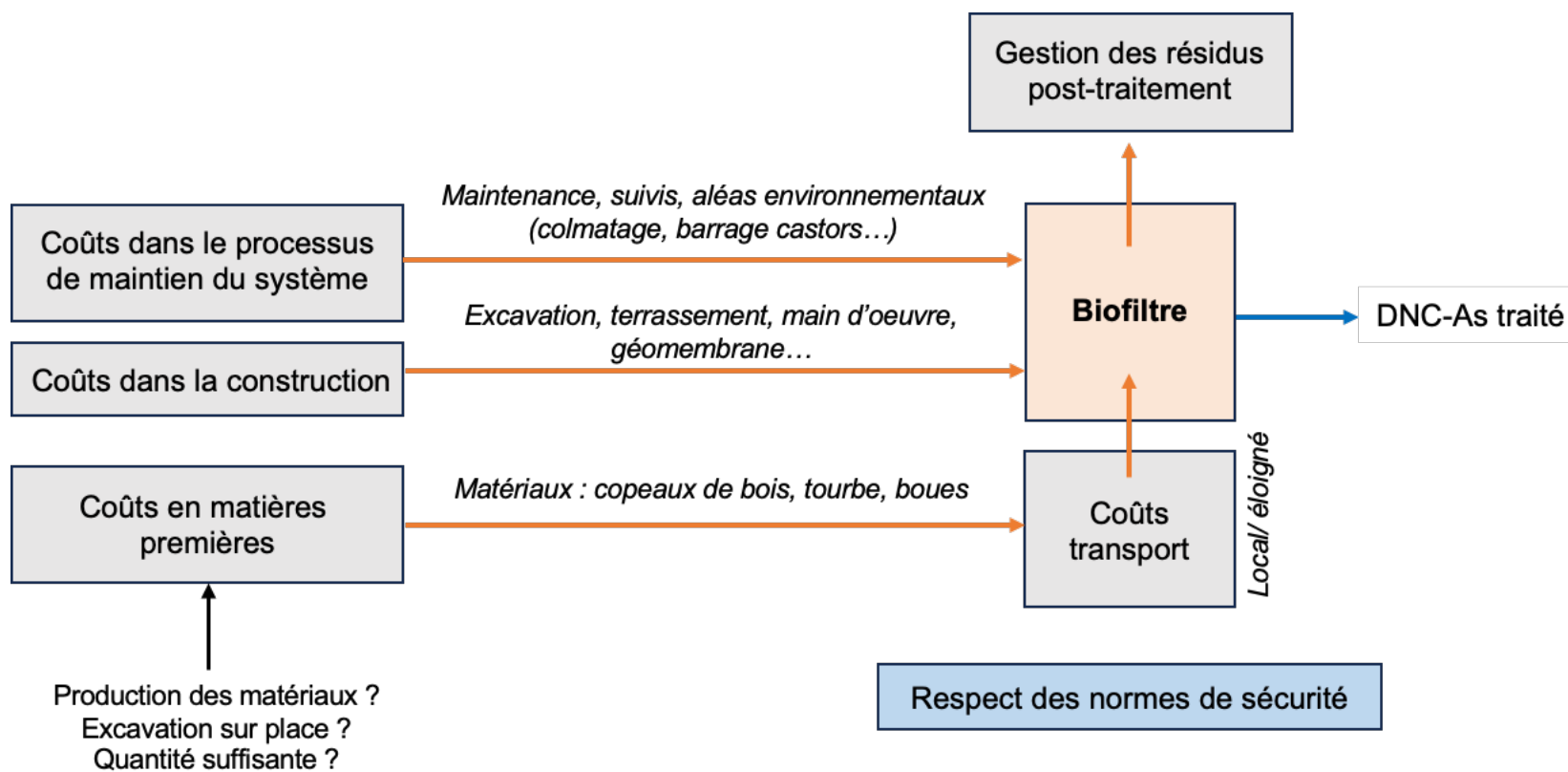


Figure 2.10
Schéma technico-économique de l'implantation d'un biofiltre au DNC-As.

Source : adapté de [Hengen et al., 2014](#).

3. DÉMARCHE MÉTHODOLOGIQUE ET SITES D'ÉTUDE

Ce chapitre décrit les deux sites d'étude de cette thèse : le site minier actif Dhilmar (anciennement Newmont) Éléonore et le site fermé et restauré de Wood-Cadillac. Il expose également le cadre méthodologique adopté, précisant comment les essais et caractérisations réalisés répondent aux objectifs spécifiques.

3.1 *Démarche méthodologique globale de la thèse*

Cette section présente l'approche méthodologique adoptée pour répondre aux objectifs de la thèse. La **Figure 3.1** offre une vue d'ensemble du projet doctoral et illustre l'articulation des différents volets méthodologiques, qui seront détaillés dans les sections suivantes. Elle précise les stratégies d'échantillonnage, les analyses réalisées ainsi que les méthodes de traitement des données, en tenant compte des spécificités des deux sites étudiés. L'enchaînement des étapes expérimentales est structuré de manière à assurer une lecture cohérente du cadre méthodologique. Ce travail s'inscrit dans une collaboration avec la thèse de Hsan Youssef Mehdaoui, consacrée à la caractérisation des résidus miniers post-traitement. Ensemble, ces recherches offrent une approche intégrée et complémentaire dans l'évaluation de la performance des biofiltres en climat froid.

La **Figure 3.2** propose une approche intégrative, illustrant la mise en œuvre progressive des objectifs spécifiques présentés en introduction. Dans le cadre de la conception d'un biofiltre adapté au traitement du DNC-As, les expérimentations sont menées à plusieurs échelles : (1) à petite échelle sans écoulement (lots, cm^3), (2) à moyenne échelle avec écoulement (bac rectangulaire, dm^3), et (3) à grande échelle sur le terrain (pilote, m^3). Les résultats obtenus seront confrontés aux résultats du biofiltre de Wood-Cadillac ($> 10^3 \text{ m}^3$) afin de proposer de nouveaux critères de conception.

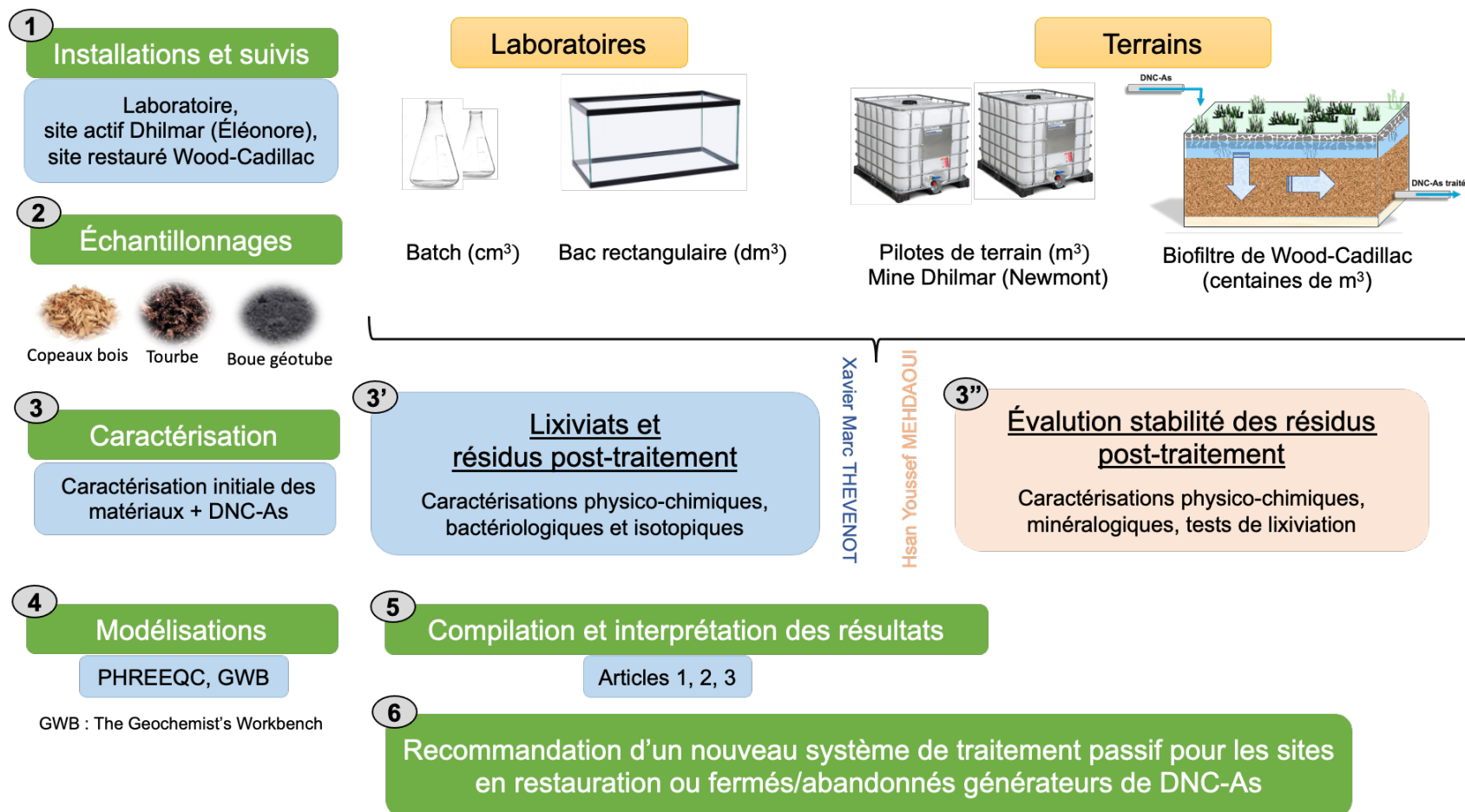
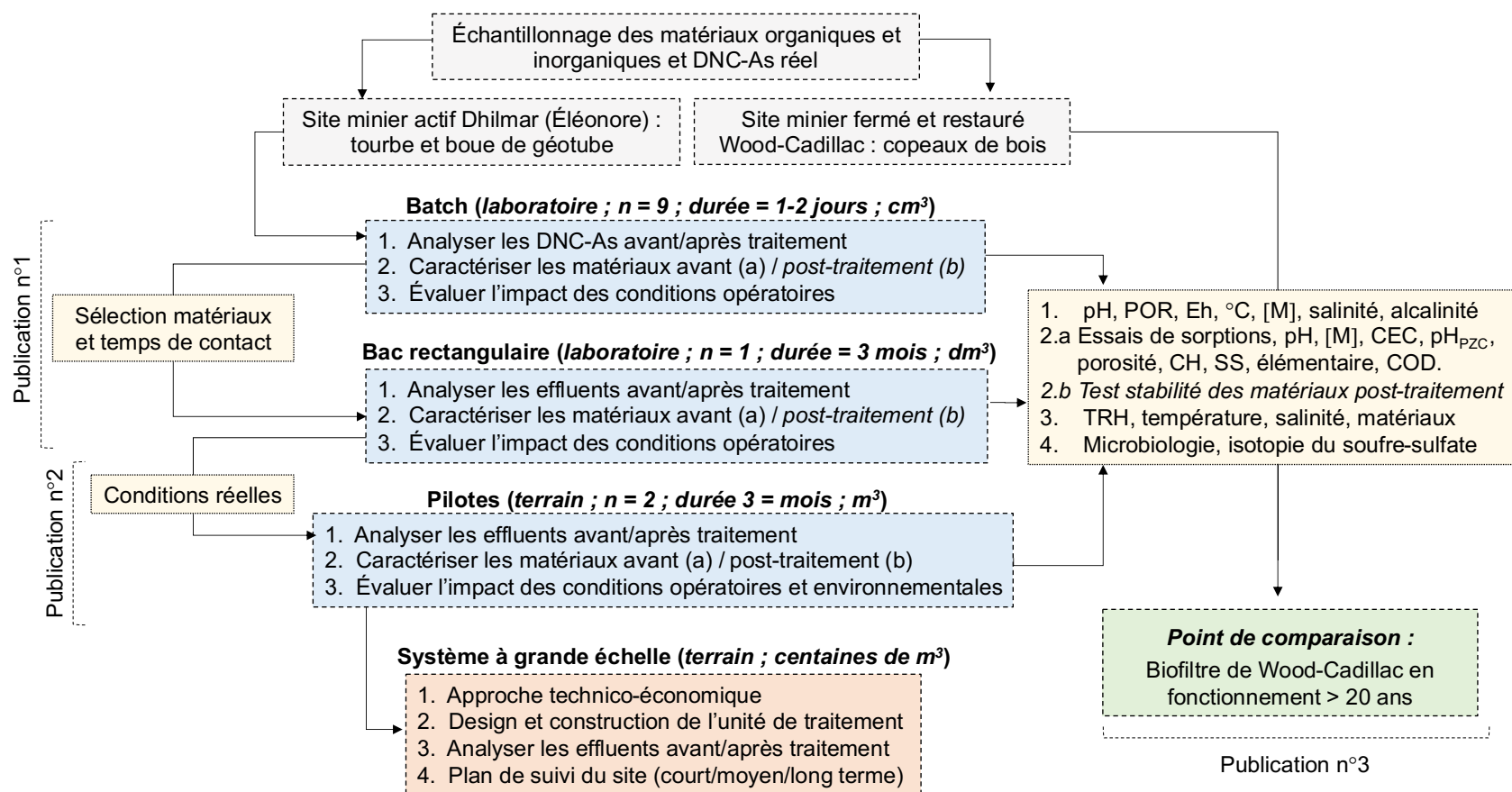


Figure 3.1
Représentation schématique de la démarche méthodologique globale de la thèse.



CH: conductivité hydraulique, SS: surface spécifique, COD: carbone organique dissous, [M] : métaux(oïdes)

Figure 3.2
Démarche méthodologique et principaux paramètres analysés dans l'élaboration d'un biofiltre au DNC-As.

Les premiers essais ont été réalisés avec un DNC-As synthétique, avant de passer à un effluent réel. S'appuyant sur les performances démontrées du biofiltre de Wood-Cadillac après 25 ans de fonctionnement, des matériaux organiques naturels (tourbe) et des résidus inorganiques riches en fer (boues de géotube) ont été collectés sur le site minier actif de Dhilmar Éléonore, générateur de DNC-As, en vue d'une restauration future. L'implication potentielle des communautés microbiennes dans les cycles du Fe, S et As a été examinée dans les matériaux initiaux et post-traitement des biofiltres de laboratoire et de terrain, ainsi que dans le système de Wood-Cadillac, à des fins comparatives. Enfin, l'analyse isotopique des sulfates ($\delta^{34}S_{SO_4^{2-}}$) a permis de différencier les processus géochimiques et microbiens impliqués dans l'immobilisation de l'As.

3.2 Sites d'étude

3.2.1 Site actif Dhilmar Éléonore

Le site minier Dhilmar, situé dans la région de la Baie-James au Québec (52°42'16.49'' N, 76°4'15.82'' W) (**Figure 3.3**), constitue l'une des principales exploitations aurifères de la province. Le complexe comprend une mine souterraine, un parc à résidus et stériles (PAR-S) accueillant les boues issues des géotubes, des bassins de collecte des eaux de ruissellement, ainsi que des zones d'entreposage de mort-terrain, tourbe, till et argile. Environ 8,0% des résidus miniers sont constitués de concentrés sulfurés de flottation, tandis que les 92% restants sont désulfurés et non acidogènes. Toutefois, la présence de minéraux arsénifères tels que la pyrite arsénifère et la löllingite suscite des préoccupations environnementales liées à la génération potentielle de DNC-As à long terme. Depuis l'intégration d'un traitement biologique à l'unité de traitement des eaux industrielles (UTEI), la production de boues organiques a fortement augmenté. Selon [SNC-Lavalin \(2019\)](#), depuis février 2018, toutes les boues (contenant métaux, As et MO issue de la dégradation microbienne) sont regroupées dans un seul géotube. Trois types de boues sont produits par l'UTEI : (1) des boues décantées dans des bassins d'eau brute, draguées puis filtrées dans les géotubes ; (2) des boues mixtes de stade 1 (enlèvement des matières en suspension et des métaux(oïdes)) ; et (3) des boues de stade 2 (enlèvement de l'As et des bactéries décantées), transportées via des conduites souterraines vers les géotubes où elles sont déshydratées puis disposées dans le PAR-S.

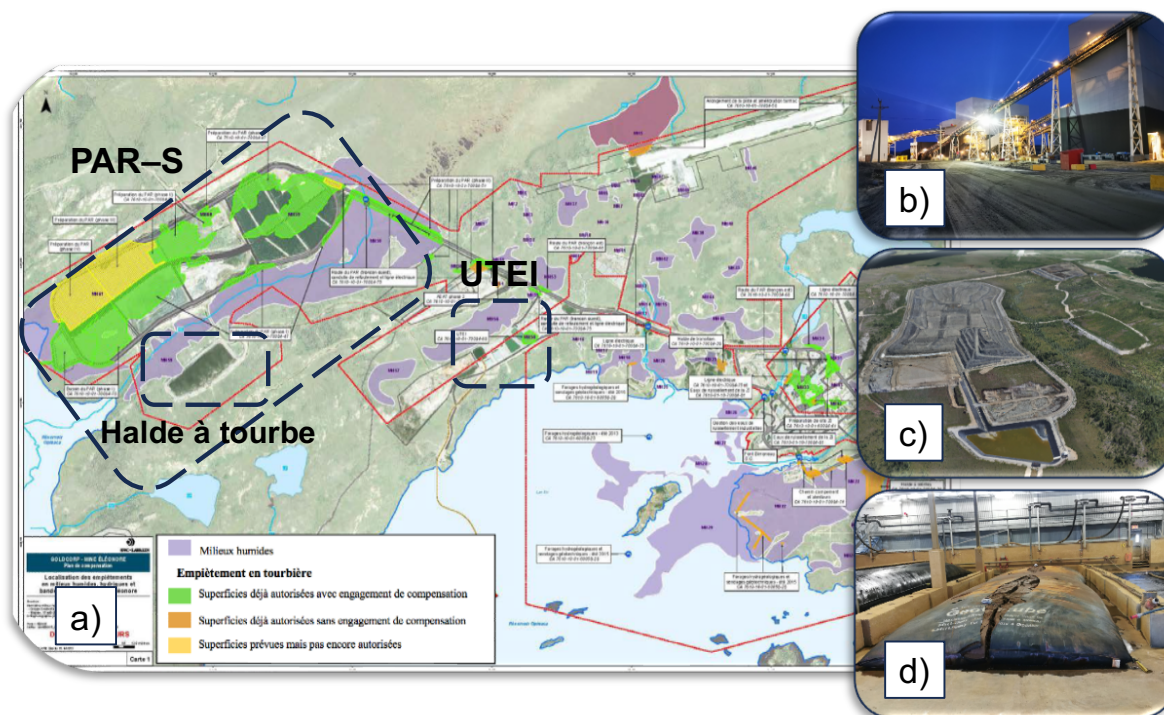


Figure 3.3

(a) Mine Dhuikar Éléonore et empiètement des zones humides photos du (b) site industriel, (c) PAR-S et halde à tourbe, et (d) géotubes à l'UTEI.

Source : adapté d'après [Limoges, 2019](#).

Nécessitant une surface d'entreposage croissante, les boues issues des géotubes représentent un matériau potentiellement valorisable. Leur CEC (46 méq/100 g), pH_{PZC} élevé (8,26) et surface spécifique (23,7 m²/g) suggèrent une forte affinité pour la sorption des anions. Riches en fer, majoritairement sous forme d'(oxy)hydroxydes, elles présentent un fort potentiel d'immobilisation de l'As ([Rakotonimaro et al., 2017, 2019](#)). Toutefois, la présence d'As à des concentrations élevées dans les boues (2 378 mg/kg) pourrait limiter l'efficacité de traitement, nécessitant une évaluation approfondie avant intégration dans un système passif.

Le site est également marqué par la présence étendue de milieux humides, majoritairement des tourbières ombrotrophes (n = 54) (**Figure 3.3**). Ces tourbières, typiques des écosystèmes nordiques, sont dominées par des sphaignes et contiennent une couche de MO ~ 30 cm d'épaisseur ([Limoges, 2019](#)). Elles se développent sur des substrats peu perméables, alimentées principalement par les précipitations ([Huat et al., 2011](#)). Le climat tempéré à subarctique et les conditions hydriques saturées ralentissent la dégradation de la MO, conférant à la tourbe des

propriétés géotechniques distinctes de celles des sols inorganiques (Deboucha et al., 2008). Dans le cadre de la construction du PAR-S, environ 28 ha de tourbières ont été excavés et stockés dans une halde dédiée (Limoges, 2019). L'expansion continue des activités minières entraînera la destruction inévitable de nouvelles tourbières, renforçant l'intérêt pour leur valorisation comme ressource stratégique dans une perspective de réhabilitation par traitement passif.

3.2.2 Site Wood-Cadillac abandonné et restauré

Le site minier Wood-Cadillac, situé à l'est de Cadillac dans le nord-ouest du Québec (48°14'0.664'' N, 78°20'17.627'' O), a produit entre 1939 et 1942 plus de 350 000 t de résidus aurifères (~3 600 mg As/kg), couvrant une superficie de 21 ha sur une épaisseur moyenne de 3 m (**Figure 3.4**). L'oxydation prolongée de ces résidus a conduit à la formation d'un DNC-As, contribuant à la dispersion de l'As le long du ruisseau Pandora (Tassé et al., 2002).

Pour limiter cette contamination, une couverture perméable de 50 cm (mélange de terre végétale et de résidus ligneux) a été installée sur les berges afin de stabiliser les conditions redox et de réduire l'érosion (**Figure 3.4b**). En 2000, un biofiltre passif de 50 m × 57 m × 1 m, composé exclusivement de copeaux de bouleau jaune, a été aménagé à l'exutoire du ruisseau Pandora (**Figure 3.4d**). Ce système, avec un TRH = 25 h, assure une diminution de l'As allant jusqu'à 95%, maintenant des concentrations inférieures à 0,10 mg As/L, conformes aux normes fédérales (REMMMD, 2025) et aux directives provinciales (MELCCFP, 2025).

Une tranchée d'alimentation a été aménagée en amont pour réguler le débit et la hauteur d'eau, assurant une répartition homogène du flux dans le biofiltre et évitant les surcharges hydrauliques. Par ailleurs, un déversoir d'orage (**Figure 3.4d,h**) permet l'évacuation de l'excès d'eau lors d'épisodes pluvieux ou de crues printanières, limitant le risque de débordement et de remobilisation des contaminants. Un suivi régulier demeure essentiel pour garantir la pérennité du traitement.

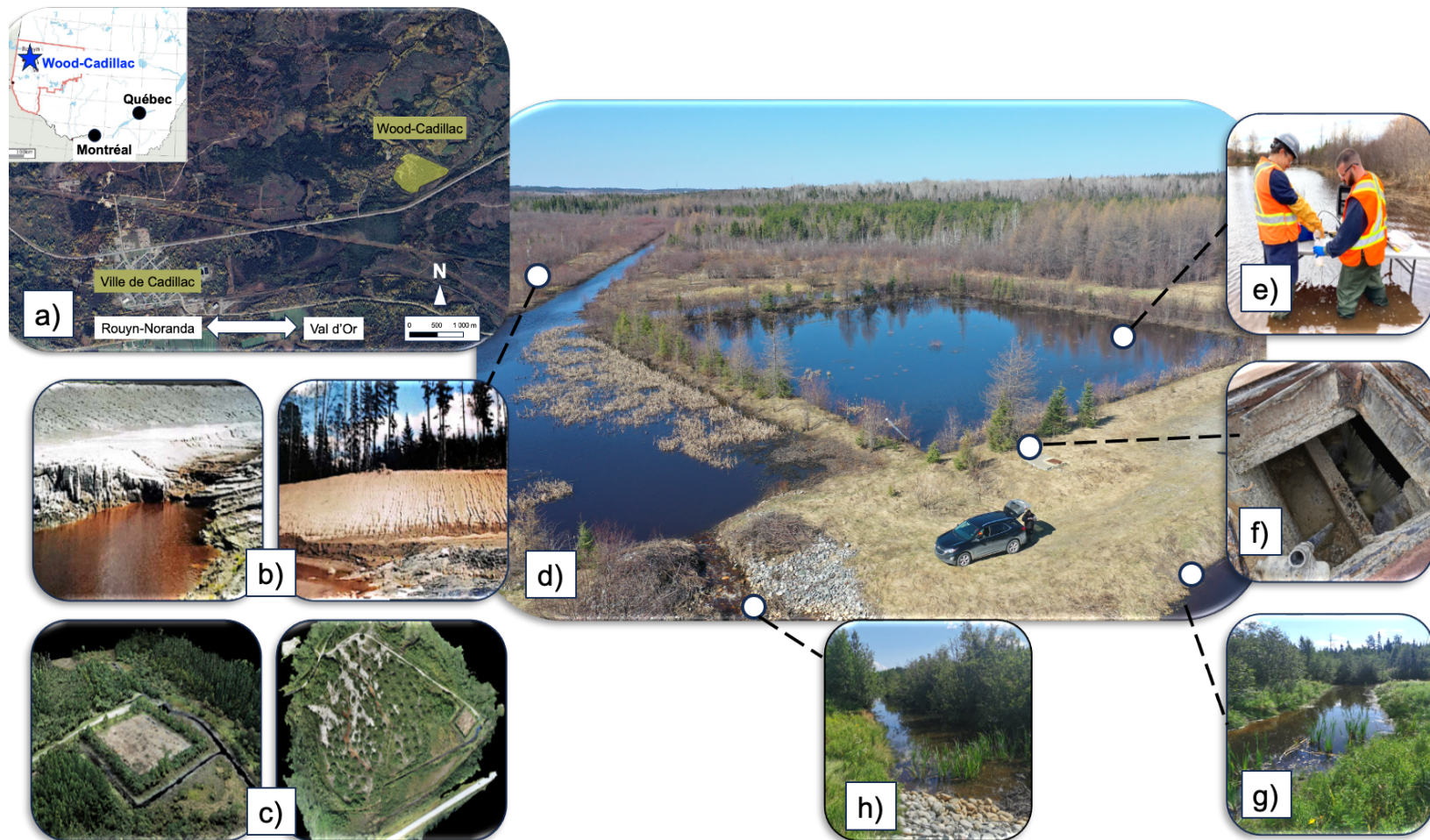


Figure 3.4

(a) Localisation du site minier Wood-Cadillac (b) abandonné et (c) restauré. Photos du (d) biofiltre de Wood-Cadillac comprenant (e) l'échantillonnage, (f) le regard de collecte, (g) le ruisseau récepteur, (h) l'aval du déversoir d'orage.

4. ARTICLE 1

EFFECT OF TEMPERATURE AND MIXTURE COMPOSITION ON ARSENIC REMOVAL FROM NEUTRAL MINE DRAINAGE IN PASSIVE BIOFILTERS USING IRON-RICH SLUDGE AND PEAT¹

Xavier Marc Thevenot¹, Tomy Roy¹, Eva Pakostova^{2,3,4}, Eric Rosa^{1,5}, Lucie Coudert¹, Carmen Mihaela Neculita^{1,*}

¹Research Institute on Mines and the Environment (RIME), University of Québec in Abitibi-Témiscamingue (UQAT), Rouyn-Noranda, QC, Canada, J9X 5E4

²MIRARCO Mining Innovation, Sudbury, ON, Canada, P3E 2C6

³Goodman School of Mines, Sudbury, ON, Canada, P3E 2C6

⁴Department of Earth and Environmental Sciences, University of Waterloo, Waterloo, ON, Canada, N2L 3G1

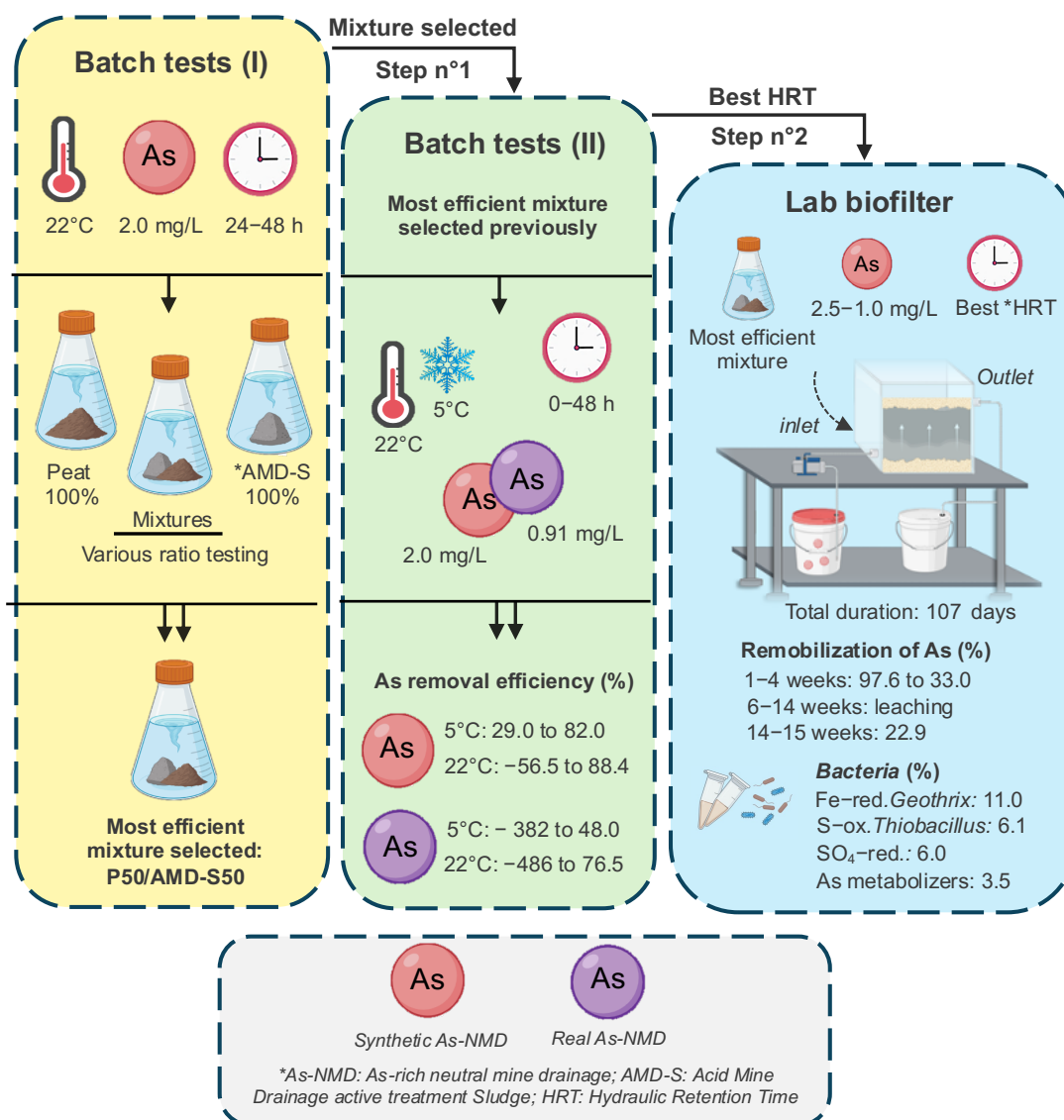
⁵Groundwater Research Group, UQAT, Amos, QC, Canada, J9T 2L8

*Corresponding author: Carmen Mihaela Neculita

Cet article est publié dans le numéro spécial *Advancements in Passive Treatment of Mining-Impacted Waters* de la revue *Ecological Engineering*.

¹Thevenot, X.M., Roy, T., Pakostova, E., Rosa, E., Coudert, L., Neculita, CM., 2025. Effect of temperature and mixture composition on arsenic removal from neutral mine drainage using iron-rich sludge and peat. *Ecol. Eng.* 219, 107697.

4.1 Graphical Abstract



4.2 Highlights

- Peat and Fe-rich sludge mixtures were tested for As removal from neutral mine drainage
- Higher As removal occurred at 22°C relative to 5°C
- Mixtures with a peat content higher than 50% showed limited As retention
- A lab-scale biofilter showed variable As removal efficiency during 107 days of testing
- 11.0% Fe-red., 6.1% S-ox., 6.0% SO₄-red., 3.5% As-metabolizers in biofilter

4.3 Abstract

In passive biofilters, sorption is the main mechanism of As removal from As-rich neutral mine drainage (As-NMD), but biochemical processes contributing to their performance must better be documented. This study aims at evaluating the suitability of two locally available materials (peat and Fe-rich acid mine drainage treatment sludge (AMD-S)) for As-NMD treatment at an operating gold mine located in northern Québec, Canada. The efficiency of different mixtures of peat and AMD-S was first evaluated. Batch tests were conducted at 22 and 5°C using synthetic (pH 7.16; 2.0 mg/L As) and real (pH 7.63; 0.91 mg/L As) As-NMD. Results revealed that the P50/AMD-S50 mixture (50 wt% peat + 50 wt% AMD-S) was most efficient for As immobilization. Further tests with P50/AMD-S50 showed that As removal was higher for synthetic As-NMD (88% at 22°C, 82% at 5°C) than for real As-NMD (77% at 22°C, 48% at 5°C), which was ascribed to residual salinity. P50/AMD-S50 was then used in a lab-scale biofilter system operated in a continuous mode for 3 months (22°C; hydraulic retention time 1 day). A maximum As removal of 98% was obtained within the first week while As leaching occurred after 27 days. A mixture of aerobic and anaerobic bacteria was observed in the biofilter samples, including Fe-reducers (11% of total reads), S-oxidizers (6.1%), SO₄-reducers (6.0%), and As-metabolizing prokaryotes (3.5%). The remobilization of As from the sorbent must still be addressed to ensure long-term stability of contaminant treatment systems under real mine site conditions.

Keywords: As removal, microbial diversity, neutral mine drainage, passive biofilter, peat

4.4 Introduction

Arsenic-bearing minerals [i.e., arsenian pyrite ($\text{Fe}(\text{S},\text{As})_2$), löllingite (FeAs_2), and realgar (As_4S_4)] are commonly found in gold mine tailings and waste rock. While the oxidation of these minerals generates acidity, the presence of coexisting carbonates [i.e., calcite (CaCO_3), dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$)] and aluminosilicates buffers the pH, resulting in arsenic-rich neutral mine drainage (As-NMD). As-NMD is characterized by a neutral pH (6–9) and As concentrations exceeding legislation limits (0.3 mg/L is the limit according to Canada's Metal and Diamond Mining Effluent Regulations (MDMER)) ([Canadian Minister of Justice, 2024](#)). At neutral pH, dissolved arsenate (As(V)) forms the dominant As species in oxidized environments, primarily in the form of H_2AsO_4^- and HAsO_4^{2-} oxyanions, whereas arsenite (As(III)) is present under more reducing conditions, predominantly in a neutral form (H_3AsO_3^0) ([Nordstrom & Archer, 2003](#)). The oxidation of As(III) in the environment occurs over a wide pH range and is largely mediated by microbial catalysis, while slower oxidation kinetics are observed under abiotic conditions ([Kim & Nriagu, 2000](#)). Due to the greater mobility and toxicity of As(III), it is important to promote As(III) oxidation and limit As(V) reduction during As-NMD treatment.

Given the financial burden of mine closure for both mining companies (closed and rehabilitation planning) and governments (legacy mines), passive treatment systems offer a cost-effective approach for long-term management of mine water, including As-NMD ([Mehdaoui et al., 2025](#); [Thevenot et al., 2025](#)). Unlike active systems, which require external energy, chemicals, and ongoing maintenance, passive systems rely on natural processes for contaminant removal, aligning ecological engineering principles focused on sustainability. However, the biogeochemical processes affecting the performance of passive remediation systems still need to be further investigated and better described ([Kujala et al., 2020](#)). The passive treatment of As-NMD can be performed through natural peatlands ([Palmer et al., 2015](#); [Heiderscheidt et al., 2020a](#)) or artificial systems such as biofilters ([Tassé et al., 2002](#)), both aiming to promote microbially catalyzed As(III) oxidation followed by As(V) immobilization ([Kujala et al., 2020](#)). Biofilters have been demonstrated to be effective at various scale, from a few cm^3 ([Aguilar-Garrido et al., 2022](#); [Heiderscheidt et al., 2020b](#)) to several dm^3 ([Heiderscheidt et al., 2020b](#)), as well as in full-scale field systems of hundreds to thousands of m^3 ([Tassé et al., 2002](#); [Palmer et al., 2015](#); [Jacob et al., 2022](#)). However, As remobilization from

biofilters may occur due to changing pH, redox, temperature, and hydrological conditions, (Palmer et al., 2015; Khan et al., 2019; Jacob et al., 2022). Acidic pH, redox conditions, and hydrological conditions can destabilize As-bound minerals or organic matter retention easily mobilized. Fluctuations in water flow, particularly during snowmelt or heavy rainfall, can disrupt As retention, increasing the risk of leaching. Under anoxic conditions, sulfides sequester metals and metalloids, which can be oxidized to sulfates, releasing contaminants when exposed to oxidizing conditions (Palmer et al., 2015; Khan et al., 2019; Jacob et al., 2022). While low temperatures generally limit microbial As cycling and reduce As mobility (Kujala et al., 2024).

Sorption is the primary mechanism for As removal from As-NMD, as low concentrations of dissolved metals (i.e., Fe) and SO_4^{2-} limit precipitation, which typically requires higher contaminant levels. To reduce transportation costs, several low-cost permeable organic and inorganic materials that are available at the mine site in large quantities have been evaluated for As removal in previous studies, including peat (Gogoi et al., 2018; Aguilar-Garrido et al., 2022; Heiderscheidt et al., 2020b), wood chips and bark (Tassé et al., 2002), mushroom compost (Dabrowska et al., 2021), raw biochar (Calugaru et al., 2019), bacterial biomass (Aryal et al., 2010), rice husk (Agrafioti et al., 2014), sand (Khan et al., 2021), and used tires (Mouzourakis et al., 2017). However, materials mixed with Fe-rich biochar (Calugaru et al., 2019) or sludge from acid mine drainage (AMD) have been found to be more efficient than the above unmixed materials for As removal (Byambaa et al., 2021; Kawazoe et al., 2023). Also, the use of a reactive mixture of overburden peat and inorganic AMD active treatment sludge (AMD-S) from Geotubes® dewatering proved to be a low-cost approach for treating As contamination while integrating the principles of a circular economy (Rakotonimaro et al., 2017, 2019). Using a 5% amendment of AMD-S mixed with peat reduced the As concentration in leachates from Éléonore gold mine tailings (Québec, Canada) by 65–80% (Rakotonimaro et al., 2019). However, a low peat content (5%) demonstrated variable performance in promoting As mobility in tailings pore water (Rakotonimaro et al., 2019). Peat exhibits a poor settling capacity in water (Heiderscheidt et al., 2020b), which has so far limited its practical applications, especially in cold conditions.

In northern regions, biofilter designs adapted to cold temperatures can be used to treat non-frozen waters. Despite outdoors temperatures regularly dropping below 0°C, water running

through biofilters installed at sufficient depth can remain unfrozen, often with temperatures close to 5°C (Gogoi et al., 2018; Heiderscheidt et al. 2020a). Freezing may have an impact on the ability of biofilters to retain the sorbed metal(loid)s and can drastically alter flow paths and extend the hydraulic retention time (HRT) (Heiderscheidt et al., 2020a). A limited contact time between the sorbent and metal(loid) can impact the contaminant removal efficiency by affecting the kinetics of the removal mechanisms (i.e., adsorption, chemisorption, complexation, ion exchange), which can be decreased by low temperatures; this was previously reported for As, SO_4^{2-} , Cu, Ni, and Fe (Ben Ali et al., 2020; Heiderscheidt et al., 2020a). High salinity (PO_4^{3-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , HCO_3^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+) of mine water can originate from dewatering of deep mines that intersect with blasting, brines, seawater intrusion in coastal mines, sulfide oxidation, deicing agents, or chemical reagents. These sources increase ionic strength and compete with As for sorption sites on organic matter and mineral (oxy)hydroxides, reducing As immobilization (Ben Ali et al., 2020; Miller et al., 2022). Moreover, low temperatures and high salinity can limit microbial processes that contribute to As biogeochemical cycling and removal (Kujala et al., 2018; El Kilani et al., 2021), which are crucial in anoxic peatlands treating As-NMD (Kujala et al., 2020).

In mine closure or restauration context, biofilters provide a practical solution for controlling residual As discharges. Their capacity to mitigate contaminant load over extended periods, with minimal energy or chemical input, position them as components of sustainable remediation frameworks aiming to protect surface waters and restore ecosystem integrity downstream. Fitting in this context, the aim of the present study was to assess the suitability of locally available organic and inorganic underused materials for the treatment of As-NMD at an operating gold mine (Éléonore) in northern Québec, Canada.

4.5 *Materials and methods*

4.5.1 Mine site description

The Éléonore underground gold mine, in operation since 2011, is located in Eeyou Istchee / James Bay, in northern Québec, Canada (**Figure 4.1a, b**). The ore contains 2–5 wt% sulfur, predominantly in arsenopyrite (FeAsS), löllingite (FeAs_2), pyrrhotite (Fe_{1-x}S), and pyrite

(FeS₂) (Charland et al., 2018). After desulfurization (< 0.3 wt% S) and cyanide removal, tailings are filtered (~14 wt% water content) and deposited in the on-site waste storage facility (WSF).



Figure 0.1

(a) Location and (b) general view of the Éléonore mine site. Peat (c) and AMD-S (d) sampled on-site; (e) P50/AMD-S50 sorbent mixture (composed of 50 wt% peat and 50 wt% AMD-S).

Source : adapted from <https://www.google/maps> ; <https://lasentinelle.ca>.

These desulfurized tailings have been shown to generate As-NMD in previous studies (Rakotonimaro et al., 2019, 2021). The WSF is hydraulically connected to the industrial water treatment unit (IWTU), which handles various contaminated water sources, including underground mine drainage, surface runoff, AMD from the concentrator, and As-NMD from the WSF. Water treatment at the IWTU involves adding reagents like ferric sulfate (Fe₂(SO₄)₃), lime (CaO), caustic soda (NaOH), sulfuric acid (H₂SO₄), and potassium permanganate (KMnO₄) to precipitate metal(loid)s (e.g., As, Fe) and suspended solids. Nitrogen compounds are removed via a moving bed biofilm reactor (MBBR), and Geotube® filtration is used for final sludge dewatering removing up to 99% of suspended solids (Bhatia, 2023). The resulting sludge waste

(AMD-S) is periodically transported back to the WSF, approximately every two weeks. Downstream from the WSF, As concentrations in NMD averaged ~ 1.5 mg/L based on environmental monitoring from May 2021 to August 2022 ($n = 16$).

4.5.2 Sampling and storage of peat and AMD-S

Ombrotrophic peatlands such as those found at the Éléonore mine site are widespread in Eeyou Istchee. Further information on the geochemical composition of peat pore water and solid matrix, as well as the flow and mass transport in the peat porous matrix, can be found in the works of [Shotyk \(1988; 1992\)](#) and [Rezanezhad et al. \(2016\)](#). To indicate the material available as expected at the mine closure, peat was collected from both a reworked pile, previously excavated during the WSF construction, and from an adjacent natural peatland. The two types of peat were collected from 0 to ~ 50 cm depth in September 2022 (using a shovel; **Figure 4.1c**) and homogenized to form a composite sample containing 50% of each peat type.

Simultaneously, six quincunx-patterned openings were made in several Geotubes[®] in September 2022, and AMD-S sub-samples were extracted from different depths (bottom, middle, surface) at each opening (using a manual drill; **Figure 4.1d**) and mixed to obtain a representative AMD-S sample.

All materials were stored at 5°C in sealed containers (to limit exposure to atmospheric oxygen) and in the dark (to protect the materials from sunlight) until further utilization.

4.5.3 Physicochemical characterization of peat and AMD-S

Peat, AMD-S, and the P50/AMD-S50 mixture were characterized to evaluate their physical properties (paste pH, point of zero charge [pH_{PZC}], water content, specific surface area [SSA], specific gravity [G_s], bulk density, and fiber content) and chemical composition (element content, total organic carbon [TOC], total carbon [TC], total nitrogen [TN], and total sulfur [TS]). Prior to chemical composition analysis, samples were oven-dried (60°C) and pulverized using a Fritsch-pulverisette ($< 150 \mu\text{m}$). Additional characterization results for the same materials collected from the Éléonore mine site are reported in [Rakotonimaro et al. \(2019\)](#).

Paste pH was determined in triplicate by adding deionized water (18.2 M Ω) at a solid:liquid ratio of 1:10 and measuring the pH with a double junction Orion GD9156BNWP electrode

paired with a VWR SympHony SB90M5 multimeter (ASTM International, 2019). The point of zero charge (pH_{PZC}) was determined in duplicate in a series of ten 50 mL centrifuge tubes containing 0.5 g solid sample mixed with 40 mL 0.1 M NaNO_3 , with the initial pH (pH_i) of the solution being adjusted from 2 to 11 (using 0.1 M HNO_3 or 0.1 M NaOH). After 24 h of agitation at 200 rpm, the pH of the supernatant was measured (pH_f) and pH_{PZC} was determined by plotting the difference in pH ($\Delta\text{pH} = \text{pH}_f - \text{pH}_i$) against pH_i (Bakatula et al., 2018). The water content (wt%) was determined in triplicate by drying solid samples at 40°C for 48 h (ASTM International, 2014). The SSA (m^2/g) was measured in triplicate on dry samples using a Micromeritics Gimini III 2375 surface analyzer. Specific gravity (G_s) was measured in triplicate with a Micromeritics Accupyc 1330 helium gas pycnometer. Bulk density (g/cm^3) of peat and its fiber content were determined in triplicate to estimate the fiber class and decomposition degree (Boelter, 1969). Bulk density, which can be influenced by factors such as the degree of decomposition and the size of organic particles, was determined using the dry weight and volume of peat ($\rho = \text{dry mass}/\text{volume}$; ASTM International, 2018). Fibers are defined as fragments or pieces of plant tissue with > 0.1 mm diameter. The fiber content in peat was determined in 100 g samples by wet sieving. First, the peat was soaked in a dispersant solution (Calgon 5%) for 15–20 h, followed by sieving through five sieves (0.1 [140 mesh], 0.25 [60 mesh], 0.5 [35 mesh], 1 [18 mesh] and 2 mm [10 mesh]). The fiber fractions retained by each sieve were collected, dried, and weighed. Finally, the fraction weights were compared against the initial dry weight of the sample (Boelter, 1969; Rezanezhad et al., 2016). Saturated hydraulic conductivity (K_{sat}) was measured in duplicate (cm/s) with a rigid wall permeameter (ASTM International, 2024). Metallic element concentrations in both peat and AMD-S were determined using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES) after a microwave-assisted acid digestion using HNO_3 and HCl (USEPA, 2007). TOC, TC, and TN were determined in duplicate using an Elementar Vario El Cube Analyzer. The C/N ratio was determined as an additional peat chemical composition parameter (Kuhry & Vitt, 1996).

4.5.4 As(V) adsorption batch tests (150 cm^3)

Two series of tests (150 cm^3 each) were performed to evaluate the As(V) sorption capacity of peat and AMD-S, mixed in nine ratios (Table 4.1). Based on 47 field measurements conducted between December and August 2022, the lowest temperature of water flowing from the WSF

was $\sim 5^{\circ}\text{C}$ and the highest was $\sim 22^{\circ}\text{C}$. The first series of batch tests was performed at room temperature (22°C) with synthetic As-NMD using all nine sorbent mixtures, while the second series investigated As removal by the most efficient mixture at two temperatures (22 vs. 5°C) using both synthetic and real As-NMD to assess the effect of temperature on the As immobilization capacity. The sorption assays contained ~ 1 to 2 g of sorbent per 100 mL of solute, consistent with previous studies (Richard, 2020; Calugaru et al., 2021).

Table 0.1

Composition of the sorbent mixtures and experimental conditions during As adsorption batch tests.

Mixtures	Solids proportion (dry wt%)		Type of As-NMD	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Contact time (h)
	Peat	AMD-S			
P100	100	0	Synthetic	22	24
P95/AMD-S5	95	5			
P90/AMD-S10	90	10			
P85/AMD-S15	85	15			
P75/AMD-S25	75	25	Synthetic	22	24, 36, 48
P65/AMD-S35	65	35			
P50/AMD-S50	50	50	Synthetic	22 and 5	1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48
P50/AMD-S50	50	50	Real	22 and 5	1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48
P25/AMD-S75	25	75	Synthetic	22	24, 36, 48
AMD-S100	0	100			

Legend: the most performant mixture (which was used in the following lab-scale biofilter test) is highlighted in bold.

To obtain a solid:liquid ratio of 1:10 (w/v), 15 g of wet solid was mixed with 150 mL of As-NMD in 250 mL Erlenmeyer flasks. All flasks were agitated at 200 rpm. It has been reported that the best efficiency of As removal is obtained with agitation speeds around 170 rpm, with a greater mixing intensity (300 rpm) leading to high turbidity caused by peat fiber disintegration and the settling characteristics of the peat particles (Gogoi et al., 2018; Heiderscheidt et al., 2020b). In addition, excessive mixing that breaks down solid particles can increase the SSA of the sorbent material, which may lead to overestimation of the sorption

capacity (Tan & Hameed, 2017). Prior to the tests at 5°C, synthetic As-NMD, real As-NMD, peat, and AMD-S were stored in a refrigerator for one day to initiate temperature acclimation. All experimental parameters (mixture composition, type of As-NMD, temperature, contact time) are summarized in **Table 4.1**.

Table 0.2

The composition of synthetic and real As-NMD used in this study.

Parameters	Synthetic As-NMD	Real As-NMD
<i>Physicochemical parameters</i>		
pH	7.16	7.63
Redox potential (Eh) (mV)	338	502
Electrical conductivity (EC) ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	17	7,040
Alkalinity (mg/L CaCO_3)	NA	161.0
<i>Chemical composition (mg/L)</i>		
Dissolved organic carbon (DOC)	1.71	12.1
Cl^-	< 0.70	349
NO_3^-	< 0.70	344
PO_4^{3-}	< 0.90	< 0.90
SO_4^{2-}	< 1.00	2,553
Al	< 0.01	0.02
As	2.0*	0.91*
Ca	< 0.03	482
Co	< 0.001	0.60
Cu	< 0.001	< 0.001
Fe	< 0.03	< 0.03
K	< 0.04	262
Mg	< 0.003	36.3
Na	1.25	880
Ni	< 0.001	0.18
Pb	< 0.002	< 0.002
S	< 0.01	953
Sb	< 0.003	0.43
Si	< 0.15	4.37
Zn	< 0.03	< 0.03

*The values exceed the MDMER limit for As (0.3 mg/L); NA: not available

Synthetic As-NMD containing 2.0 mg/L As was prepared by dissolving disodium hydrogen arsenate heptahydrate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$; Sigma-Aldrich) in deionized water (18.2 M Ω), with the As content being based on the highest concentration measured at the mine site (mean of ~1.5 mg/L; $n = 13$; sampling between May 2021 and November 2022). The pH of the As-NMD was not adjusted during the experiment. Real As-NMD was collected (10 L) in August 2022 prior to discharge and dilution in the tailings pond downstream of the WSF. **Table 4.2** shows the main water quality parameters of both real and synthetic As-NMD used in this study.

For each contact time between As-NMD and sorbent, a batch reactor was sacrificed; its content was centrifuged at 4,000 rpm for 3 min and dissolved As and other physicochemical parameters in the liquid samples were analyzed.

4.5.5 Lab-scale biofilter system (87 dm³)

4.5.5.1 Setup and operation

A reactor (87 dm³; 0.48 m length $\times$ 0.41 m width $\times$ 0.55 m height) made from high-density polyethylene was used for As removal via biofilter treatment (**Figure 4.2**). A total of 35 dm³ biofilter material, comprising 2,695 g of P50/AMD-S50 sorbent mixture blended with 11,585 g of river gravel (Sta-Green), was placed between two layers of silica sand (24–40 mesh; combined volume of 15 dm³, aiming to promote a uniform flow while retaining fine particles prior to discharge in the outlet). The non-reactive river gravel (with a particle diameter close to 1 cm) was used ($G_s = 2.59$) to prevent clogging and increase the K_{sat} (1.24×10^{-4} cm/s without gravel vs. 1.86×10^{-3} cm/s with gravel).

After assembling, the biofilter system was operated in a continuous mode at room temperature (22°C). Based on historical monitoring data from the Éléonore mine site, the system was supplied with synthetic effluents containing three different As concentrations — 2.5 mg/L (days 0 to 37), 2.0 mg/L (days 38 to 61), and 1.0 mg/L (days 62 to 107) — to reflect the natural variability observed within the WSF, influenced by dilution events and spatial heterogeneity, and to evaluate the biofilter's removal performance under varying conditions. The synthetic As-NMD was prepared weekly and stored in two 40 L polyvinyl chloride containers, from which it was pumped into the biofilter system through a bottom inlet at a constant rate (HRT = 1 day).

The effluent flow rate (Q ; dm^3/d) was calculated using Eq. 4.1:

$$Q = (V_t \times n_{\text{eff}})/\text{HRT} \quad (4.1)$$

where V_t is the total volume of the biofilter mixture (dm^3), n_{eff} is the effective porosity of the selected mixture blended with gravel (interconnected voids were assumed to be constant during the treatment period) determined in triplicate ($= 0.30$) by placing substrates in a 1 L beaker and measuring the water volume required to fill the pore space, and HRT is the hydraulic retention time (1 d). The treatment was considered effective when the effluent complied with environmental regulations ($< 0.3 \text{ mg/L As}$; [Canadian Minister of Justice, 2024](#)).

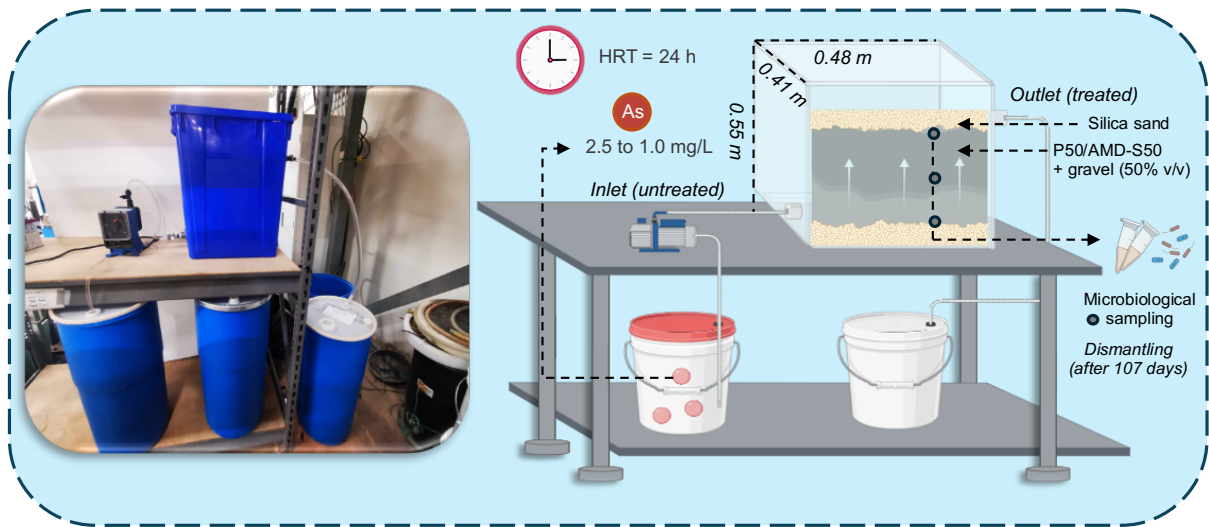


Figure 0.2

Setup of the lab-scale biofilter operated in a continuous mode for As removal from mine water (photo on the left, schematic design on the right).

An upward vertical flow design was selected to prevent fine particle accumulation and clogging typically observed in downward and horizontal flow systems ([Heiderscheidt et al., 2020b](#); [El Kilani et al., 2021](#)). This design maintained relatively stable hydraulic conductivity and ensured consistent As-NMD treatment. Silica sand and a mesh screen were incorporated to further control particle release from AMD-S and peat. The outlet was fitted with a sampling port enabling regular effluent sample collection, and the effluent overflow was collected in a barrel. The biofilter was operated for a total duration of 107 days (August to November 2023).

4.5.5.2 Microbiological analysis

The prokaryotic and fungal populations were analyzed using 16S and 18S rRNA gene amplicon sequencing, respectively, in the initial biofilter sorbent material and samples collected after the biofilter system was dismantled; two duplicate samples were prepared from material aseptically collected and mixed from three parts of the system (bottom, top, middle). The samples were stored at -20°C prior to DNA extraction and sequencing analysis, both performed by Metagenom Bio Life Science (Waterloo, ON, Canada). Total genomic DNA was extracted from the samples using the Sox DNA Isolation Kit[®]. The prokaryotic universal V4 region of 16S rRNA genes and the fungal ITS1 region of 18S rRNA genes were amplified, followed by Illumina MiSeq sequencing. Taxonomy was assigned to representative sequences using IdTaxa from the DECIPHER package ([Murali et al., 2018](#)). The diversity of the entire prokaryotic and fungal communities was investigated on the phylum and genus levels. Furthermore, relative abundances of prokaryotes involved in biogeochemical cycling of As, S, and Fe were determined by screening the taxonomy file for genera containing species with the investigated metabolic traits. Lastly, metabolic analyses were conducted using R in the RStudio development environment, utilizing FAPROTAX software ([Louca et al., 2016](#)) to predict functional profiles from prokaryotic community sequencing data.

4.5.6 Liquid sample analyses

Liquid samples were collected at the end of each contact time (0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48 h) during batch tests and approximately once (As, Fe, and S) and twice a week (physicochemical parameters) during the continuous lab-scale biofilter experiment. pH and redox potential (ORP) were measured using a B30PCI electrode linked to a benchtop VWR Symphony meter and an Orbisint CPS12-OPA2GSA potentiometer coupled with an internal Pt/Ag/AgCl electrode, respectively. The Eh values were then calculated by correcting the ORP value relative to the standard hydrogen electrode potential (+204 mV). Electrical conductivity (EC) was measured with a HACH Sension 1 electrode. Dissolved organic carbon (DOC) was determined in triplicate in acidified (with 0.1% v/v HCl) and filtered (0.45 μm) samples, using an infrared analyzer (SHIMADZU, Model TOCVcph) at 680 $^{\circ}\text{C}$ ([CEAEQ, 2016](#)). Alkalinity was determined with a Metrohm Brinkmann 716 DMS Titrino titrator ([APHA, 2012](#)). Fe^{2+} concentrations were measured immediately after sampling following a standard method ([APHA, 1998](#)), using a

portable spectrometer (Hach DR9001). Elemental composition was determined from filtered (0.45 μm) and acidified (with 2% v/v HNO_3) samples using a PerkinElmer 3000 DV ICP-AES (detection limit = 0.03 mg As/L). Anion concentrations were determined by ion chromatography (Metrohm 881 Compact IC Pro) in filtered samples (0.45 μm). Dissolved oxygen (DO) was measured with a DO sensor (LDO101, Hach).

4.5.7 Mathematical analyses

4.5.7.1 As removal rate and adsorption capacity

The calculations of the As removal efficiency (R_{As} ; %) and As sorption capacity ($\mu\text{g/g}$) at any time t (q_t) or at equilibrium (q_e) are based on the difference in As concentration using **Eqs** (4.2) and (4.3), respectively:

$$R_{\text{As}} = [C_i - C_e] / C_i \times 100 \quad (4.2)$$

$$q_e \text{ (or } q_t) = [C_i - C_e \text{ (or } C_t)] \times V / m \quad (4.3)$$

where C_i , C_e , and C_t , are As concentrations in solution (g/L) for the initial condition (i), equilibrium (e), and at any time (t), respectively. V and m are the total volume of solution (L) and the dry material mass (g) used for the testing, respectively. The equilibrium adsorption capacity was determined using the mean value of the peaks of the adsorption curves.

Adsorption is a surface phenomenon during which the adsorbed molecules (gaseous or liquid) bind to a solid sorbent via two distinct steps: film diffusion and pore diffusion. In practice, such as in a water treatment system, mass transfer effects are often involved ([Tan & Hameed, 2017](#)). The experimental kinetic adsorption data were evaluated according to pseudo-first-order as follows ([Ho et al., 2000](#)):

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - k_1 \times t / 2.303 \quad (4.4)$$

The equation for the kinetics of the pseudo-second-order is as follows ([Ho et al., 2000](#)):

$$1 / (q_e - q_t) = 1 / q_e + k_2 \times t \quad (4.5)$$

$$t / q_t = 1 / (k_3 \times q_e^2) + t / q_e \quad (\text{pseudo-second-order, chemisorption}) \quad (4.6)$$

where in **Eqs** (4.4) to (4.6), q_e and q_t are the concentrations of metals sorbed onto sorbents ($\mu\text{g/g}$) at equilibrium (e) and at time (t), respectively, and k_1 (L/min), k_2 (g/ $\mu\text{g min}$), and k_3 (g/ $\mu\text{g}^2 \text{ min}$)

are the pseudo-first/second-order rate constants. Note that **Eq 4.5** is derived from equation (6) (Ho et al., 2000; Calugaru et al., 2021).

4.5.7.2 Thermodynamic equilibrium calculations

The thermodynamic chemical equilibrium model PHREEQC (version 3.7.0, with the WATEQ4F database) was used to perform geochemical equilibrium calculations for liquid samples collected from batch tests after 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, and 48 h. Concentrations under detection limits were adjusted to half the limit. PHREEQC provides saturation indices (SI) for evaluating which minerals are at equilibrium ($SI = 0$), supersaturated ($SI > 0$), or undersaturated ($SI < 0$) and allows for assessing geochemical phenomena such as dissolution/precipitation, complexation, oxidation/reduction, ion exchange, and gas balance (Parkhurst & Appelo, 2013). Additional details on PHREEQC modeling are provided in the Supplementary Materials.

4.6 Results and discussion

4.6.1 Physicochemical characterization of peat and AMD-S

The physicochemical properties of peat and AMD-S are shown in **Table 4.3**. The paste pH of peat was acidic (4.13), whereas that of AMD-S was alkaline (8.11). AMD-S contained high concentrations of Ca (30.6 g/kg), Fe (173 g/kg), and Al (15.4 g/kg). The pH_{PZC} of peat (3.66) was much lower than that of P50/AMD-S50 (6.41) and AMD-S (7.07). Determination of the pH_{PZC} of a sorbent material is of high importance, as at a pH below pH_{PZC} the surface of a sorbent is positively charged (and thus attracts oxyanions), while at a pH above pH_{PZC} the sorbent surface is negatively charged (and attracts cations). The SSA of AMD-S was 65.1 m²/g, and that of peat 1.71 m²/g. A C/N ratio of 58 was calculated from the peat chemical composition, which is a value close to those reported for poorly degraded peatlands in Canada (Kuhry & Vitt, 1996).

A high C/N ratio can indicate a stable organic matter with a low DOC content (Kuhry & Vitt, 1996). AMD-S was characterized by a low C/N ratio (5.9) with low TOC and TN. The peat contained a high proportion of TC (46%), of which 94% was TOC and 5.8% was total inorganic carbon (TIC; involving carbonate (CO₃²⁻) and bicarbonate (HCO₃⁻) ions). Peat and AMD-S had similar water contents of 84% and 81%, respectively, suggesting a high-water retention capacity for both materials. It has previously been postulated that the hollow hyaline

cell structure of peat assures efficient sorption and cation exchange capacity (Rezanezhad et al., 2016). The peat used in this study, with a fiber content of 76% and a bulk density of 0.064 g/cm³, was categorized as fibric peat (least decomposed, consisting of over two-thirds intact fibers), which is generally expected to release less DOC into solution than humic and sapric peats (Boelter, 1969; Huat et al., 2011). With progressing decomposition of the peat material, the reduction in pore size limits its ability to drain easily, leading to increased water retention potential (Boelter et al., 1969).

Table 0.3

Physicochemical properties of the sorbent materials used for As removal in this study.

	Peat	AMD-S	P50/AMD-S50
<i>Physical properties</i>			
Paste pH	4.13 ± 0.07	8.11 ± 0.29	6.66 ± 0.02
pH _{PZC}	3.66 ± 0.07	7.07 ± 0.22	6.41 ± 0.01
Water content (wt%)	84 ± 0.8	81 ± 0.6	80 ± 1.2
Specific surface area (SSA) (m ² /g)	1.71 ± 0.16	65.1 ± 2.5	33.6 ± 1.3
Specific gravity (G _s)	1.44 ± 0.01	2.60 ± 0.01	2.08 ± 0.03
Bulk density (g/cm ³)	0.06 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.15 ± 0.01
Fiber content (dry wt%)	76 ± 5.8	NA	NA
<i>Chemical composition (dry wt%)</i>			
Total organic carbon (TOC)	44 ± 0.4	4.2 ± 0.01	NA
Total carbon (TC)	46 ± 0.1	5.3 ± 0.01	NA
Total nitrogen (TN)	0.8 ± 0.01	0.9 ± 0.01	NA
Total sulfur (TS)	0.2 ± 0.01	0.9 ± 0.01	NA
Al	0.1 ± 0.01	1.5 ± 0.01	NA
As	0.0 ± 0.01	1.1 ± 0.01	NA
Ca	0.2 ± 0.01	3.1 ± 0.01	NA
Fe	0.2 ± 0.01	17 ± 0.1	NA
P	0.0 ± 0.01	0.8 ± 0.01	NA
C/N	58	5.9	NA

Data are means ± standard deviation (s.d.) of duplicate (physical properties) or triplicate (elemental analysis) samples. NA: not applicable

Importantly, the contents of As (10.7 mg/g) and P (8.00 mg/g) were high in the initial AMD-S. Phosphate ions (PO₄³⁻) in solution have previously been shown to strongly negatively influence As(V) sorption onto peat (Miller et al., 2022) due to the similarity of the ionic structures of

phosphate and arsenate (present under oxidizing conditions), which then compete for sorption sites. The X-ray diffraction (XRD) analysis results from the mining company's internal data revealed that the major mineral phases in the AMD-S samples were quartz (SiO_2), K-feldspar (KAlSi_3O_8), plagioclase ($(\text{Na,Ca})(\text{Si,Al})\text{AlSi}_2\text{O}_8$), biotite ($\text{K}(\text{Mg,Fe})_3(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$), and chlorite ($(\text{Mg,Fe,Al})_6(\text{Al,Si})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$), together accounting for over 85% of the minerals present. Minor to trace amounts of illite/sericite, calcite, amphibole, and pyrrhotite were also detected. In addition, the AMD-S was composed of metallic (oxy)hydroxides (i.e., Fe, Al), SO_4^{2-} , and As (As(III)/As(V) ratio of 1/1). TCLP and SPLP results from [Mehdaoui et al. \(2025\)](#) for peat did not exceed the American ([USEPA, 1992](#); [USEPA, 1994](#)) or Canadian provincial discharge criteria ([MELCCFP, 2012](#)). In contrast, AMD-S was classified as a hazardous material for its potential to generate As-NMD and remobilize As and Fe into groundwater (**Table A1**). Therefore, the use of a sorbent mixture containing other component(s) besides AMD-S is preferable to the use of pure sludge.

4.6.2 As(V) adsorption in batch tests

4.6.2.1 Impact of sorbent composition on drainage pH and physicochemical properties

The first set of As sorption tests was performed at 22°C, using different proportions of peat and AMD-S in the sorbent to treat synthetic As-NMD (**Table 4.4**; **Figure 4.3**). The pH of treated drainage depended on the sorbent material used. The use of P100 (pure peat), P95/AMD-S5, and P90/AMD-S10 mixtures resulted in pH values below regulatory limits ($6.00 \leq \text{pH} \leq 9.50$), ranging from 3.91 to 5.05 due to the release of organic acids from peat. In contrast, for mixtures with AMD-S $\geq 15\%$, the pH values of treated water remained circumneutral (**Table 4.4**), which was ascribed to the presence of residual neutralizing agents in AMD-S (**Table 4.1**) such as lime and carbonates. The pH decreased slightly over time (24–48 h). This was explained by particle disintegration caused by stirring, which liberated from peat additional soluble acid organic compounds (**Table 4.4**): humic complexes can react with metals to release protons, thus decreasing the pH of treated water.

Table 0.4

Chemical composition of the treated drainage after the first series of As sorption batch tests at 22°C. The initial As(V) concentration was 2.0 mg/L.

Mixtures	Contact time (h)	pH	Eh (mV)	EC (μ S/cm)	DOC (mg/L)	As removal (%)	Fe _{Total} (mg/L)	S _{Total} (mg/L)	Ca (mg/L)	Na (mg/L)
Synthetic initial As-NMD	–	7.16	338	17.1	1.70	–	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
P100		3.91	509	196	35.3	0.0	0.02	0.64	0.32	3.91
P95/AMD-S5	24	4.54	468	173	34.9	–222	0.34	1.36	0.80	5.44
P90/AMD-S10		5.05	425	176	35.5	–189	0.35	2.04	0.66	6.35
P85/AMD-S15		5.55	391	248	35.1	–88	0.44	3.42	0.86	6.98
	24	6.21	377	123	22.4	28	0.56	3.86	1.33	8.06
P75/AMD-S25	36	6.20	432	117	23.5	42	0.46	5.25	1.30	9.55
	48	6.08	401	131	25.8	76	0.38	6.99	2.04	10.6
	24	6.84	395	144	22.6	62	0.63	4.72	2.41	9.17
P65/AMD-S35	36	6.38	363	158	21.6	76	0.36	7.13	1.64	11.3
	48	6.02	600	171	22.8	87	0.32	11.6	2.80	11.9
	24	7.46	396	369	24.1	84	0.21	7.82	17.0	17.9
P50/AMD-S50	36	7.40	421	378	26.2	88	0.17	26.0	27.7	19.6
	48	7.34	577	482	26.1	89	0.16	35.5	32.7	19.8
	24	7.38	379	531	31.1	86	0.11	29.3	41.2	25.2
P25/AMD-S75	36	7.38	398	619	31.3	87	0.05	36.8	43.4	25.1
	48	7.49	407	708	31.8	89	0.05	48.5	50.2	25.5
	24	7.24	327	824	34.8	82	0.12	23.7	35.3	31.0
AMD-S100	36	7.52	443	881	35.9	85	0.04	46.8	49.9	32.4
	48	7.46	455	903	35.4	88	0.06	49.8	53.8	33.0

The As-NMD derived from treatment with pure AMD-S (AMD-S100) showed EC values of 824 and 903 $\mu\text{S}/\text{cm}$ at 24 and 48 h, respectively, which were higher than those detected in assays with peat-bearing sorbents (with the EC values decreasing with an increasing peat proportion, ranging from 708 $\mu\text{S}/\text{cm}$ in the P5/AMD-S95 system to 196 $\mu\text{S}/\text{cm}$ in P100). The elevated EC values obtained with AMD-S100 were caused by extensive release of some of the sludge components into the treated water, such as DOC (~ 35.5 mg/L), Ca (~ 50.2 mg/L), Na (~ 32.4 mg/L), and S (49.8 mg/L) (Table 4.4). Finally, Eh values ranged between 338 mV for the untreated synthetic As-NMD and 600 mV for the drainage treated with the P65/AMD-S35 mixture, increasing between 24 and 48 h, which indicated oxidizing conditions

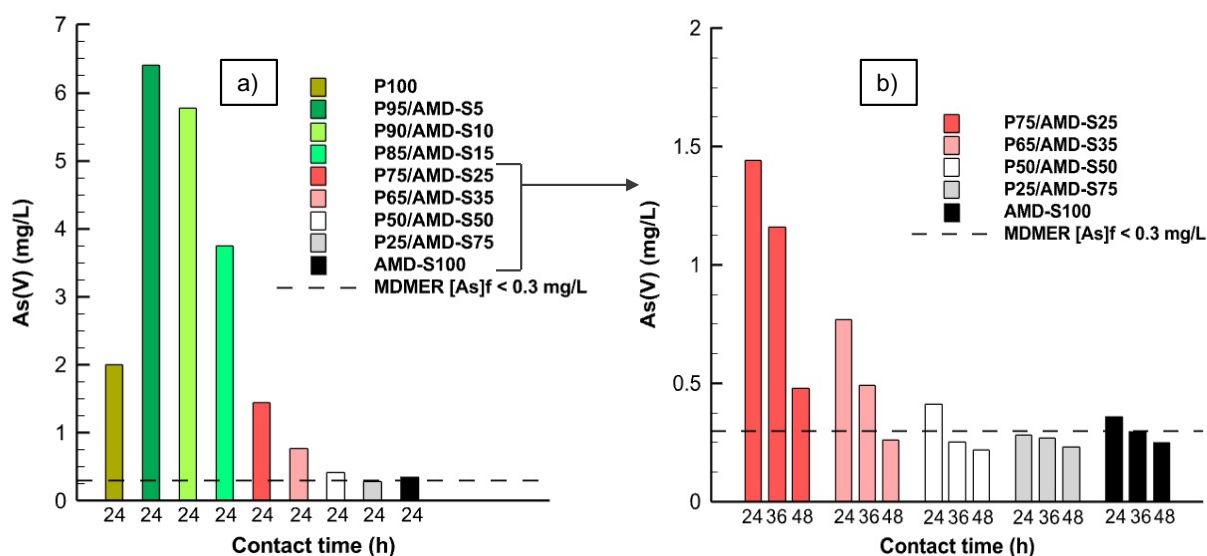


Figure 0.3

As(V) concentrations in synthetic drainage (a) treated by different sorbent mixtures for 24 h, and (b) treated by five most performant sorbents (based on data in (a)) for 24, 36, and 48 h. All batch tests were performed at 22°C, with a solid/liquid ratio of 1/10 and initial As(V) concentration of 2.0 mg/L. MDMER [As]_f: Canada's Metal and Diamond Mining Effluent Regulations (MDMER) limit for As.

4.6.2.2 As adsorption efficiency of different sorbent mixtures

The final As removal efficiency (after 48 h) in all batch tests exceeded 80% (Table 4.4), with the contact time and proportion of AMD-S in the sorbent generally having positive effects (Figure 4.3b). Only mixtures with the AMD-S content $\geq 50\%$ lowered the As concentrations in the synthetic drainage (2.0 mg/L) below the Canadian federal regulatory limit (0.3 mg/L, MDMER) (Canadian Minister of Justice, 2024), which can be explained by the high

Fe (17 wt%) content in the sludge (**Table 4.1**; **Table 4.4**). These findings are consistent with previous studies showing that the combination of OM and Fe-rich materials promotes As immobilization via As–Fe–OM ternary complexes. Specifically, the high specific surface area and surface charge of Fe-(oxy)hydroxides enhanced oxyanion sorption and limited As mobility (Catrouillet et al., 2016; Xiao et al., 2023).

In contrast, As concentrations in drainage treated using peat-rich sorbents (P75/AMD-S25 and P65/AMD-S35) did not sufficiently decrease after 24 h to meet the regulatory limit (while satisfactory pH values (6.21–6.84) were achieved), reaching values of 1.44 and 0.77 mg/L, respectively. An extended contact time from 24 to 48 h improved the As removal in all experiments, but the final concentration of As (0.48 mg/L) in the drainage treated using the P75/AMD-S25 mixture did not meet the environmental limit. The highest As removal (89%) was obtained after 48 h using P25/AMD-S75 as sorbent.

4.6.2.3 Inefficient As removal using pure peat (P100)

Peat was previously suggested for the removal of dissolved metal cations (Fe, Cu, Ni) (Palmer et al., 2015; Xiao et al., 2023). However, peat proved to be unsuitable for As treatment in this study due to its active functional groups (i.e., carboxylic acids, phenolic hydroxyl and amino groups). In fact, no As was removed after 24 h when using the P100 mixture (**Figure 4.3a**; **Table 4.4**), since As was present as negatively charged oxyanions (H_2AsO_4^-) under oxic conditions and the peat surface also carried negative charge due to the pH of the leachate (3.91) exceeding the pH_{PZC} of peat (3.66; **Table 4.1**) (Bakatula et al., 2018). While these results were expected, they are not in agreement with a high As removal (~60%) reported by previous studies using peat after 24 h (Aguilar-Garrido et al., 2022; Heiderscheidt et al., 2020b). These studies were conducted with low As concentrations (15.9–200 $\mu\text{g/L}$), while a higher As concentration (2.0 mg/L) in this study representative of a real-field scenario, likely influenced sorption efficiency, as biofilters generally exhibit greater effectiveness at lower As concentrations.

4.6.3 As(V) and metal leaching from sorbent mixtures

The findings indicate that mixing large proportions of peat with small amounts of AMD-S may have negative impacts on the final effluent quality. The As concentration increased up to

3.2-fold in treated drainage from P85/AMD-S15, P90/AMD-S10, and P95/AMD-S5 systems (compared to the initial As concentration in synthetic As-NMD), reaching 3.75 to 6.41 mg/L As after 24 h (**Table 4.4**). The results indicate that AMD-S can be an effective As adsorbent, but its use and efficiency is dependent on the mine water pH and peat content in the sorbent. These findings suggest that peat/AMD-S may be controlled by the balance of OM and metal oxide components in the system. Importantly, the results showed potential limitations and pitfalls of the use of adsorbents with a high peat and low AMD-S content in mine water treatment systems. A previous study reported that a sorbent comprising roughly 5% AMD-S (from the Éléonore gold mine tailings), with or without peat, lowered the As concentration in leachates by 65 to 80% ([Rakotonimaro et al., 2019](#)). The discrepancy between the previous and current findings further highlights the need to optimize the peat-to-AMD-S ratio for specific conditions, particularly because the current study indicates that an excessive peat content may enhance As mobilization rather than its retention.

Arsenic leaching was particularly pronounced in systems with sorbents comprising low proportions of AMD-S and high proportions of peat (the latter leading to elevated DOC concentrations, ranging from 21.6 to 35.5 mg/L). Similar DOC levels (33.0 ± 7.0 mg/L) in the Éléonore fibric peat porewaters have been reported elsewhere ([Rakotonimaro et al., 2019](#)). The high DOC levels in systems using peat-rich mixtures (P95/AMD-S5 to P85/AMD-S15) created acidic conditions (4.54–5.55), which increased As solubility. Increased As mobilization from a sorbent with a low peat proportion (5% peat mixed with As-rich mine tailings and AMD-S from the Éléonore site) was previously reported ([Rakotonimaro et al., 2019](#)).

The role of functional groups (particularly carboxyl and hydroxyl) present in humic acids should not be underestimated, as their high reactivity and strong binding affinity can influence metal oxide aggregation and As bioavailability ([Wang & Mulligan, 2009](#)). Even at low concentrations of humic acids, the potential for As mobilization rises through mechanisms such as ligand exchange and hydrogen bonding. An increase in As concentrations up to 5-fold in the presence of 0.1% humic acids was reported ([Wang & Mulligan, 2009](#)). As implied above, the proportions of peat and AMD-S should be carefully balanced as they influence both As sorption and leaching. In summary, the proportions of the sorbent components altered the physicochemical properties (e.g., pH and DOC) of the treated drainage, but they were also critical to the efficiency of As

(de)sorption, which illustrates that both peat and AMD-S control the performance and stability of the mine water treatment system.

4.6.3.1 The importance of metal (oxy)hydroxides during As sorption onto peat-based sorbents

Due to its natural abundance and ability to immobilize contaminants, peat has received great attention as a sorbent material for As removal. However, the effectiveness of peat is highly dependent on its interaction with other constituents, such as AMD-S and metal (oxy)hydroxides. In many systems (i.e., peatlands, subarctic lakes, and bedrock aquifers from past mining activities), the adsorption of As to humic acids in OM can occur directly through covalent bonds in OM (carbon-As; [Catrouillet et al., 2016](#)), but the efficiency of the As removal can be significantly increased by the presence of cations (Fe^{3+} , Al^{3+}) that form cationic bridges (e.g., $\text{As-Fe}^{3+}\text{-OM}$, $\text{As-Al}^{3+}\text{-OM}$; [Gorb & Shukla, 2017](#)), particularly when peat is used as the primary sorbent. However, Fe cannot act as a cationic bridge between humic acids and As when it is soluble, and high dissolved Fe concentrations (0.34–0.63 mg/L) were measured in P95/AMD-S5 to P65/AMD-S35 assays (**Table 4.4**). Therefore, a high peat content in sorbents (such as in P95/AMD-S5, P90/AMD-S10, and P85/AMD-S15) might pose a risk of increasing As contamination in the treated mine water instead of its mitigation. In this study, As removal in the presence of peat was achieved only with sorbents containing sufficient amounts of AMD-S ($\geq 25\%$) that allowed sufficiently high pH values to be reached (6.21–7.49). To sum up, pure peat (P100) appears to be largely ineffective in As removal (0%; **Table 4.4**), in contrast to high efficiencies obtained in the systems containing P50/AMD-S50 to AMD-S100 sorbent mixtures. The higher specific surface area associated with increased AMD-S ratios provided additional reaction sites, which facilitated As sorption and underscored the role of Fe-(oxy)hydroxides in As immobilization.

4.6.3.2 Effects of AMD-S chemical composition on final drainage quality

The S present in AMD-S was leached, resulting in concentrations of 26–49.8 mg S/L in the systems with mixtures containing over 35% AMD-S, compared to 0.64 mg S/L in the P100 system. The contact time played an important role: the P50/AMD-S50 drainage contained a concentration of 7.82 mg S/L after 24 h, while concentrations of 26.0 and 35.5 mg S/L were determined after 36 and 48 h, respectively (**Table 4.4**). All dissolved S was expected to be

present as SO_4^{2-} under the observed pH and redox conditions. Moreover, Ca and Na were leached from the sorbent sludge component, resulting in high concentrations (35–53.8 mg Ca/L and 25–33.0 mg Na/L, depending on contact time) with the use of a low proportion of peat (AMD-S100 and P25/AMD-S75), while only 0.32 mg Ca/L and 3.91 mg Na/L were measured in the P100 treated drainage. Although the pH range (4.52–7.54) was insufficient to promote direct precipitation of calcium arsenate ($\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$) the presence of Ca-rich phases, such as calcium carbonate, may have enhanced As retention through surface complexation processes (Rakotonimaro et al., 2021; Aguilar-Garrido et al., 2022).

4.6.3.3 Selection of the most effective sorbent mixture

The hydraulic properties of sorbent material are crucial for the design of passive treatment systems. Even if a material is effective in removing contaminants, it may be unsuitable if its hydraulic performance is inadequate. A too low saturated hydraulic conductivity (K_{sat}) would limit the volume of water treated, and large flow fluctuations during snowmelt or rainfall events could cause flooding and treatment bypass (Sobolewski et al., 2022). Conversely, a too high K_{sat} would favor preferential flows, leading to leaching of metal(loid)s, OM, and microorganisms from the biofilter (Aoyagi et al., 2017; Sobolewski et al., 2022). Peat alone, with a low K_{sat} (2.10×10^{-5} cm/s), is not suitable for use as a sorbent material, as it would cause excessively long HRT, a high risk of K_{sat} loss and clogging, limiting treatment capacity during operation (Heiderscheidt et al., 2020b). In contrast, the P50/AMD-S50 mixture exhibited a 6.2-fold higher K_{sat} (1.24×10^{-4} cm/s), addressing this issue. Although the P25/AMD-S75 mixture showed slightly higher As removal after 24 h than P50/AMD-S50, it was not selected due to concerns regarding contaminant leaching from the hazardous sludge component (**Table A1**), which contains residual elements from past treatment processes (**Table 4.1**).

Selecting a mixture with a lower proportion of sludge (50%) minimized this risk while maintaining sustained treatment efficiency and hydraulic performance. Therefore, the P50/AMD-S50 mixture was selected as a compromise between treatment efficiency, leaching risk mitigation, hydraulic stability, and long-term operational reliability for the subsequent batch tests and the continuous laboratory-scale biofilter experiment.

4.6.4 Additional batch testing at 22 and 5°C with synthetic and real As-NMD

4.6.4.1 Effects of contact time and temperature on treated drainage quality

Changes in the quality of treated drainage are presented in **Figure 4.4**, showing data obtained with P50/AMD-S50 treating synthetic or real As-NMD at 22 or 5°C. Regardless of the temperature and effluent type (real or synthetic As-NMD), the pH increased slightly during the first four hours (0–4 h), with final values ranging from 6.41 to 7.52. With synthetic As-NMD, EC increased from the initial value of 17 to around 270 $\mu\text{S}/\text{cm}$, while EC decreased from around 7,000 to 6,640 $\mu\text{S}/\text{cm}$ when real As-NMD was used. Significant changes in the effluent quality sorbent mixture performed at 22°C (black point) and 5°C (white point) were observed in all assays for Eh, DO, DOC, As, and Fe during the early hours (0–12 h), followed by reaching a steady state after 24 h. Regardless of As-NMD type, Eh increased with contact time and reached 525 ± 103 mV, while DO concentrations increased from 2.9 ± 0.3 mg/L to 8.3 ± 1.7 mg/L. DO values were 33% greater at 5°C than at 22°C.

The DOC analyzed in the peat pore water appeared to be released within the first 12–24 h, with the final concentrations ranging from 18.6 ± 5.9 mg/L to 30.2 ± 4.7 mg/L, respectively. Peat is rich in light organic compounds (Wang & Mulligan, 2009), including weak aliphatic and aromatic acids. Due to the dissociation of peat's functional group, these may affect water quality by inducing reductive conditions, with decreasing Eh and DO; this can be mitigated by washing out the light organics from the peat prior to using it in biofilters (Heiderscheidt et al., 2020b).

Residual salinity in contaminated mine water, consisting of ions such as PO_4^{3-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , HCO_3^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , and K^+ , presents a major challenge for the effective treatment of As, mainly due to the ionic strength or electrostatic competition for sorption sites between metals and major ions (Miller et al., 2022). In the real As-NMD used in this study, PO_4^{3-} , even at low concentrations (< 0.90 mg/L), can be expected to be among the major competing ions. However, other major ions (i.e., SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^-) (Table 4.2) could indirectly decrease As removal efficiency by altering the physicochemical properties of the effluent and/or adsorbent, thus affecting electrostatic interactions between As and sorption sites (e.g., humic acids; Wang & Mulligan, 2009).

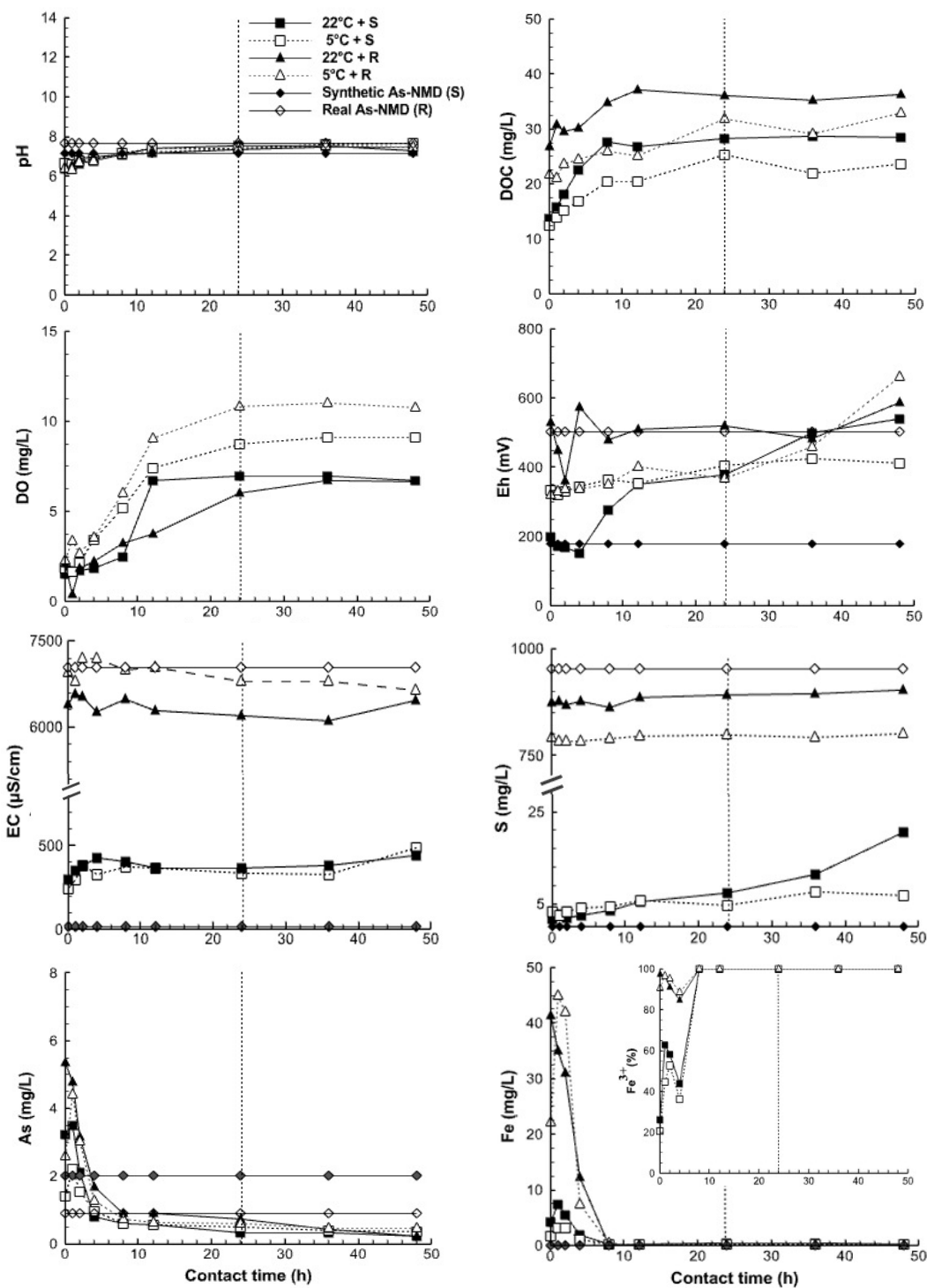


Figure 0.4

Changes in pH, DOC, DO, Eh, EC, S, As, Fe, and Fe³⁺ during batch removal of As from synthetic (S; $As_{initial}$: 2.0 mg/L) or real (R; $As_{initial}$: 0.91 mg/L) As-NMD using P50/AMD-S50 sorbent mixture performed at 22°C (black point) and 5°C (white point). The vertical dotted lines mark a 1-day contact time.

4.6.4.2 Effects of contact time, temperature, and salinity on As sorption

The influence of contact time on the sorption efficiency of P50/AMD-S50 was assessed at 22°C and 5°C. Similar As removal efficiencies were observed at both temperatures when synthetic As-NMD was used, while with real As-NMD, the As removal efficiency was 2-fold greater at 22°C than at 5°C. In brief, noticeable changes in treated water quality were observed during the first 12 h of the test (**Figure 4.4** ; **Table 4.5**), after which the water quality seemed to be stable and close to the Canadian federal regulatory standards.

Table 0.5

Removal rates of As (%) from real or synthetic As-NMD with P50/AMD-S50 sorbent used in batch tests at two temperatures (22 and 5°C).

Time (h)	As removal (%) from synthetic As-NMD		As removal (%) from real As-NMD	
	22°C	5°C	22°C	5°C
0	-57	29	-486	-184
1	-69	-11	-423	-382
2	-1.9	23	-245	-230
4	62	51	-82	-39
8	72	71	2.4	18
12	73	73	4.5	30
24	84	76	20	35
36	85	80	52	48
48	88	82	77	48

Importantly, As release from AMD-S was observed in the first hours of the experiment, which is why the initial As concentrations shown in **Figure 4.4** exceed initial As contents in synthetic and real As-NMD. Negative removals were reported for that period (up to 4 h; **Table 4.5**), which can be explained by the dissolution of Fe-(oxy)hydroxides immobilizing As, and therefore the subsequent release of As into solution. The extent of As mobilization from the AMD-S in the present study differed at the two tested temperatures, with 0.21 mg/L being released at 5°C (corresponding to -11% As removal) and 1.50 mg/L (-69%) mobilized at 22°C, both using synthetic As-NMD. Similarly, with the real As-NMD, 3.49 mg/L As (-382%) was leached at

5°C, relative to 4.44 mg/L As (–486%) at 22°C. These values were determined at 0 or 1 h (**Table 4.5**) and indicate a more limited As leaching at the lower temperature.

The speciation and concentrations of metal(loid)s were affected by anoxic conditions during storage in Geotubes®, leading to Fe solubilization (for comparison, there was no dissolved Fe in the initial synthetic or real As-NMD; **Table 4.3**). In batch reactors, all the Fe²⁺ released from the sorbent mixtures was oxidized to Fe³⁺ within hours (**Figure 4.4**). Initially, Fe in synthetic As-NMD was 26% Fe²⁺, whereas real As-NMD already contained 98% Fe³⁺.

4.6.4.3 Sorption kinetic modeling for P50/AMD-S50 sorbent

Sorption efficiency depends on several factors, including ion type and concentration, pH, temperature, contact time, ion affinity, and the quality of the sorbent used (Gogoi et al., 2018). The kinetics of As sorption onto P50/AMD-S50 at two temperatures (22 and 5°C) are presented in **Figure 4.5**, for both synthetic and real As-NMD. The results are in agreement with the evolution of the physicochemical characteristics of the effluents (**Figure 4.4**), with the efficiency of As removal from the real As-NMD being very limited due to its residual salinity. This is illustrated by 72.0 and 84% of As being removed from synthetic As-NMD within 8 and 24 h, respectively, compared to 2.4 and 20% of As removal from the real As-NMD after the same elapsed times (all at 22°C; **Table 4.5**).

A close correlation was observed between experimental data and the theoretical model of the second-order chemisorption kinetics ($R^2 = 0.99$, **Figure A1**) for As sorption onto P50/AMD-S50 using synthetic As-NMD at both 5 and 22°C. Similarly, for the real As-NMD, the highest correlation was found with the second-order chemisorption kinetics ($R^2 = 0.86$ at 22°C, $R^2 = 0.95$ at 5°C; **Figure A2**). Diffusional mass transfer is usually the sorption rate-determining step when porous solids (i.e., peat, algae, wood ash, compost) are used, with the sorption processes taking days to weeks to reach steady state (Richard et al., 2020).

In biofilters, the primary As removal process is chemisorption because it involves the formation of inner-sphere complexes via strong chemical bonds (i.e., covalent, ionic bonds) that help limit As release over time. At equilibrium, the mean amount of As adsorbed per unit mass of P50/AMD-S50 was 104.1 ± 5.0 µg/g for synthetic As-NMD and 33.4 ± 10.8 µg/g for real As-NMD (**Figure 4.5**). These results for P50/AMD-S50 with synthetic As-NMD are consistent

with a previous study conducted with Fe-rich biochar (Calugaru et al., 2019). The As sorption capacity of P50/AMD-S50 from real As-NMD was affected by temperature, reaching up to 41 $\mu\text{g/g}$ at 22°C but only 26 $\mu\text{g/g}$ at 5°C (Figure 4.5). The above results indicate that under field conditions more efficient treatment should be expected in summer than in winter. However, a high dissolved As concentration in the effluent could occur if the HRT was disregarded.

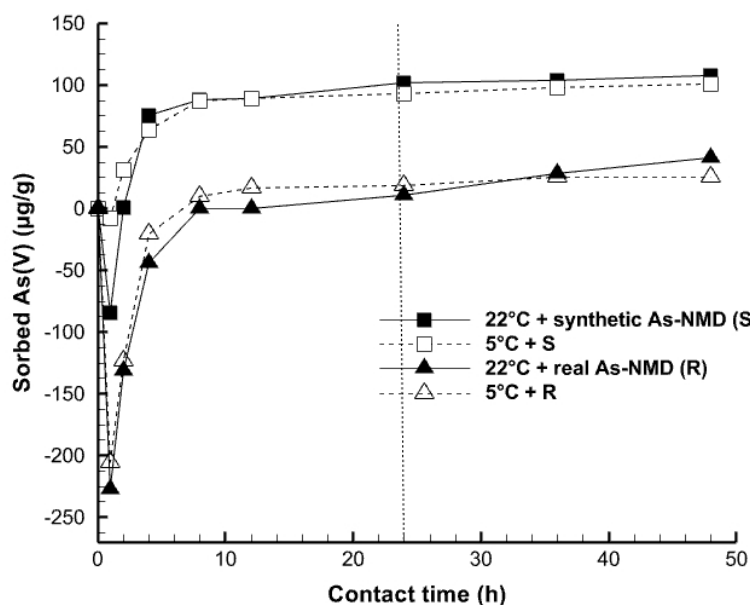


Figure 0.5

Kinetic modeling of As sorption onto P50/AMD-S50 sorbent at 22 and 5°C. The vertical dotted line marks a 1-day contact time.

As removal efficiency increased slightly between 24 and 48 h of contact, then stabilized, while no As desorption was observed, in contrast to previous observations (Gogoi et al., 2018). Extending the HRT to 48 h improved As removal marginally but also led to increased leaching of sulfur and calcium (Table 4.4), potentially compromising effluent quality. From an operational perspective, designing a system with a 48-h HRT would double the footprint and treatment volume vs a 24-h system for the same flow rate, increasing construction and maintenance costs. A system with a longer HRT would also be more vulnerable to clogging, compromising hydraulic performance and system lifespan. Starting with a 48-h HRT could then result in excessively long retention times, negatively affecting system performance and stability. Thus, 1-day of HRT was selected for the lab-scale biofilter as best compromise between As removal efficiency, effluent quality, system cost, and long-term hydraulic performance.

4.6.4.4 Thermodynamic equilibrium calculations using PHREEQC

Saturation indices calculated using water chemistry data obtained from 0 to 48 h suggest that all As-bearing minerals (i.e., carbonates, hydroxides, sulfides) were undersaturated in both synthetic and real As-NMD (**Figure A4**). Fe-(oxy)hydroxides, such as goethite (α -FeOOH), hematite (Fe_2O_3), maghemite (Fe_2O_3), and ferrihydrite ($\text{Fe}_{10}\text{O}_{14}(\text{OH})_2$), are particularly effective in As removal, similar to sulfate minerals, including Na-jarosite ($\text{NaFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$), K-jarosite ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$), and schwertmannite ($\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_6(\text{SO}_4)$). Thus, As retention could be attributed to sorption or co-precipitation with oversaturated Fe-bearing mineral phases ($\text{SI} > 5$). In addition, the presence of gibbsite ($\text{Al}(\text{OH})_3$) suggests that Al-(oxy)hydroxides probably contributed to As removal in all batch tests. The above results are consistent with a previous NMD batch experiment (Ben Ali et al., 2019). PHREEQC did not theoretically identify Ca-Fe-arsenate formation based on the initial proportion of $\text{Ca}/(\text{Ca}+\text{Fe}+\text{As})$ ratio ≥ 0.1 in either peat (0.51) or AMD-S (0.10), as might be expected (Paktunc et al., 2015).

4.6.5 Arsenic removal by lab-scale biofilter in continuous mode

4.6.5.1 Evolution of physicochemical properties of treated drainage

Changes in the physicochemical properties of the As-NMD before and after treatment using the lab-scale P50/AMD-S50 mixture biofilter are shown in **Figure 4.6**, with the remediation process comprising three parts, each using a synthetic drainage containing a different initial dissolved As concentration (2.5, 2.0, and 1.0 mg/L). The alkaline nature of AMD-S maintained the effluent pH at 6.80 ± 0.22 , which is a value close to the initial pH of the synthetic As-NMD ($\text{pH} = 7.16$, **Table 4.3**). The peat component (50% v/v) in the reactive mixture was a probable cause of the slight decrease in pH (to ~ 6.0) during the first days of the biofilter test. Similar trends were observed in the evolution of redox potential, with the mean value (445 ± 83 mV), indicating the prevalence of oxidizing conditions during the biofilter experiment.

This can be explained by a relatively short HRT (1 d), entailing a constant DO concentration throughout the course of the test (8.0 ± 0.5 mg/L). The EC values in the treated drainage were high (up to 394 $\mu\text{S}/\text{cm}$) at the beginning of the experiment, followed by a downward trend until reaching As-NMD initial values (13 $\mu\text{S}/\text{cm}$). The EC values increased during the second part of

operation (with 2.0 mg/L As in initial As-NMD), which was explained by the mobilization of As from the sorbent.

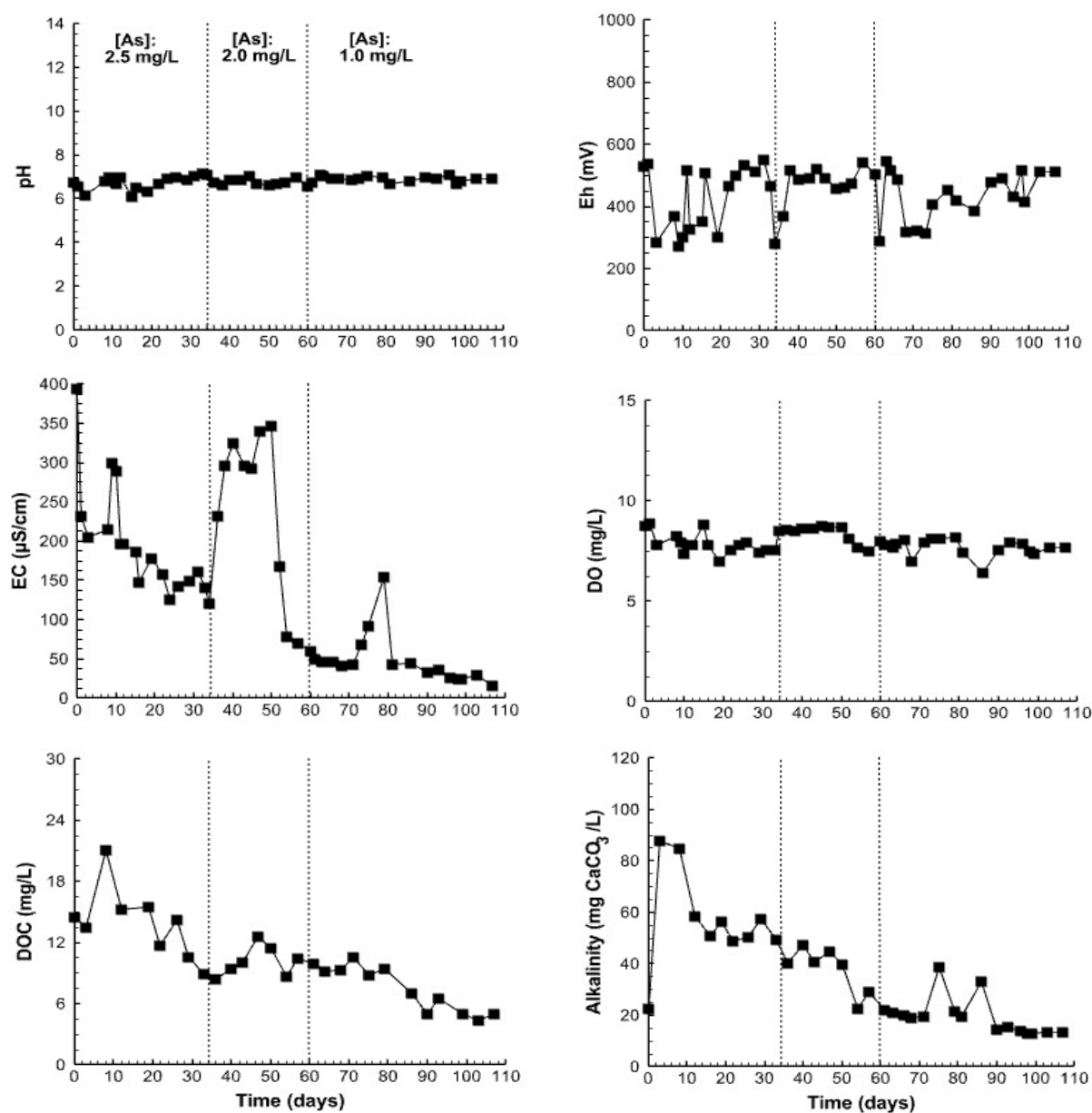


Figure 0.6

Evolution of pH, Eh, EC, DO, DOC, and alkalinity in effluent during the lab-scale biofilter test at 22°C using synthetic As-NMD ($[As]_{\text{initial}}$: 2.5, 2.0 and 1.0 mg/L) and P50/AMD-S50 sorbent. The vertical dotted lines indicate changes in influent As content.

4.6.5.2 Changes in As, Fe, and S concentrations in treated drainage in continuous mode

The biofilter showed high initial efficiency for As removal, followed by performance fluctuations in later stages of the experiment (**Figure 4.7**). On the first day of operation, the biofilter removed 98% of dissolved As, resulting in a final concentration of 0.06 mg/L in the treated drainage. Between days 1 and 22, the system showed removal efficiencies between 36 and 68%, with final concentrations ranging between 0.81 and 1.67 mg/L, not meeting the Canadian federal regulatory standards (< 0.3 mg/L As; MDMER) ([Canadian Minister of Justice, 2024](#)).

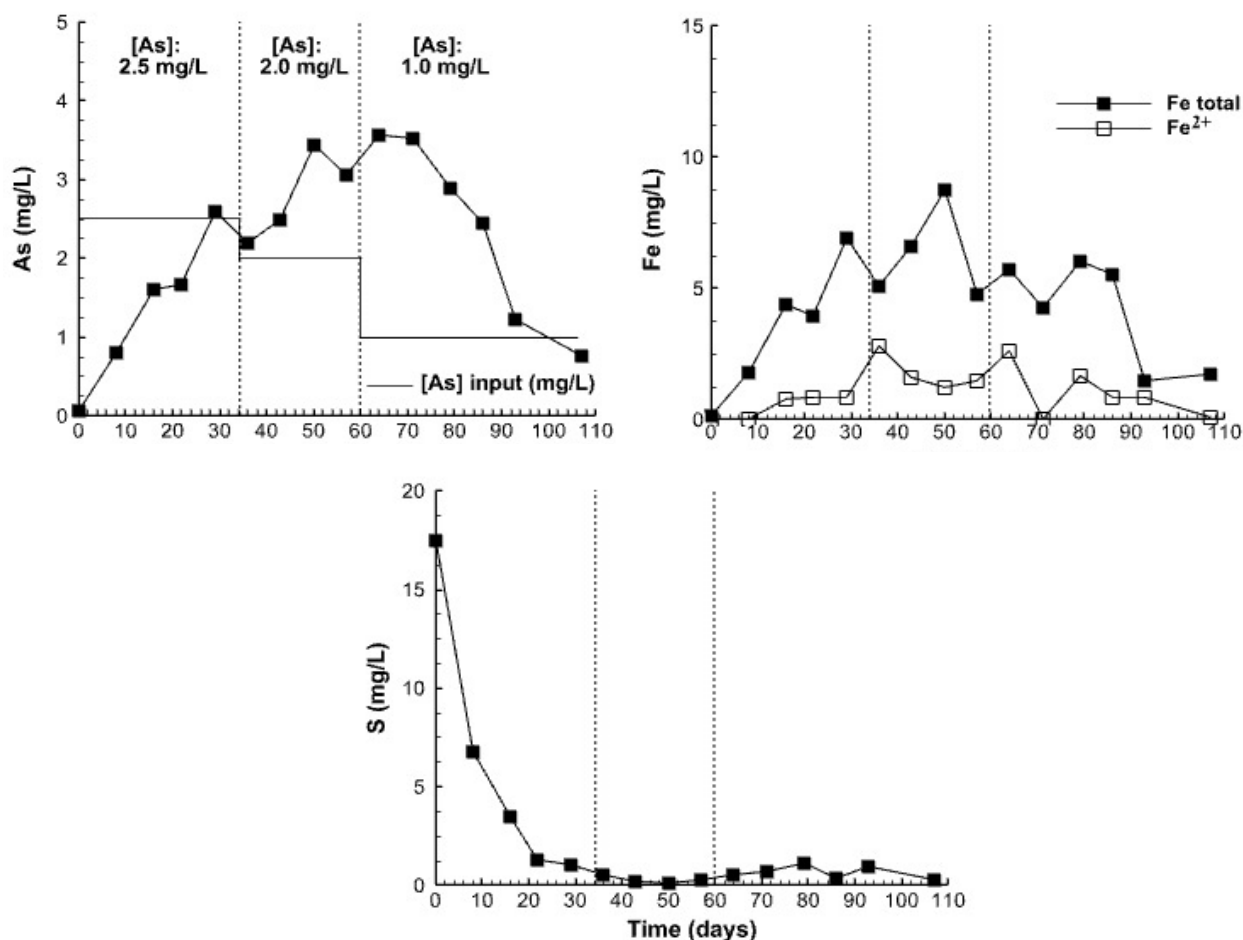


Figure 0.7

Evolution of As, Fe, and S concentrations in effluent during the lab-scale biofilter test at 22°C, using synthetic ([As]_{initial}: 2.5, 2.0 and 1.0 mg/L) As-NMD and P50/AMD-S50 mixture. The vertical dotted lines indicate changes in influent As content.

From day 22 to 29, the treatment efficiency drastically decreased, with As removals dropping to values between 33% and -3.6%, which was ascribed to the diminution of the number of available active sorption sites in the sorbent mixture. From day 30, the biofilter sorption sites were fully saturated and the As sorbed in the previous phases of the experiment was gradually leached from the sorbent, ranging from -5.9 to -257%. Finally, positive As removal efficiencies re-emerged in the final stage of the experiment (23% at 1.0 mg As/L). Because the sorption sites progressively saturated, the system's capacity declined, resulting in desorption and leaching of As previously retained. The subsequent decrease in influent As concentration (from 2.5 to 1.0 mg/L) altered the concentration gradient, which may have favored partial re-adsorption onto residual or newly exposed sorption sites. This effect, combined with reduced competition between As and other solutes from the AMD-S under diluted conditions — commonly observed in natural peatlands ([Palmer et al., 2015](#)) — likely contributed to the net As removal by the end of the experiment.

Fe concentrations seemed to correlate with As concentrations ($R^2 = 0.70$) and not with DOC ($R^2 = 0.08$), suggesting that Fe may control As mobility. High concentrations of S (up to 17.52 mg/L) and Fe (up to 8.79 mg/L) were detected in the effluent due to the presence of Fe/S-bearing compounds in AMD-S (**Table 4.3**). Sulfur was leached from AMD-S within the first 22 days in the form of soluble sulfates, considering the oxidizing conditions in the system ($DO = 8.8 \pm 0.4$ mg/L) throughout the experiment.

Over time, the treated drainage became slightly colored, possibly due to the release of OM and Fe (**Figure 4.8**). The Fe^{3+} concentrations measured in liquid samples at the system outlet were always greater than Fe^{2+} concentrations, and an orange precipitate further indicating the presence of Fe^{3+} was observed at the surface of the biofilter outlet (**Figure 4.8**). The maximum As sorption capacity calculated for the continuous biofilter system was 148.4 $\mu\text{g/g}$, which was significantly greater than for the batch tests (104.1 ± 5.0 $\mu\text{g/g}$). Prior to As leaching occurring in the system (days 0–27), the biofilter treated 270 L of As-NMD, retaining a total of 349 mg As. The high As removal capacity of the biofilter may be explained by upscaling effects: elevated quantities of the sorbent mixture provided a larger surface area and entailed increased co-precipitation of As with Fe-(oxy)hydroxides.

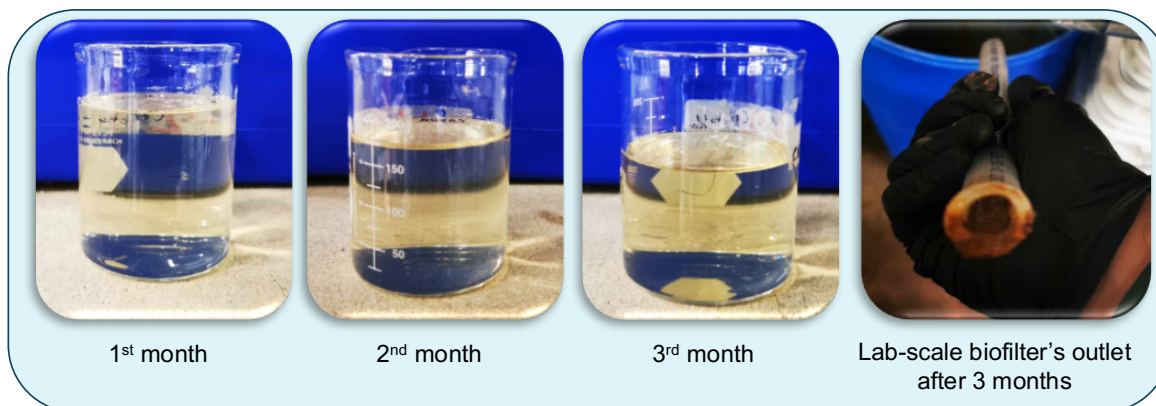


Figure 0.8

Changes in the effluent color over 3 months of biofilter operation, and a photo of the biofilter outlet after dismantling (on day 107).

4.6.5.3 Biofilter system after 3 months of operation

The sorption efficiency may be transient and unstable due to the As fraction being easily mobilized from the sorbent. When agitation was not applied, the sorbent mixture maintained its structural integrity within the biofilter; this could, however, potentially decrease the sorbent surface area available for As removal (Tan & Hameed, 2017). In the short term, As retention in the biofilter was high, reaching a value like those determined for natural peatlands (Palmer et al., 2015). However, the dissolved As concentrations in the biofilter discharge increased when the cumulative volume of the treated mine water rose. The varying efficiency of the biofilter and its limited lifespan represent the main concerns and potential limitations regarding the long-term viability of the system. In mine water, As accumulates in the sorbent mixture until saturation. Then, contaminant leaching may occur when the dissolved As concentration decreases during operation (with a change from 2.5 to 1.0 mg/L As tested in this study). A similar behavior has been observed in peatlands after long-term contaminant accumulation, where episodic inputs of diluted water — typically from snowmelt or rainfall — can induce the remobilization of As previously sorbed (Palmer et al., 2015; Khan et al., 2019).

A certain level of leaching of soluble organic and metallic compounds from the biofilter was observed within the first month of the experiment, as indicated by the coloration of the discharge water (Figure 4.8); however, this coloration did not seem to significantly change beyond month 1. The design successfully minimized potential obstructions to water flow and maintained

efficiency with a 1-day HRT, despite a 5 cm compaction within the system caused gradually by the weight of water-saturated materials.

4.6.5.4 Prokaryotic and fungal communities in the lab-scale biofilter system

Besides sorption, biogeochemical processes often greatly impact biofiltration systems for As removal, with the evolution and activity of microbial communities being influenced by operational or environmental conditions (i.e., influent composition, HRT, DO, DOC) (Aoyagi et al., 2017). A thorough understanding of microbial communities can contribute to optimizing the long-term performance of treatment systems, ensuring sustainable As removal and improving biofilter robustness.

The microbial populations present in NMD passive mine water treatment systems have been the subject of comparatively little study in comparison to AMD (Kujala et al., 2018). In total, 141,910 raw sequence reads were obtained, with a mean of 556 ± 209 (mean $\pm$ s.d.) OTU (operational taxonomic unit) per sample and 85 ± 190 reads per OTU. First, the prokaryotic communities were investigated on the phylum level (**Figure 4.9**). *Proteobacteria*, which dominates most habitats, accounted for 37% of the total reads in the lab-scale biofilter-Post samples (68% biofilter-Pre consisting of unused P50/AMD-S50 mixture), followed by *Bacteroidota* 16% (15%), *Acidobacteriota* 14% (4.0%), *Desulfobacterota* 11% (5.0%), and *Firmicutes* 6.0% (3.0%), with other phyla accounting for < 5% total reads. Studies worldwide have consistently shown the dominance of the above phyla in soils and residues contaminated with As-NMD, with a dominance of *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, often containing lower proportions of *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Chloroflexi*, and *Nitrospirota* (Fernandes et al., 2018; Kujala et al., 2018; Khan et al., 2019), providing high-level information about metabolic capabilities and responses to major environmental factors. *Proteobacteria* are often a dominant phylum in acidic natural peatlands and generally constitute about 50% of total bacteria in soils worldwide (Fernandes et al., 2018; Kujala et al., 2018; Pakostova et al., 2023).

In the present study, the proportion of *Proteobacteria* in the biofilter-Post decreased after 3 months of operation, being succeeded by *Bacteroidota*, *Acidobacteriota*, *Desulfobacterota*, and *Firmicutes* (which have all been detected previously in both soils and drainage, e.g., Pakostova et al., 2022, 2023). The composition of the bacterial communities can be affected by

the HRT; the abundance of *Bacteroidetes* and *Firmicutes* have been reported to suddenly rise with increasing HRT (from 5 to 25 h) in a biofilter treating NMD, indicating these groups might strongly correlate with metal(loid) concentrations (Aoyagi et al., 2017). However, a different bacterial community composition was reported in another study using rice bran in the biofilter and synthetic NMD of a different composition (315 mg/L SO_4^{2-} , 15.0 mg/L Zn) (Aoyagi et al., 2017). *Bacteroidota* (i.e., *Chitinophagales* [$\sim 1.0\%$], *Flavobacteriales* [$\sim 1.0\%$]) and *Firmicutes* (i.e., *Rhizobiales*) are known to contain species that are highly efficient degraders of complex carbohydrates (such as peat), using organic molecules as an energy source and producing high molecular-weight polymers (Kujala et al., 2018). *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, and *Actinobacteria* encompass many different types of metabolic strategies, including aerobic chemoheterotrophs (accounting for $> 40\%$ in this study; **Figure A3**), which were favored by DOC leached from peat (up to 22 mg/L) as well as the process parameters (HRT 24 h, Eh > 300 mV, DO ~ 10 mg/L; shown in **Figure 4.6**).

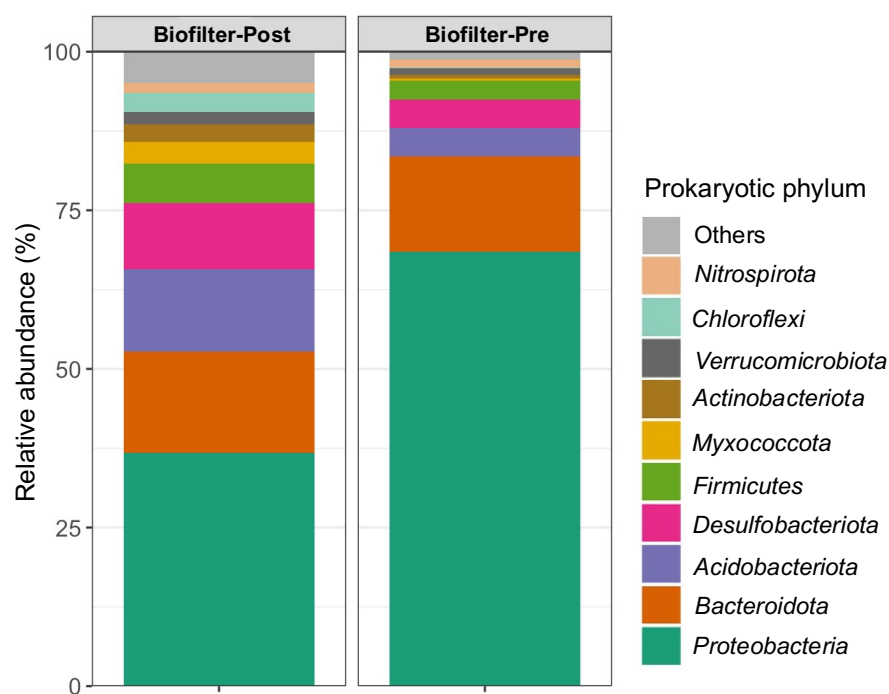


Figure 0.9

The mean relative proportions of 10 most abundant prokaryotic phyla in the lab-scale biofilter (biofilter-Post; n = 2) and biofilter-Pre (unused P50/AMD-S50 mixture; n = 1) samples.

The microbiome in the biofilter samples was further investigated on the genus level (**Table A2**). Prokaryotes involved in S and Fe redox transformations were among the most abundant genera (e.g., *Thiobacillus*, *Geothrix*, *Desulfuromonas*). These are discussed in more detail below. Other groups included bacteria commonly found in environmental samples, such as *Thermomonas* (inhabiting extreme geographical sites, such as hot springs or deep-sea hydrothermal vents), *Burkholderia* (found in soils and waters), *Rhodoferrax* (frequently found in stagnant aquatic systems exposed to light), *Nitrospira* (a ubiquitous bacterium that plays a role in nitrification), *Flavobacterium* (widely distributed with high abundances in aquatic systems), *Dokdonella* (containing many denitrifying species), and others.

Fungal diversity was analyzed. Among the most abundant fungal genera were the most frequent and globally distributed soil fungi: *Solicoccozyma*, *Entomortierella*, *Oidiodendron*, *Thelephora*, *Mortierella*, *Trichoderma*, and others. The most abundant fungus was *Solicoccozyma* (accounting for 37 and 13% of total reads in the biofilter-Pre and Post samples, respectively), the main function of which is biodegradation ([Stosiek et al., 2019](#)), and which has been detected in soil samples irrespective of pH and soil type ([Grządziel & Gałazka, 2019](#)). Other fungi detected involved other decomposers, producers of plant growth phytohormones, and symbionts with bacteria. Several members of the phyla discussed above are known to catalyze redox reactions involving Fe, S, and As, playing key roles in major biogeochemical cycles and affecting environmental chemistry and nutrient availability ([Kujala et al., 2018](#); [Kujala et al., 2020](#); [Pakostova et al., 2023](#)). Investigations of microbial populations are essential for our understanding of biogeochemical processes involved in contaminant removal, and the findings can improve the efficiency and stability of mine water treatment systems.

4.6.5.5 Role of selected metal(oid)-metabolizing prokaryotes

4.6.5.5.1 Genera metabolizing S and Fe

S- and Fe-oxidizing prokaryotes are often detected in mine environments ([Pakostova et al., 2022, 2023](#)) due to the high abundance of these elements, which can lead to the generation of mine drainage that can pose significant environmental hazards. All S-oxidizing prokaryotic genera that were detected in the biofilter-Post (6.1% of total reads) and biofilter-Pre (42%) samples in this study were neutrophiles (mainly *Thiobacillus* spp.); no acidophiles were

detected, which is consistent with the pH measurements. The very high abundance of *Thiobacillus* in the biofilter-Pre sample can be explained by the origin of the biofilter material containing mine sludge: without a fresh substrate (i.e., sulfides), the S-oxidizers were washed out from the biofilter system. Low proportions of sulfate-reducing bacteria (SRB) were detected in the biofilter-Pre sample (accounting for 3.2% of total reads) and in the biofilter-Post samples ($5.9 \pm 1.5\%$) (**Figure 4.10**), with *Desulfuromonas* being the most abundant SRB, accounting for 3.2 and 4.7% of total reads in biofilter-Pre and Post samples, respectively (**Table A3**). SRB are strict anaerobes, and their presence indicates that anoxic microenvironments might have been formed within the deeper, less accessible zones of the biofilter, such as peat dead-end pores and hyaline cells (El Kilani et al., 2021).

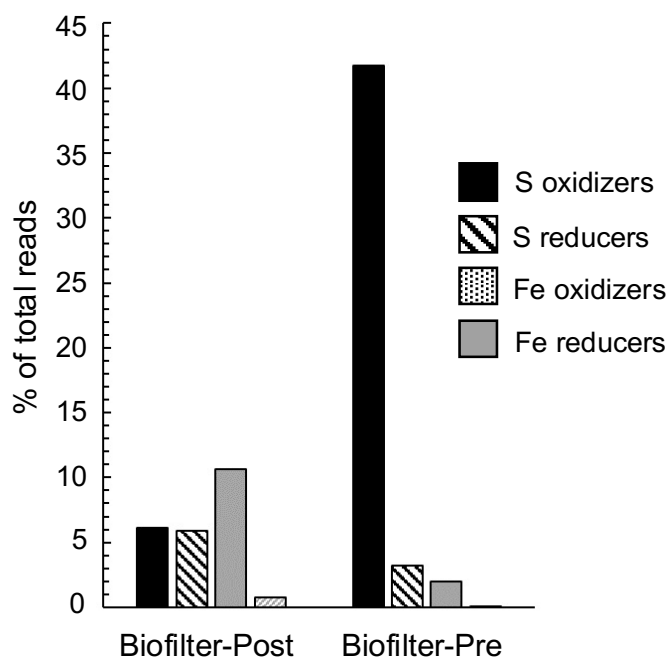


Figure 0.10

Relative abundances of S- and Fe-metabolizing prokaryotic genera in the biofilter-Post (n = 2) and biofilter-Pre (n = 1) samples.

As-NMD limits SRB establishment due to its low sulfate concentrations. Precipitation of metal sulfides occurs after three to five days with AMD (URS, 2003), but the HRT was only 1 day in the present study. However, As-NMD could generate more soluble sulfides than necessary to precipitate all soluble metals, resulting in additional toxicity. Several parameters influence the

activity of SRB, including water quality, temperature, salinity, pH, chemical oxygen demand (COD)/SO₄²⁻ ratio, natural organic wastes, and HRT (Neculita et al., 2008; Aoyagi et al., 2017; Ben Ali et al., 2020).

Despite the biofilter system not maintaining anoxic conditions, Fe-reducing prokaryotic genera (all neutrophilic) accounted for relatively high proportions in the spent biofilter material ($11 \pm 3.3\%$ of total reads; **Figure 4.10**), with *Geothrix* being the most abundant Fe-reducer (**Table A3**). Only $0.8 \pm 0.2\%$ of Fe-oxidizers (i.e., *Ferritrophicum* and *Gallionella*) were observed in the biofilter-Post sample (**Table A3**) due to the circumneutral pH of NMD and aerobic operation of the biofilter system, resulting in a low Fe²⁺ concentration in solution. Even lower proportions of Fe-metabolizing prokaryotes were detected in the biofilter-Pre sample.

4.6.5.5.2 As-metabolizing genera

Arsenic reduction-oxidation transformations are catalyzed by phylogenetically diverse As-metabolizing microorganisms (Hudson-Edwards & Santini, 2013; Kujala et al., 2020). Arsenate reduction occurs in anoxic peatlands used to treat As-contaminated mine wastewaters, and diverse As(V)-reducing microorganisms have been observed in such environments (Kujala et al., 2020). Under aerobic conditions, As(III) may be (re)oxidized and (re)mobilized via microbial catalysis; mine waters have been reported to harbor As(III)-oxidizing prokaryotes (Asta et al., 2012; Hovasse et al., 2016).

As(III)-oxidizing prokaryotes accounted for 3.3 and $1.6 \pm 0.0\%$ of total reads in the biofilter-Pre and biofilter-Post samples, respectively. Among the most abundant genera containing species known to oxidize As(III) (and/or the presence of genes involved in As(III) oxidation has been confirmed) were *Acidovorax*, *Burkholderia*, *Hydrogenophaga*, and *Pseudomonas*. In addition, arsenite oxidase genes have been detected in a *Thiobacillus* strain (**Table A2**; Rhine et al., 2007), while other strains of the genus are not expected to possess As-metabolizing genes. The biofilter-Pre and Post samples contained 1.2 and $1.9 \pm 0.2\%$ of As(V)-reducing prokaryotes, respectively, with *Geobacter* accounting for approximately 1.0% of total reads in the samples. However, SO₄²⁻-reducers can contribute to As(V) reduction indirectly (via reduction by bacterially generated sulfate) but potentially also directly (as genes involved in As(V) reduction have been detected in e.g., *Desulfuromonas*, *Desulfomicrobium*, and *Desulfobacterium* spp.; Kujala et al., 2020).

Overall, the bacteria involved in As cycling were present with low abundances, and although rare microbiota have previously been proven to sustain significant metabolic functions in a number of environments, it is probable that microbes did not play an important role in As removal in the biofilter, which was based on As sorption under oxic conditions (as opposed to As(V) reduction in anoxic peatlands).

4.7 Conclusion

Passive biofilters are low-cost and environmentally sustainable treatment systems that harness sorption and microbial mediated processes to remove contaminants from mine water. They represent a nature-based solution for the long-term management of As-NMD and offer additional value by contributing to the restoration of ecosystems affected by mining activities. By improving effluent quality before discharge into receiving environments, biofilters help protect aquatic ecosystems and reduce the long-term environmental footprint of mining operations. However, successful biofilter implementation requires a stepwise scale-up approach, beginning with batch experiments to assess the performance of candidate sorbent materials before moving to continuous mode systems and ultimately field deployment.

The efficiency of various peat and AMD-S mixtures was assessed for As(V) removal from synthetic and real mine drainage (up to 2.5 mg/L As) in batch reactors and a lab-scale biofilter operated in a continuous mode. Varying As removal efficiencies were obtained with nine sorbent mixtures in batch reactors, with As release observed during the first hours of testing (together with release of Fe, S, and DOC), especially in systems with high proportions of peat in the sorbent. The P50/AMD-S50 mixture containing 50 wt% peat and 50 wt% AMD-S proved to be effective in As removal, with the final leachates meeting the Canadian federal discharge criteria (< 0.3 mg/L As). At equilibrium, As adsorbed per mass of P50/AMD-S50 was 104.1 ± 5.0 $\mu\text{g/g}$ with synthetic As-NMD, compared to 33.38 ± 10.77 $\mu\text{g/g}$ with real As-NMD (using data obtained at both 22 and 5°C). Geochemical equilibrium modeling showed that sorption onto Al-, Fe-(oxy)hydroxides, and organic matter can be considered the major mechanism of As removal in the systems. Other factors, such as mineral precipitation, redox conditions, or competition with other ions, could also influence As mobility. The continuous lab-scale biofilter was operated at a 1-day HRT for 107 days, with pH close to neutral values. In the first 27 days, the system showed a high removal efficiency, particularly at the onset of

the test (98%), which gradually decreased. This is most likely explained by a diminution of the number of available active sorption sites in the mixture. However, the initial successful As removal was compromised in later stages by saturation of the biofilter sorption sites and gradual release of previously adsorbed As. Analysis of prokaryotic populations showed the dominance of *Proteobacteria*, *Bacteroidota*, *Acidobacteriota*, *Desulfobacterota*, and *Firmicutes* in the biofilter samples, with relatively high abundances of Fe-reducing *Geothrix* (11% of total reads) and sulfur-oxidizing *Thiobacillus* (6.1%). Low proportions of As-metabolizing genera were detected in the samples, suggesting that the biological catalyzation of As did not play a significant role in the sorption-based system.

The present study provides insights into As removal from As-NMD using passive treatment based on natural materials. The results refine design considerations and operational parameters, supporting the potential of biofilters as sustainable tools for long-term mine water management. However, remobilization of As from the sorbent highlights a critical issue that needs to be addressed to ensure the long-term stability and sustainability of similar systems. In addition, we recommend that As removal should be tested under field conditions, as laboratory conditions cannot emulate the complexity of a large-scale *in situ* biofilter within a real mining context.

Acknowledgements. This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Canada Research Chairs Program, Mitacs, Ministry of Natural Resources and Forestry (MRNF), and the industrial partners of RIME UQAT-Polytechnique, including Agnico Eagle Mines, Iamgold, Raglan Mine–Glencore, and Rio Tinto. The authors would like to thank the Dhilmar Éléonore mine staff for their support and the URSTM team, in particular Dr. Étienne Bélanger, for his expertise and advice.

5. ARTICLE 2

PERFORMANCE OF FIELD-PILOT PASSIVE BIOFILTERS USING PEAT AND FE-RICH SLUDGE TO REMOVE ARSENIC FROM NEUTRAL MINE DRAINAGE UNDER A SUBARCTIC CLIMATE²

Xavier Marc Thevenot¹, Tomy Roy¹, Eva Pakostova^{2,3,4}, Eric Rosa^{1,5}, Lucie Coudert¹, Carmen Mihaela Neculita^{1,*}

¹Research Institute on Mines and the Environment (RIME), University of Québec in Abitibi-Témiscamingue (UQAT), Rouyn-Noranda, QC, Canada, J9X 5E4

²MIRARCO Mining Innovation, Sudbury, ON, Canada, P3E 2C6

³Goodman School of Mines, Sudbury, ON, Canada, P3E 2C6

⁴Department of Earth and Environmental Sciences, University of Waterloo, Waterloo, ON, Canada, N2L 3G1

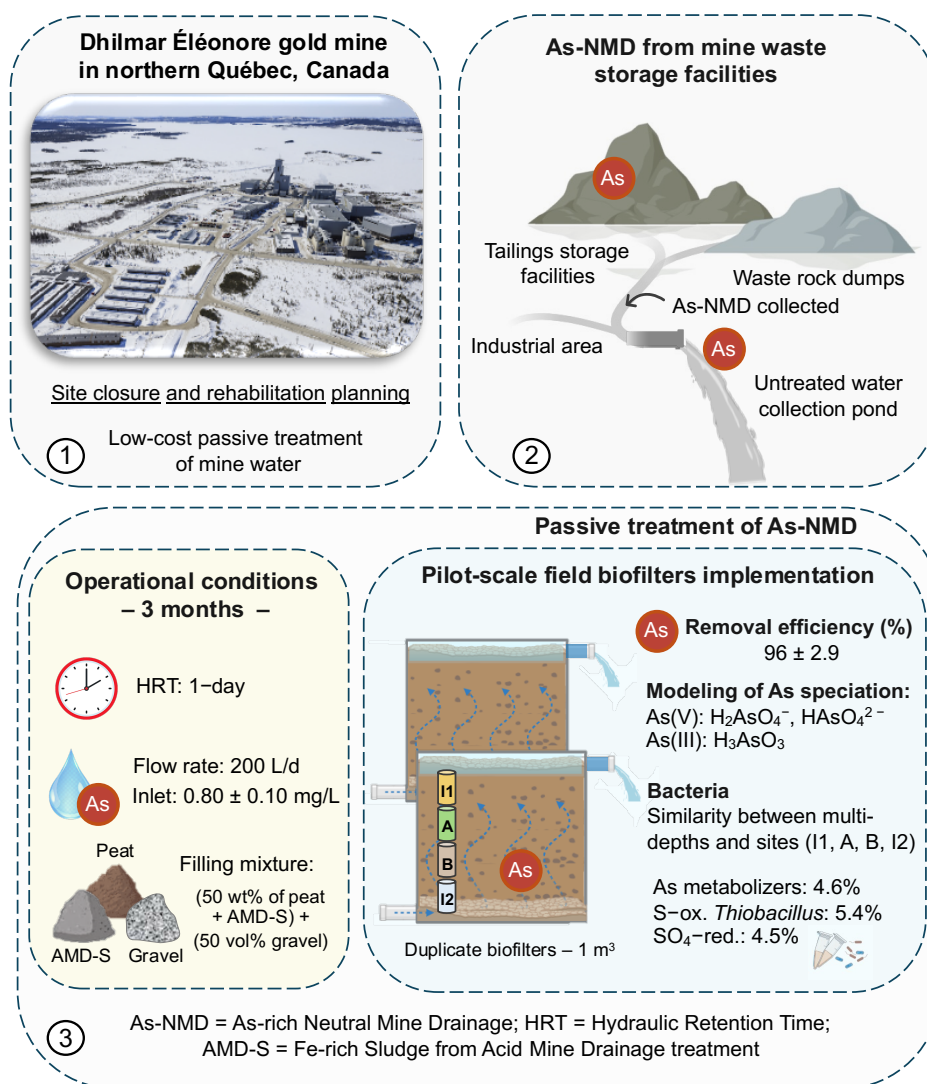
⁵Groundwater Research Group, UQAT, Amos, QC, Canada, J9T 2L8

*Corresponding author email: Carmen Mihaela Neculita

Cet article est publié dans la revue *Science of the Total Environment*.

²Thevenot, X.M., Roy, T., Pakostova, E., Rosa, E., Coudert, L., Neculita, C.M., 2025. Performance of field-pilot passive biofilters using peat and Fe-rich sludge to remove arsenic from neutral mine drainage under a subarctic climate. *Sci. Total Environ.* 993, 179984.

5.1 Graphical Abstract



5.2 Highlights

- A pilot-scale field biofilter was continuously operated for 3 months at an active mine
- The filling mixture contained 25 wt% peat, 25 wt% Fe-rich sludge, and 50 wt% gravel
- >95% As was removed (from 0.80 mg/L influent) disregarding temperature variations
- Thermodynamic equilibrium calculations indicate dominance of As(V) over As(III)
- The presence of As- and S-metabolizing prokaryotes indicate active element cycling

5.3 Abstract

Effective mitigation of As-rich neutral mine drainage (As -NMD) is critical for responsible mine sites rehabilitation. This study evaluated the performance of pilot-scale field biofilters for As removal from As-NMD. Two duplicate biofilters were filled with a mixture of organic material (peat) and Fe-rich sludge from acid mine drainage treatment, and set-up at an active gold mine in northern Québec, Canada. The biofilters, designed with an upward vertical flow and a volume of 1 m³, were operated for three months with a 1-day hydraulic retention time. An As removal efficiency of $96 \pm 2.9\%$ was maintained for 3 months, with final As concentrations of 0.04 ± 0.02 mg/L, in compliance with regulation. At the onset of the test, a first flush effect was noticed, resulting in the leaching of As, Fe, and dissolved organic carbon. However, the performance of biofilters stabilized within 5–10 days, with As removal primarily driven by sorption to Fe-(oxy)hydroxides and organic matter. The presence of neutrophilic prokaryotes that catalyze transformations of S and As at circumneutral pH indicated the occurrence of complex biogeochemical cycling. The mean abundance of As-metabolizers was 4.6% of total reads in the biofilter samples, while sulfur-oxidizers (highly dominated by *Thiobacillus* spp.) and sulfate reducers accounted for 5.6%, and 4.3%, respectively. While the design of the pilot-scale field biofilter showed promising results for As removal, further studies are necessary to assess its long-term performance including the influence of lower temperatures fluctuation, hydraulic conductivity decrease, and mineral phase stability.

Keywords: As-rich NMD, Fe-rich sludge, passive treatment, peat, microbial diversity

5.4 Introduction

Mine site rehabilitation presents significant environmental, financial, and social liabilities for gold mining companies and governments. Arsenic-rich neutral mine drainage (As-NMD; pH 6–9) is a major challenge associated to mining industry due to the weathering of As-bearing minerals (Hou et al., 2023; Mehdaoui et al., 2025). As-NMD can contain contaminants such as metallic elements (i.e., Cu, Fe, Mn, Zn, Sb) (Khan et al., 2019), nitrogen-based compounds (i.e., cyanates, cyanides, NO_2^- , NO_3^-), or salinity (i.e., K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-}), which can increase As oxyanion mobility (Northrup et al., 2018) and disrupt microbial processes involved in As cycling (Kujala et al., 2022).

The speciation of As oxyanion in water is governed by pH and redox conditions, while oxygen-consuming species, such as organic matter and sulfur, can create reducing conditions increasing As(III) prevalence. In peatlands, As(III) proportions remain low in surface water but can reach up to 80% of total As below 90 cm (Besold et al., 2018). Under such conditions, As(III) dominates and is both more toxic and mobile than As(V) (Liu et al., 2025), but immobilization via microbial oxidation has been reported in natural systems (Kujala et al., 2022, 2024). Given that As concentrations in As-NMD can reach up to 45 mg/L (Nordstrom et al., 2015), well above Canada's federal regulation ($\text{As} \leq 0.3 \text{ mg/L}$) (Canadian Minister of Justice, 2024) and Québec's provincial guideline ($\text{As} \leq 0.1 \text{ mg/L}$) (MELCCFP, 2025), efficient treatment is needed for regulatory compliance.

Active treatment methods, although effective, are costly and resource-intensive, making them impractical for long-term rehabilitation of closed mine sites (Hengen et al., 2014). In contrast, (semi)-passive treatment offers a promising and cost-effective alternative. Northern peatlands are sometimes used as natural polishing units for As-NMD (Khan et al., 2019; Kujala et al., 2024), with microbial communities adapted to moderate contaminant levels and harsh winter conditions (Kujala et al., 2022, 2024). These systems promote natural biogeochemical processes, including microbially catalyzed As(III) to As(V) oxidation and subsequent immobilization (Kujala et al., 2022) via organo-complexation, sorption, and coprecipitation onto (oxy)hydroxides. However, given their ecological value and vulnerability, using natural peatlands for As-NMD treatment raises environmental and conservation concerns. Engineered biofilters, filled with low-cost natural and residual materials, mimic peatland

treatment functions without disturbing natural ecosystems. They offer a viable option for remote mine sites and large-scale applications (Jacob et al., 2022; Wolkersdorfer 2022; Mehdaoui et al., 2025), may remain effective for decades (Mehdaoui et al., 2025) to centuries (Beining & Otte, 1997), while their performance for real effluents (e.g., As-NMD) remains little documented (Mehdaoui et al., 2025). Hydrogeochemical factors, such as influent water quality (Khan et al., 2019), seasonal changes (Northrup et al., 2018; Kujala et al., 2024), redox gradients (Courchesne et al., 2021; Mehdaoui et al., 2025), and hydraulic retention time (HRT) (Khan et al., 2019; El Kilani et al., 2021; Jarvis et al., 2023) can influence the long-term performance of passive biofilters.

Although previous laboratory-scale studies have investigated the use of biofilters filled with peat (Gogoi et al., 2018; Heiderscheidt et al., 2020a; Thevenot et al., 2025), their performance under field conditions remains site-specific (El Kilani et al., 2021) and not fully understood. Peat, due to its high porosity (El Kilani et al., 2021) and cationic exchange capacity (Rakotonimaro et al., 2021), has been used for metal removal (i.e., Ni, Fe, Cu) (Shotyk et al., 1992; Rakotonimaro et al., 2021) via sorption mechanisms such as ion exchange, complexation, and adsorption (Crist et al., 1996), with an optimum pH range of 3.5 to 6.5 (Brown et al., 2000). While peat use gave promising results in As-NMD polishing for trace As concentrations ($\mu\text{g/L}$), higher As concentrations are found in mine effluents during rehabilitation (mg/L). These limitations, coupled with unpractical biofilter configurations (e.g., low hydraulic conductivity, poor settling capacity, pore-scale controls) (McCarter et al., 2020; Heiderscheidt et al., 2020a), especially in cold climate (Gogoi et al., 2018; Heiderscheidt et al., 2020b), make peat alone unsuitable for As-NMD treatment.

Inorganic residual materials present on mine sites or nearby can also be used for filling passive biofilters (Kawazoe et al., 2023). Their use depends on local availability, economic value, disposal constraints, and transportation costs (Hengen et al., 2014; Wolkersdorfer 2022). The use of Fe-rich materials, such as low-cost Fe-filings (Sekula et al., 2018) or sludge from acid mine drainage (AMD-S) treatment (Kawazoe et al., 2023), has been reported as effective for As removal by sorption onto Fe-, or Al-(oxy)hydroxide particles (Sekula et al., 2018; Kawazoe et al., 2023). Sorption onto Fe-(oxy)hydroxides was the primary removal mechanism during As-NMD treatment (Sekula et al., 2018) when a Fe-rich filling mixture was used.

However, AMD-S may generate residual contamination when used in biofilters, with respect to its composition, which depends on factors such as ore composition, reagents, filtration quality, and storage time (Thevenot et al., 2025). Filling mixtures of overburden peat and inorganic AMD-S from Geotube® dewatering gave promising results to treat As-NMD at a laboratory scale (Thevenot et al., 2025). Although biofilters filled with peat and AMD-S represent a promising option for As-NMD treatment, their performance under field conditions remains uncertain.

In this context, the present study addresses the ongoing need for sustainable and low-cost solutions for the treatment of As-NMD in remote, high-latitude mining regions. It evaluates the performance of a pilot-scale biofilter filled with peat and AMD-S under field conditions during a period of operational accessibility. In parallel, thermodynamic modelling and microbial community analysis were conducted to investigate the geochemical and biological processes involved in As immobilization. This study contributes to the advancement of passive treatment technologies that are adaptable, scalable, and suitable for long-term deployment in regions where conventional infrastructure is limited.

5.5 *Materials and methods*

5.5.1 Study site and wastewater management processes

The Dhilmar Éléonore underground gold mine, operational since 2014, is located in the Eeyou Istchee James Bay municipality, northern Québec, Canada (**Figure 5.1**). The closest towns are the Cree communities of Eastmain and Nemaska, each located over 150 km away from the site. The mine site has a subarctic climate (taiga) with permafrost vegetation and the landscape is characterized by widespread ombrotrophic peatlands. The valley in which the mine waste storage facilities (WSF; containing tailings and waste rock piles) is covered by an ombrotrophic peatland over ~75% of its surface area (Lauzier et al., 2022). The remaining area consists of open forest, predominantly black spruce and jack pine, which was partially burned in the last decades, and most recently in 2024. The region received a mean annual precipitation of 713 ± 122 mm (2015–2024) with an average temperature ranged from $-22.5 \pm 2.6^\circ\text{C}$ in winter to $20 \pm 1.1^\circ\text{C}$ in summer (Dhilmar Éléonore, 2024, internal data).

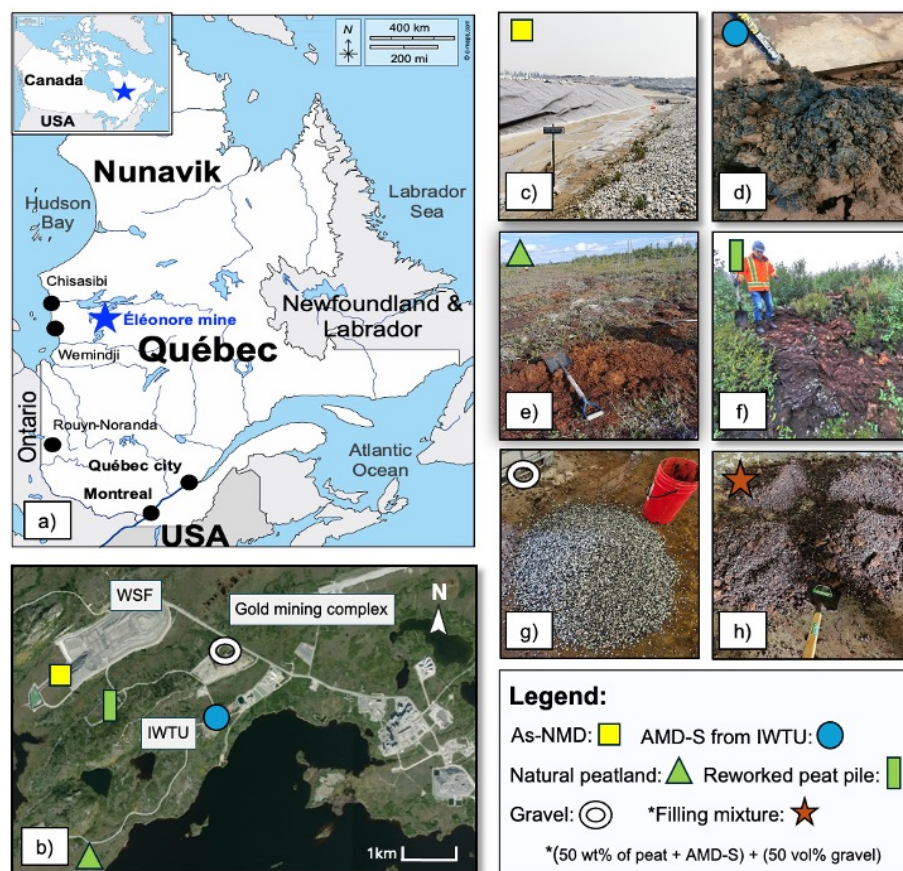


Figure 11.1

Location of the Dhillmar Éléonore gold mine in northern Québec (a) (adapted from <https://d-maps.com/>), and (b) site map showing the location of sampling sites for As-NMD (c), AMD-S (Sludge from the active treatment of Acid Mine Drainage) (d), peat (e, f), gravel (g), and the filling mixture (h). Legend: As-NMD : As-rich Neutral Mine Drainage; WSF : Waste Storage Facility; IWTU : Industrial Water Treatment Unit.

Ore mineralization includes As-/S-bearing minerals such as pyrrhotite (Fe_{1-x}S), pyrite (FeS_2), löllingite (FeAs_2), and arsenopyrite (FeAsS), with trace amounts of chalcopyrite (CuFeS_2), gersdorffite (NiAsS), breithauptite (NiSb), ulmanite (NiSbS), galena (PbS), and cobaltite (CoAsS) (Fontaine, 2019). The Éléonore complex includes a processing plant, an industrial water treatment unit (IWTU), and a WSF (Figure 5.2). Ore with 2–5 wt% sulfur is desulfurized (< 0.3 wt% S), cyanide is removed, and tailings are filtered (14 wt% water content) before storage to the WSF. These desulfurized tailings have been shown to generate As-NMD (Rakotonimaro et al., 2021). The IWTU treats a diverse range of raw waters, including underground water, AMD from the concentrator, laboratory, untreated water collection pond, industrial retention areas, and As-NMD from the WSF (Figure 5.2).

The reagents used for water treatment, including lime (CaO), ferric sulfate ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), caustic soda (NaOH), sulfuric acid (H_2SO_4), and potassium permanganate (KMnO_4), facilitate precipitation of metal(loid)s (i.e., As, Fe) and total suspended solids (TSS) in AMD-S produced in Geotubes[®]. A moving bed biofilm reactor (MBBR) effectively removes nitrogen compounds (Figure 5.2). Ultimately, the AMD-S is periodically transported to the WSF.

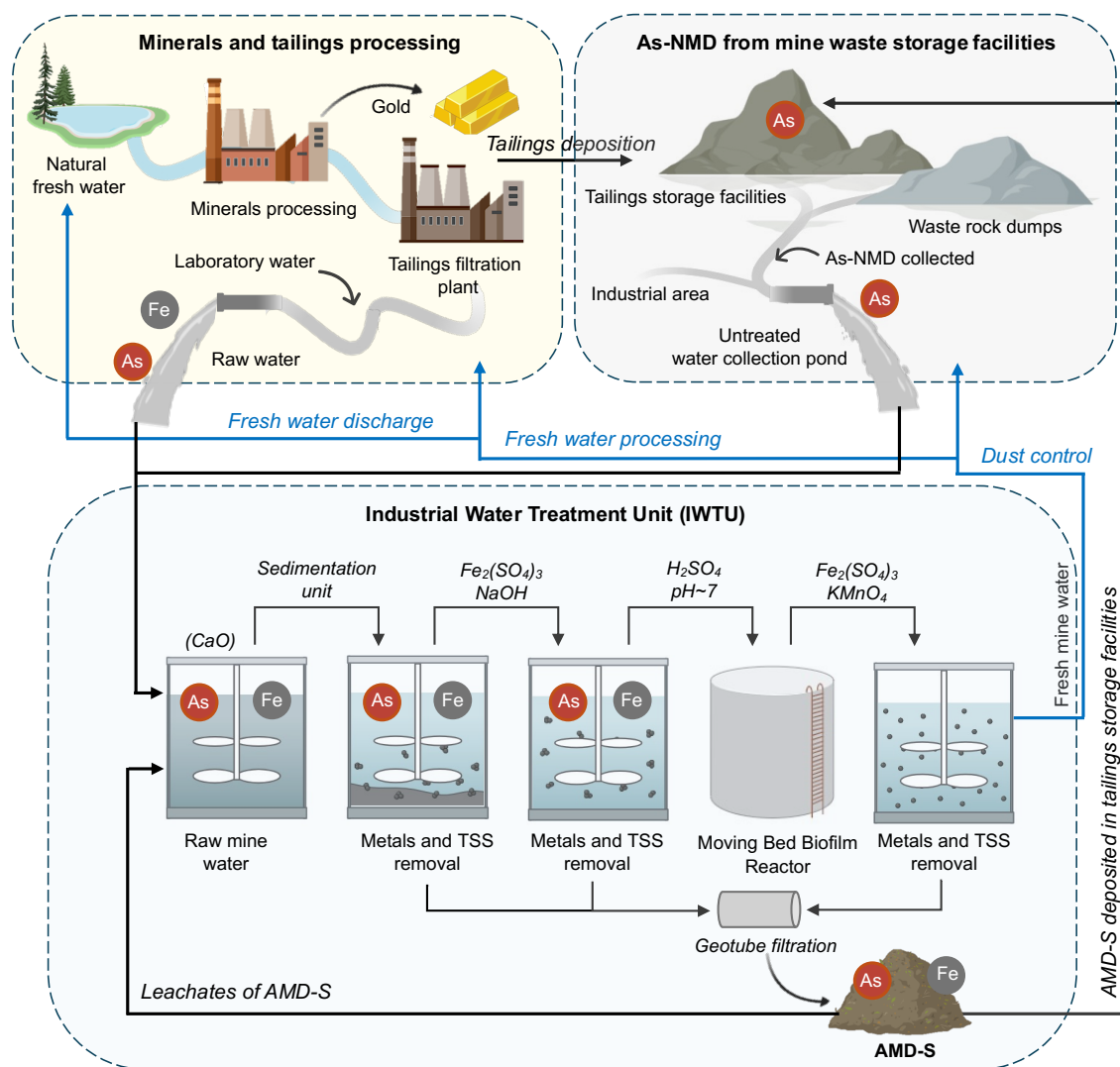


Figure 5.12
Simplified flowsheet of the Dhillmar Éléonore gold mine water treatment process and location of As-NMD and AMD-S sampling streams.

5.5.2 As-NMD and materials sourcing

5.5.2.1 As-NMD sampling

As proxy of future conditions, As-NMD was sampled 100 m downstream of the WSF, prior to discharge and dilution in the raw water pond (**Figure 5.1c, 2**). This location ensured that the As-NMD supplied to the biofilter inlets reflected a worst-case scenario in terms of water physicochemical quality. Sampling was conducted from August to November 2023, during the non-frozen period when WSF mine water was accessible for treatment within the short operational season. A total of 36 m³ As-NMD was collected using a pump and stored in 1 m³ containers that fed the two pilot-scale field biofilters (**Figure 5.3**). The samples were divided into three batches (12 m³ each), collected at 30-day intervals, to minimize disruptions to mining operations. The physicochemical parameters of As-NMD (in all three batches) are shown in **Table B1**. The As concentrations exceed Canadian criteria ($\text{As} \leq 0.30 \text{ mg/L}$, MDMER) ([Minister of Justice of Canada, 2024](#)), and Québec's provincial guideline ($\text{As} \leq 0.10 \text{ mg/L}$, D019) ([MELCCFP, 2025](#)).

5.5.2.2 Preparation and characterization of biofilter mixture

The construction and expansion of WSF led to the destruction of a 28-ha natural peatland, creating a reworked peat pile (approximately 300,000 m³), southern boundary of which is surrounded by a 12-m high dike (**Figure 5.1**). This reworked peat pile is currently unused. To ensure that the biofilter material used in this study would reflect conditions expected at mine closure, peat samples were collected from two sources: i) a nearby natural peatland, and ii) a reworked peat pile containing both catotelm and acrotelm layers (**Figure 5.1e, f**). The peat samples were collected in August 2023 and mixed using a shovel. AMD-S samples were also extracted (using a manual drill) from several Geotubes[®], at various depths, and mixed to obtain a representative AMD-S sample (**Figure 5.1d**). The AMD-S and peat (~300 kg each) were combined in a 1:1 dry weight ratio (P50/AMD-S50). Natural gravel (5–10 mm) was collected in the vicinity of the mine site, washed with clean water to remove fine particles, and combined in equal volume with the P50/AMD-S50 mixture. The filling mixture was used to fill the biofilters (**Figure 5.1g, h**). Solid particles, such as gravel, were also added to increase hydraulic conductivity, prevent compaction, and maintain material permeability over time

(Wolkersdorfer 2022). Coarse inert material also filter the fine particles and limited the outflow of the biofilter filling material and microbial biomass.

The effective porosity (n_{eff}) of the filling mixture was estimated ($n = 3$) by placing the mixture samples in 1-L beakers and measuring the water volume required to fill the pore space. Specific density (g/cm^3) of the mixture was measured in triplicate with a Micromeritics AccuPyc 1330 helium gas pycnometer (ASTM International, 2008). The fiber content in peat was determined ($n = 3$) by wet sieving (Boelter, 1969). Particle size distribution was determined by a laser Mastersizer (Malvern) for AMD-S, and by dry sieving for gravel. The 90th percentile particle size by weight (D_{90}) was then calculated.

5.5.3 Operational design of the biofilters

Pilot-scale field biofilters were built in duplicate (Table 5.1; Figure 5.3) using the prepared mixture and operated for 3 months in upward vertical flow configuration, which was reported as more efficient (Wolkersdorfer 2022). This design minimizes the accumulation of fine particles at the bottom and the hydraulic conductivity decreases, while extending the HRT.

Table 0.1
Physical properties of the materials used in the biofilters.

	Volume (m^3)	Particle size (D_{90})	Specific density (g/cm^3)	Effective porosity (n_{eff})
Gravel	0.325	48 mm	2.68 ± 0.00	0.31 ± 0.00
Peat	0.244	1.8 mm	1.44 ± 0.01	0.36 ± 0.02
AMD-S	0.081	72 μm	2.60 ± 0.00	–
P50/AMD-S50	–	–	2.08 ± 0.03	0.23 ± 0.00
Filling mixture	0.650	–	2.59 ± 0.00	0.30 ± 0.01

Data are means $\pm$ standard deviation (s.d.) of triplicate samples

The biofilters operated under upward-flow conditions (Figure 5.3), allowing the treatment of As-NMD without the need for external energy inputs. Prior to each filling of the As-NMD high-density polyethylene storage containers (1 m^3 each), the mine effluent was allowed to settle for 1-day to promote the settling of sand, silt, and clay. This step minimized the transfer of fine particles into the biofilters, thereby preventing clogging of the porous filling mixture and preserving long-term hydraulic performance. Each biofilter contained 0.65 m^3 of mixture placed

between two 0.15 m³ layers of gravel, with additional 0.10 m³ of void space at the top to prevent uncontrolled overflow (**Table 5.1**; **Figure 5.3c**).

The nominal effluent flow rate was calculated using the following equation:

$$Q = (V_t \times n_{\text{eff}})/\text{HRT} \quad (5.1)$$

Where V_t is the total volume of saturated filling mixture (0.65m³), n_{eff} is the effective porosity of the filling mixture (estimated at 0.3 based on laboratory measurements; **Table 5.1**), and Q is the nominal daily outflow rate (195 L/day). Flow rates were manually monitored and adjusted as needed using a graduated container and stopwatch. Over 55 measurements confirmed stable flow conditions between 185–215 L/day, averaging 200 L/day.

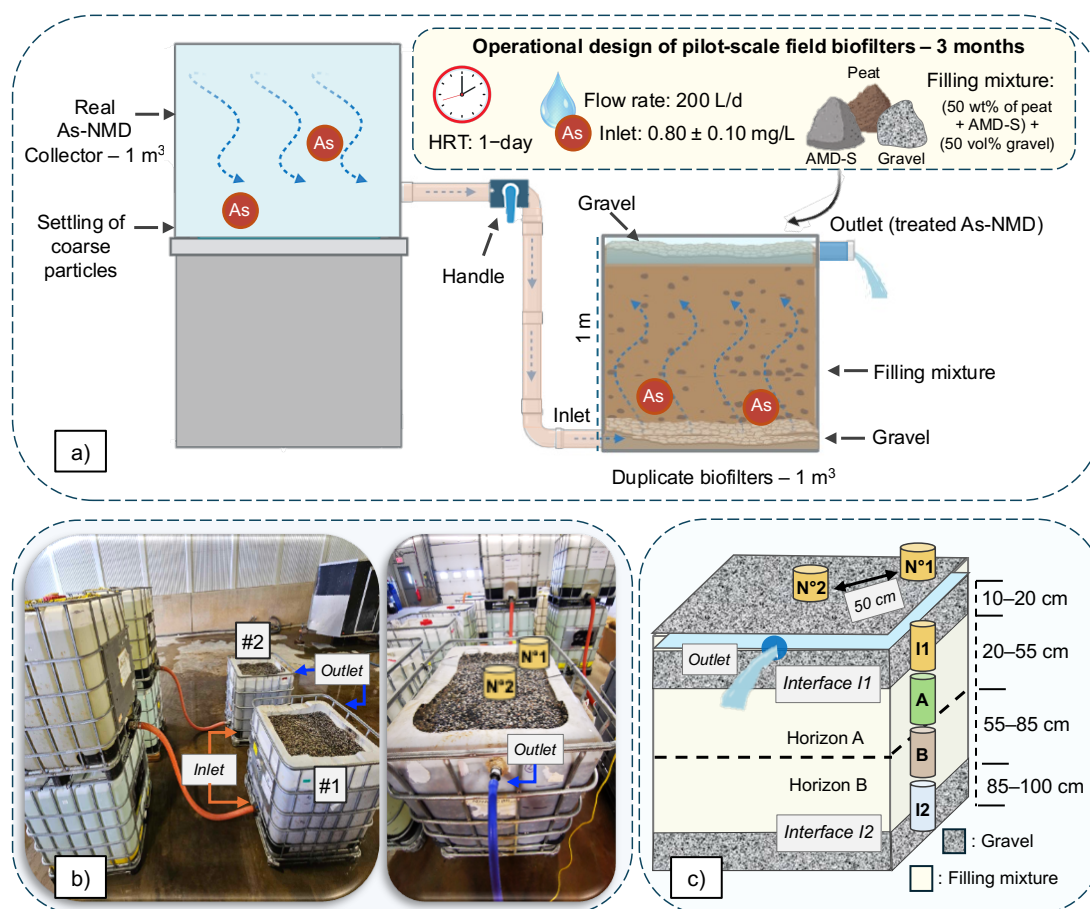


Figure 5.13

Schematic representation (a), photographs (b), and cross-section (c) of the biofilters built to treat As-NMD. Cores n°1 and n°2 indicate solids sampling locations and the corresponding depths (I1, A, B, I2) from which samples were collected.

To reduce preferential flow, the biofilters were gradually saturated with As-NMD over a 4-day start-up period. Preferential flow can reduce treatment efficiency by shortening the HRT. Conversely, progressive clogging by fine mineral and organic particles can reduce the porosity and permeability of the filling mixture, potentially leading to hydraulic failure (Heiderscheidt et al., 2020b). The biofilters were operated for 95 days without clogging or compaction, indicating stable hydraulic performance during the operational period. The biofilters provided protection by placing them in an air-open shelter, while exposing them to temperature fluctuations. During dismantling, two cores (n°1 and n°2) were sampled at four different depths: I1 (10–20 cm), A (20–55 cm), B (55–85 cm), and I2 (85–100 cm) (**Figure 5.3c**). The physicochemical characteristics of the pore water collected from each depth are shown in **Table B2**. The data, together with sequencing data analyzing prokaryotic populations, was used to investigate the biogeochemical processes occurring within the biofilters.

5.5.4 Leachate quality monitoring and As speciation

Leachates from the bioreactor outlets were collected weekly and analyzed for temperature, pH, dissolved oxygen [DO], redox potential [Eh], electrical conductivity [EC], salinity, alkalinity, dissolved organic carbon [DOC], and concentrations of cations and anions. The physicochemical parameters were measured *in situ* using an YSI Professional Plus portable multimeter, whereas alkalinity was measured with a Metrohm Brinkmann 716 DMS Titrino titrator in laboratory (APHA, 2012). ORP values were corrected to the standard hydrogen electrode potential (+204 mV) for Eh calculation. DOC was analyzed in triplicate on filtered (0.45 µm) and acidified (0.1% v/v HCl) sub-samples, using a SHIMAZU TOCVcph infrared analyzer at 680°C (CEAEQ, 2016). Cation concentrations were measured in filtered (0.45 µm) and acidified (2% v/v HNO₃) samples using a PerkinElmer 3000 DV ICP-OES (detection limit for As: 0.03 mg/L). Anions were quantified by ion chromatography (Metrohm 881 Compact IC Pro) in filtered (0.45 µm) aliquots.

Arsenic speciation (III, V) was analyzed at the onset of the test, downstream from WSF, using solid-phase extraction cartridges (Agilent Technologies). The strong cation exchange (SCX) and strong anion exchange (SAX) were preconditioned following the solid-phase extraction cartridge methodology (Watts et al., 2010). A filtered (0.45 µm) 30-mL sample was passed

through the SCX and SAX cartridges. As(III) which passed through the cartridges, was collected in the effluent, acidified (2% v/v HNO₃), and determined by ICP-OES. The As(V) species, sorbed on the cartridges, were eluted with 5 mL of 80 mM acetic acid, followed by 5 mL of 1 M nitric acid, and then quantified by ICP-OES. Methylated As species (MMA, DMA) were not quantified, as the measured As(III) and As(V) concentrations accounted for total As. Due to the remote location of the mine site, all samples that were not analyzed on site were stored at 5°C prior to transport to laboratory for analysis.

Arsenic speciation in the biofilters was modeled using PHREEQC version 3.7.0, with equilibrium calculations based on the geochemical parameters (**Table B2**) and the WATEQ4F.dat database. Mosaics of Eh–pH diagrams were then generated using Geochemist's Workbench® Community Edition, based on the equilibrium speciation outputs from PHREEQC (no kinetic reactions), to assess As speciation and potential mobility in the biofilters.

5.5.5 Microbiological analysis and data processing

Microbiological analysis of prokaryotic and fungal communities was performed on samples collected from two cores retrieved at specific locations (n°1 and n°2; **Figure 5.3**) and four distinct depths (I1, A, B, I2; **Figure 5.3**) on a decommissioned biofilter. Samples were stored at –20°C prior to DNA extraction and sequencing, carried out by Metagenom Bio Life Science (Waterloo, ON, Canada). Total genomic DNA was extracted with the Sox DNA Isolation Kit. The 16S rRNA gene (V4 region) for prokaryotes and the 18S rRNA gene (ITS1 region) for fungi were amplified, followed by sequencing on the Illumina MiSeq platform.

5.5.6 Bioinformatic, statistical, and multivariate data analysis

Demultiplexed sequences were processed using cutadapt DADA2 v.1.22. Reads were truncated based on decreasing quality scores, followed by assembly, quality filtering (chimera and organelle removal), and taxonomic assignment. The taxonomy of prokaryotic and fungal communities was assigned using the IdTaxa algorithm from the DECIPHER package ([Murali et al., 2018](#)), and the communities were investigated on the phylum and genus levels. Due to a low number of fungal sequences (< 900), one core sample (n°1) was disregarded. Prokaryotic diversity was investigated further. A multi-depth and multi-site sampling strategy enabled a detailed exploration of the spatial distribution of prokaryotes and their influence on

biofilter efficiency. The taxonomy of prokaryotic communities was investigated on different taxonomy levels, and the taxonomy files were screened for microorganisms involved in As-, S-, or Fe-transformations. Functional profiles (e.g., traits, functions) for each taxon were predicted using FAPROTAX software (Louca et al., 2016). Some diversity indices (e.g., Shannon, Simpson, Chao1, Piélou) were used to compare the α -diversity between each sample of the same depth. β -diversity was assessed along with the biofilter profile, with prokaryotic communities compared for different depths using the Bray-Curtis dissimilarity and visualized using principal coordinates analysis (PCoA). In addition, the correlations between β -diversity and pore water physicochemical parameters were investigated at each sampled depth. The non-parametric Wilcoxon (W) test was used to compare the distribution of operational taxonomic units (OTUs) between sample pairs, while the Kruskal-Wallis (KW) test was used to compare distributions among multiple groups. Subsequently, the Dunn test was applied as a post-hoc analysis to perform pairwise comparisons following a significant KW test. All metabolic, statistical analyses and figures were conducted with *microeco* package (1.12.0) in R within the RStudio environment (version 2023.12.1) (Liu et al., 2021).

5.6 Results and discussion

5.6.1 Pilot-scale field biofilter treatment of As-NMD

5.6.1.1 Evolution of physicochemical parameters

The pH was circumneutral in the biofilter effluent, ranging from 6.7 to 7.9 and showing a minor decrease relative to initial As-NMD (**Figure 5.4**). Both biofilters required up to 20 days to stabilize at a pH of approximately 7.2, while the inlet pH averaged 7.7 over 3 months. The pH decrease occurred likely due to the high peat content (37.5% v/v) in the mixture, as peat has been shown to naturally acidify water (McCarter et al., 2020). During acclimatization, the prolonged HRT and DOC leaching from fine peat particles (reaching up to 32 mg/L) exacerbated this phenomenon. The mean DOC concentration at the inlet was 12.7 ± 0.5 mg/L, while outlet concentrations reached 16.5 ± 5.6 mg/L for biofilter #1 and 15.6 ± 5.8 mg/L for biofilter #2. After the initial flush, DOC leaching was minimal, probably due to the gravel layer preventing suffusion of fine particles (**Figure B2**).

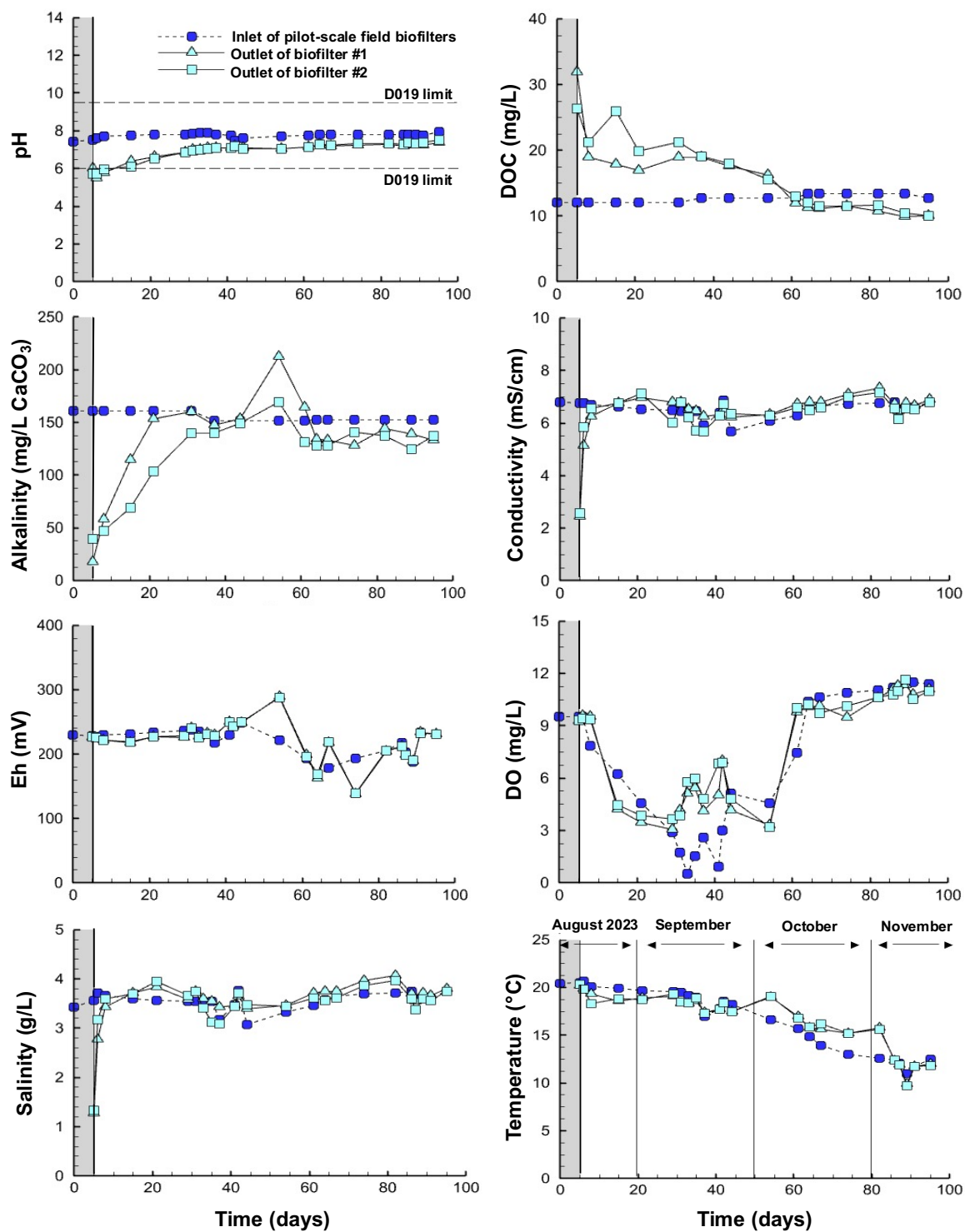


Figure 5.14

Evolution of pH, DOC, alkalinity, EC, Eh, DO, salinity, and temperature over 3 months at the inlet and outlets of the duplicate pilot-scale field biofilters. The grey area corresponds to the biofilters' start-up phase.

Previously, up to 147 mg/L DOC have been reported in the pore water from the tailings with the non-compacted peat (Rakotonimaro et al., 2021). Untreated As-NMD showed high alkalinity, probably due to residual neutralizing agents (e.g., lime and carbonate) in amended tailings (Table B1). The high cation exchange capacity of peat facilitated the exchange of Ca^{2+} , Mg^{2+} , and Na^{+} with H^{+} from acidic functional groups (such as carboxylic $-\text{COOH}$ and phenolic $-\text{OH}$ groups) (Crist et al., 1996; Brown et al., 2000), lowering the pH and alkalinity during the first 25 days. Inorganic carbon from the peat matrix and residual neutralizing agents from AMD-S (e.g., CaO , NaOH) were the main contributors to alkalinity. The EC remained stable, reaching 6.5 ± 0.3 mS/cm at the inlet, and 6.4 ± 0.9 and 6.3 ± 0.8 mS/cm at the outlets of biofilters #1 and #2, respectively.

Similar Eh values were found in untreated As-NMD (219 ± 21 mV) and at the outlets of the two biofilters (220 ± 30 mV and 221 ± 29 mV), promoting the formation of less mobile forms of As (i.e., As(V)), despite the peat. The O_2 concentrations decreased significantly in the stagnant water of the feed containers (from 9.5 to 0.5 mg O_2 /L), which is attributed to degassing and limited diffusion within the water column. In contrast, oxygen levels increased in effluent (from 0.5 to 6.8 mg O_2 /L), probably influenced by the system design. The outlet's exposure to air combined with slow flow rates facilitated O_2 diffusion in the final part of the biofilter and could not prevent the development of reductive conditions in the deepest layers.

Finally, temperatures fluctuated between 11 and 20°C (mean of 16.0°C) over the operating period and tended to decrease over time (Figure 5.4) with an approaching winter season. It has been reported that at 11°C, the rate of microbial oxidation of As(III) to As(V) remains high, but the growth optimum appears to be ~25°C (Kujala et al., 2022). In the present study, the decreasing temperatures did not seem to affect As removal from As-NMD (Figure 5.4, 5.5).

5.6.1.2 Evolution of SO_4^{2-} , Fe, As, and Sb concentrations

The SO_4^{2-} concentrations (Figure 5.5) in the untreated As-NMD ranged from 2.5 to 2.9 g/L. At the beginning of the experiment, SO_4^{2-} concentrations at the biofilter outlet ranged from 645 to 998 mg/L. Some sulfide might have precipitated during the start-up period that used deoxygenated As-NMD, reducing soluble SO_4^{2-} concentrations. In a lab-scale biofilter, SO_4^{2-} was leached from AMD-S (Thevenot et al., 2025), which highlights the influence of effluent

quality, biofilter design and scale of testing. In a previous study, which evaluated a pilot-scale field passive biofilter filled with a 55%-peat mixture (El Kilani et al., 2021), the SO_4^{2-} leaching was reported as being related to peat content. The SO_4^{2-} behavior may probably be linked to peat physical characteristics and decomposition degree.

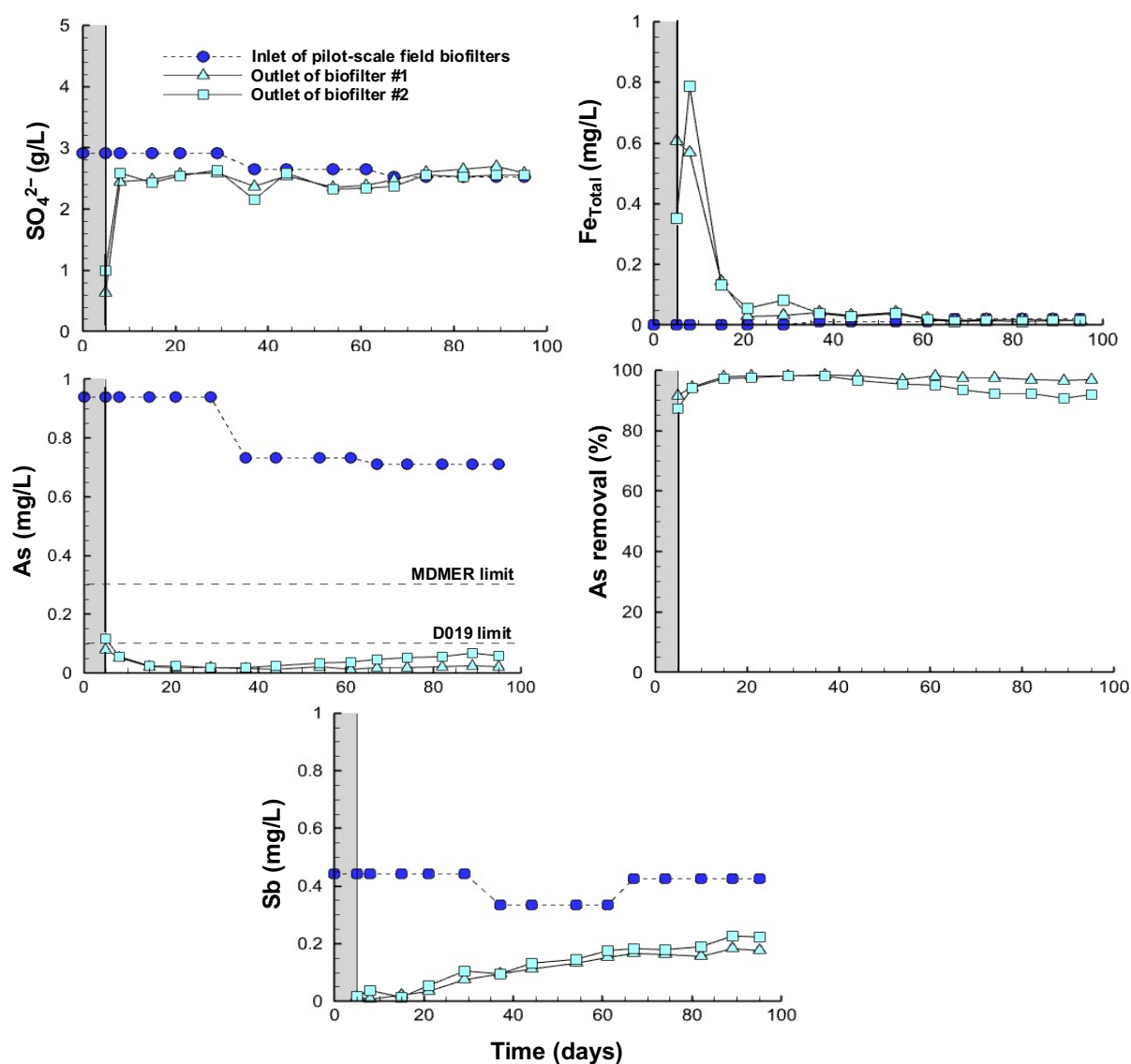


Figure 5.15

Evolution of SO_4^{2-} , Fe, As, and Sb influent and effluent concentrations in the pilot-scale field biofilters over 3 months. The grey area corresponds to the biofilters' start-up phase. D019 = 0.10 mg/L, MDMER = 0.30 mg/L.

By day two, SO_4^{2-} retention in the biofilter system ceased, based on the similar concentrations detected in influent and effluent, likely due to the depletion of sorption sites or absence of metal-sulfide minerals precipitation. The 1-day HRT, although effective for As removal may not have provided the redox environment and contact time required for active sulfate reduction by sulfate-reducing bacteria (SRB). Microbially mediated SO_4^{2-} reduction processes generally require 2.5–5 days to proceed efficiently (Vasquez et al., 2016). Longer HRTs were not prioritized in this system, as sulfide accumulation in the final effluent was undesirable due to the absence of dissolved metals in As-NMD (i.e., Fe) that would otherwise promote sulfide precipitation. In addition, while the temperatures observed (11–20 °C) may not directly inhibit SRB, colder conditions (0–10 °C) have been shown to significantly reduce their activity (Kujala et al., 2024).

Fe concentrations (**Figure 5.5**) in untreated As-NMD were below detection limit (< 0.03 mg/L). However, Fe leaching from the substrate occurred during the first four days of biofilter operation (days 5–8), with a maximum concentration reaching 0.78 mg/L. The AMD-S released low concentrations of Fe^{2+} (Thevenot et al., 2025) initially present in the sludge. The conditioning prior to operation period (4 days) may have stimulated Fe^{3+} to Fe^{2+} reduction on the filling mixture surface and within peat pores (e.g., dead-end pores). In addition, organic compounds, particularly humic acids, may influence Fe^{2+} speciation and availability, while As(V/III)– Fe^{2+} –OM complexes (Catrouillet et al., 2016) and Fe^{3+} hydroxide dissolution probably impacted the distribution of trace metal and As.

Untreated As-NMD contained 0.80 ± 0.10 mg/L of As and 0.40 ± 0.06 mg/L of Sb (**Figure 5.5**). Over three months of operation, As removal efficiency was $96 \pm 2.9\%$, peaking at 98%, with outlet As concentrations of 0.03 ± 0.02 mg/L (biofilter #1) and 0.05 ± 0.03 mg/L (biofilter #2), meeting both the federal criterion (MDMER: $\text{As} \leq 0.30$ mg/L) and provincial guideline (D019: $\text{As} \leq 0.10$ mg/L). The Sb removal efficiency was $71 \pm 18\%$, with outlet concentrations of 0.12 ± 0.07 mg/L, despite competition with As for sorption sites (Kumar et al., 2024). The initial increase in dissolved As concentration was attributed to soluble As species or fine particles leaching out from AMD-S (Thevenot et al., 2025). The progressive increase in Sb concentrations in the effluent over time may be attributed to competitive sorption with As within the filling mixture. Because As was effectively immobilized early in the operation, sorption

sites — particularly those associated with Fe-(oxy)hydroxides — may have become progressively less available for Sb. Moreover, competition between As and Sb for shared reactive surfaces (Kumar et al., 2024) may have delayed Sb retention. The observed trend likely reflects a gradual equilibration of Sb with the filling mixture under field conditions.

Once stabilized, the biofilters effectively decreased dissolved As concentration, mainly via chemisorption onto Fe-(oxy)hydroxides and organic matter (Thevenot et al., 2025). The high efficiency of As removal at pH 6–8, which sorption of both As(III) and As(V) is effective, reflects the strong affinity of AMD-S for As at circumneutral pH.

The above findings emphasize the importance of system stabilization upon the start-up and during the initial phases of operation, where transient increases in As concentrations can occur before efficient removal is achieved.

5.6.2 Prediction of As speciation in the pilot-scale field biofilter

The stability of As in biofilters is critical for their long-term performance, while As geochemical speciation must be characterized under varying environmental conditions. The present study confirms previous findings reporting that primarily redox potential and pH govern As speciation (Takeno et al., 2005). Under circumneutral conditions (pH 6–8), As(III) dominates as H_3AsO_3 under mildly reducing environments ($E_h < 200$ mV), while oxidizing conditions favor As(V) species, such as H_2AsO_4^- and HAsO_4^{2-} (Figure 5.6). Geochemical calculations showed that As(V) was the dominant form across all measured samples, with no discernible variation between 5°C and 25°C. Discrepancies were observed between modeled and measured As speciation, with 65% As(III) and 35% As(V) identified via cartridges in As-NMD samples downstream of the WSF in comparison to a predominance of As(V) modeled (~70% As(V)). However, the mosaic diagram assumes instantaneous equilibrium between As species based on Eh-pH conditions, whereas As(III) may persist beyond its predicted stability field due to kinetic limitations (Kujala et al., 2022). Reducing conditions in the WSF promote As(III) formation, potentially enhancing its mobility. The presence of SO_4^{2-} and Ca^{2+} altered As stability fields in the mosaic of Eh–pH diagram (Figure 5.6, Table B1). However, these changes occurred at pH values (0–4, 9–13) outside the range of As-NMD conditions. Salinity (e.g., Cl^- , Na^+) and NO_3^- showed no measurable effects on As speciation (Figure 5.6). Maintaining optimal pH and redox

conditions within the influent As-NMD is essential to mitigate As mobilization. In addition, microbially mediated processes often influence As transformation pathways and can promote the oxidation of As(III). Therefore, a biofilter design needs to integrate both geochemical and microbial processes to achieve effective As remediation.

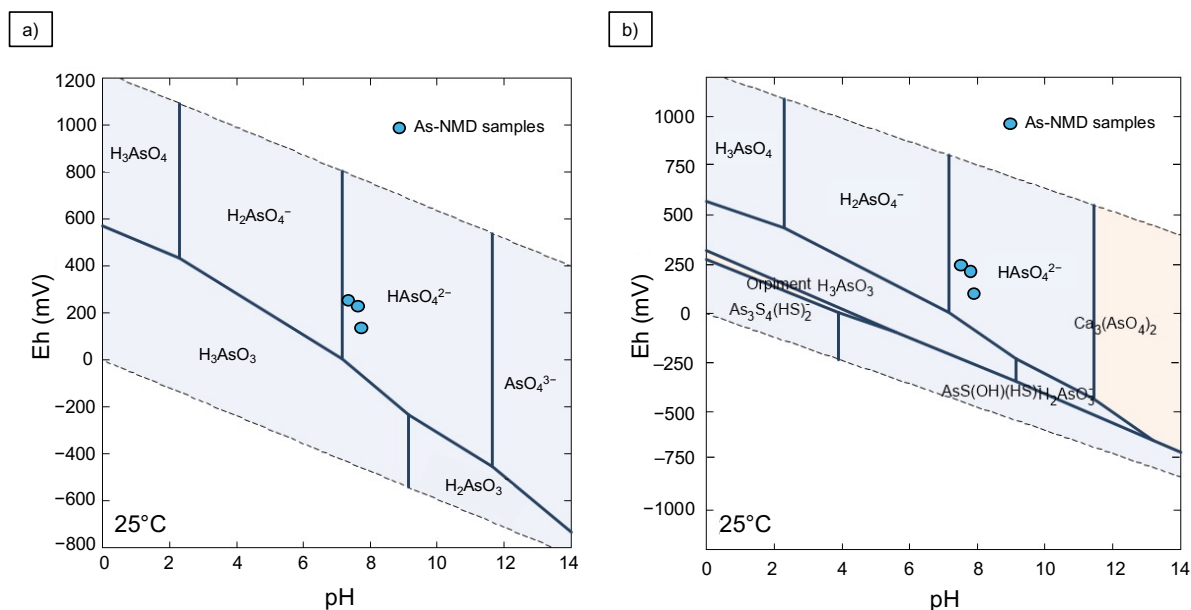


Figure 5.16

Mosaics of Eh-pH Pourbaix diagrams for As-NMD samples (from August to November) for the (a) As–O–H system at 25°C, 1 bar, $\Sigma\text{As} = 10^{-5}$ M and (b) As–O–H at 25°C, 1 bar, $\Sigma\text{As} = 10^{-5}$ M, $\Sigma\text{Ca} = 10^{-2.5}$ M, $\Sigma\text{SO}_4^{2-} = 10^{-2}$ M. Diagrams were generated using Geochemist's Workbench® Community Edition, based on equilibrium As speciation calculated in PHREEQC.

5.6.3 Prokaryotic communities in the pilot-scale field biofilter

5.6.3.1 Spatial distribution and diversity of prokaryotic communities

A total of 403,568 raw sequence reads were obtained, with observed taxonomic richness (number of OTUs) ranging from 315 to 743 OTUs (mean: 634 ± 152 per sample, 71 ± 11 reads per OTU), with the lowest diversity (315 OTUs) detected in the control sample (unused filling mixture). Minor variations in α -diversity of prokaryotic communities were observed between the biofilter samples at the same depth. All samples showed high diversity and equitable distribution (e.g., Shannon = 5.26 ± 0.11 ; Pielou = 0.81 ± 0.01), excepted for core n°2–B

sample, which showed the lowest richness (433 OTUs) (**Table B3**). The highest richness (743 OTUs) was determined in the sample collected from the surface layer of core n°1 (I1).

Similar trends were observed across other α -diversity indices (**Table B4**). Bray-Curtis dissimilarity analysis confirmed the β -diversity in group B and the control was significantly different from the other groups (KW; p -value < 0.05) (**Figure 5.7**; **Table B5**). The similarity in microbial diversity across most groups, with 68% of the variance captured by the first two PCoA axes (**Figure 5.7**), indicated consistent environmental conditions at different depths (**Table B2**). The distinct microbial profile in the control sample reflected the influence of the As-NMD treatment process on the microbiome in the filling mixture. Finally, the significantly different prokaryotic diversity in sample n°2–B was ascribed to a sequencing error.

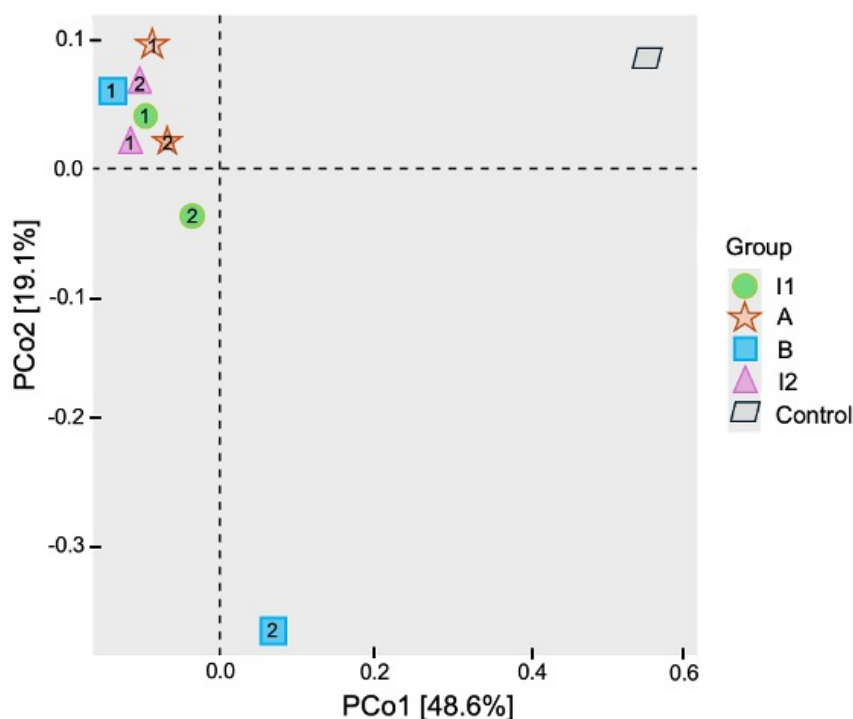


Figure 5.17

Principal coordinate analysis (PcoA) of microbial community composition in pilot-scale field biofilter across 2 core sampling locations (n°1, n°2), 4 groups (depths I1, A, B, I2), and control sample (unused filling mixture), based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix.

5.6.3.2 Prokaryotic communities

The prokaryotic communities were analyzed at the phylum level (**Figure 5.8**). In the surface layer (I1), *Proteobacteria* consistently represented 65–70% of the community, followed by *Bacteroidota* (12–15% of total reads), *Acidobacteriota* (8–10%), and *Actinobacteriota* (5.0–8.0%). With increasing depth, the abundance of *Proteobacteria* increased (70–75%), with the phylum containing species known to catalyze As methylation ([Liu et al., 2025](#)).

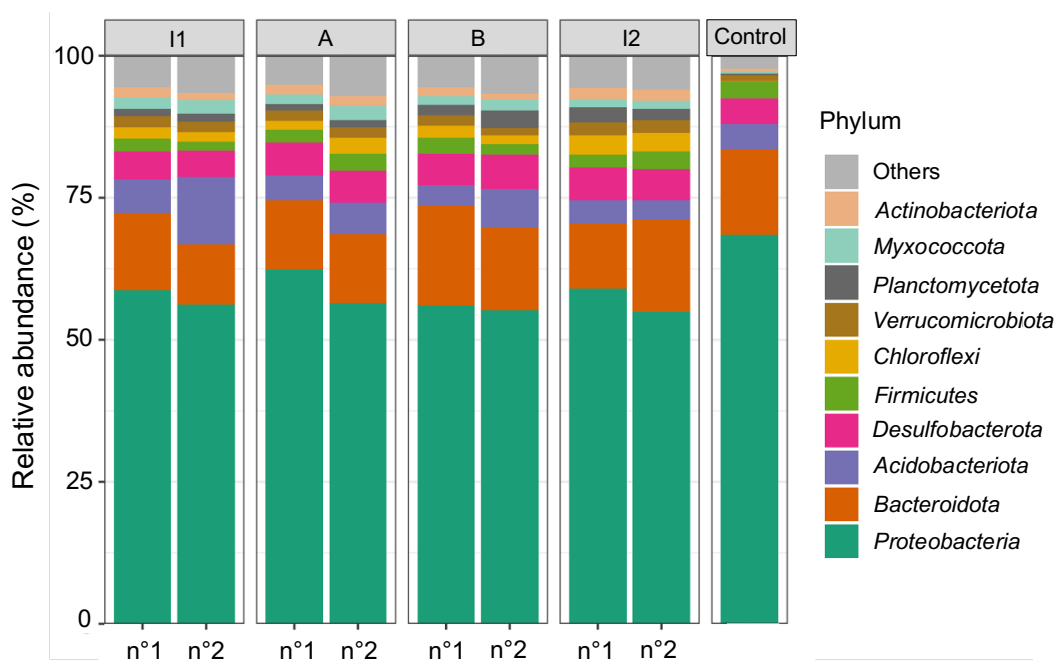


Figure 5.18

The relative proportions of the 10 most abundant prokaryotic phyla in the pilot-scale field biofilter across 2 core sampling locations (n°1, n°2), 4 groups (depths I1, A, B, I2), and control sample (unused filling mixture).

In contrast, the prokaryotic community in the control sample comprised only 30–35% *Proteobacteria*, further highlighting the influence of biofilter operation on the microbial community composition in support of As remediation. The prokaryotic community in a lab-scale biofilter (of a similar composition) used in a previous study to treat a synthetic As-NMD comprised approximately 40% *Proteobacteria* after three months of operation ([Thevenot et al., 2025](#)). The phylum is widely distributed in the environment, including As-NMD contaminated waters and soils, and represents up to 75% of mine soil communities ([Courchesne et al., 2021](#)). Minor fluctuations were observed in the relative abundances of

Bacteroidota, *Acidobacteriota*, and *Actinobacteriota* in the biofilter samples, but these changes were not significant (possibly due to the metabolic diversity of the phyla and the limited number of samples analyzed).

Desulfobacterota that immobilize As via sulfate reduction but have been reported to play a role in anaerobic As methylation (Liu et al., 2025), accounted for 7.0–10% of total reads in the intermediate (B) and deeper layers (I2), underscoring the important role of the prokaryotes in the As-remediation processes. The deepest layer (I2) mirrored the intermediate layer (B) in *Proteobacteria* and *Desulfobacterota* abundances and showed a pronounced decline in proportions of *Acidobacteriota* (< 4.0%) compared to the shallowest layer (I1) (> 10%). The phyla *Chloroflexi* or *Firmicutes* (both 1.0%) are metabolically versatile and have been reported to facilitate As cycling via methylation processes, showing adaptation under anoxic conditions (Liu et al., 2025). Several taxa associated with As and Fe cycling were identified across depths. *Geobacter* and *Rhodoferrax* (both 1%) are known to be active in both surface and deeper peat layers, facilitating As methylation (Liu et al., 2025) and indirectly influencing As solubility (Kujala et al., 2024).

5.6.3.3 As-, S- and Fe-metabolizing genera

Microbes play significant roles in the mobilization and sequestration of As (Hudson-Edwards & Santini, 2013). A number of prokaryotes that can gain energy through As(III) oxidation and/or As(V) reduction have been described (Hudson-Edwards & Santini, 2013), despite the high toxicity of the compounds. As(III)-oxidizing prokaryotes accounted for 3.3% and $(3.5 \pm 0.8)\%$ of total reads in the control and biofilter samples, respectively (Figure 5.9).

Among the most abundant genera containing species known to oxidize As(III) (and/or presence of genes involved in As(III) oxidation has been confirmed) are *Acidovorax*, *Azoarcus*, *Acinetobacter*, and *Burkholderia* (Figure 5.9a). The control and biofilter samples contained 1.3% and $(1.1 \pm 0.2)\%$ of total reads As(V)-reducing prokaryotes, respectively. *Geobacter* was the most abundant genus that contains species known to reduce As(V), accounting for 1.2% and $(0.9 \pm 0.2)\%$ in control and biofilter samples, respectively (Figure 5.9b).

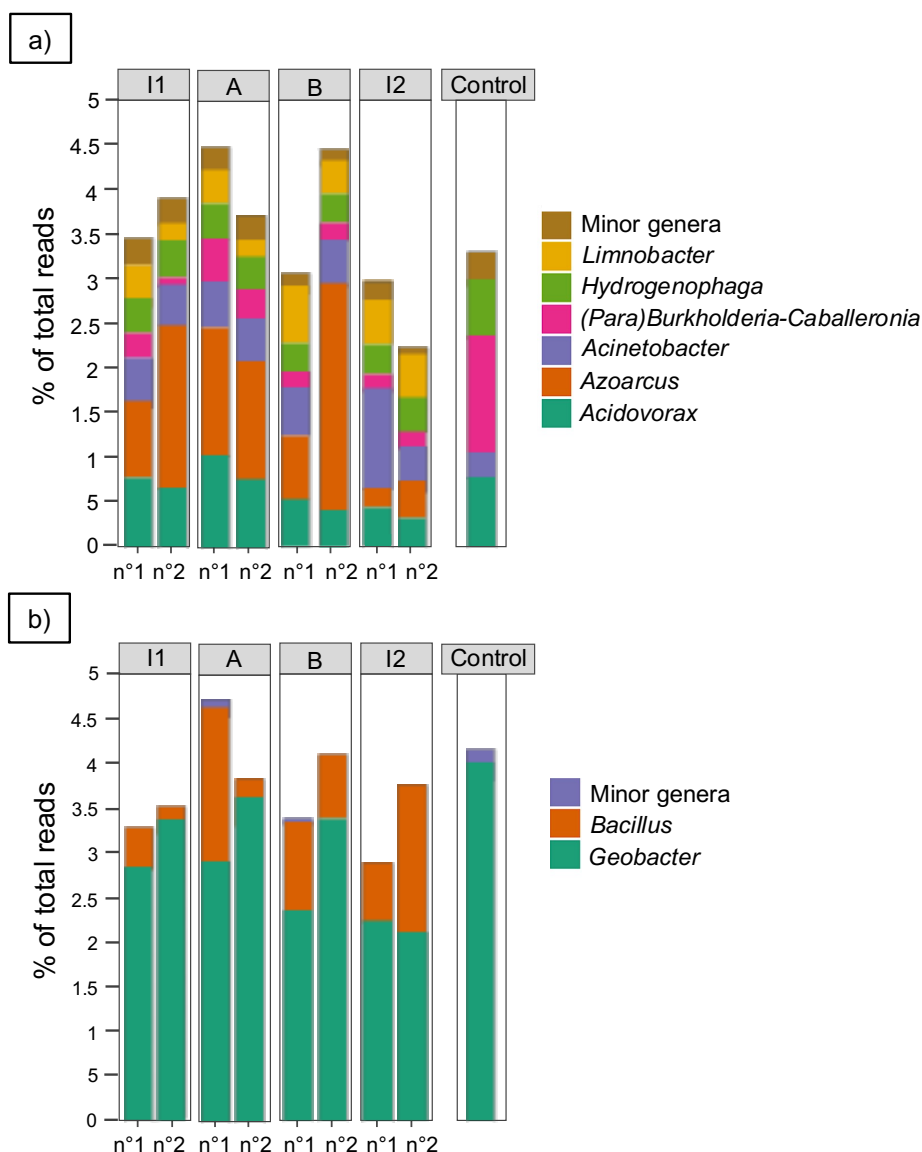


Figure 5.19
Proportions of total reads of (a) As(III)-oxidizing, and (b) As(V)-reducing prokaryotes (both on the genus level).

Species belonging to the *Bacillus* and *Schewanella* genera, which were detected in the samples, have been reported to contain genes involved in As(V) respiration. Last but not least, sulfate reducers can contribute to As(V) reduction indirectly (via sulfate reduction), but potentially even directly (as genes involved in As(V) reduction have been detected in SRBs). In summary, the proportions of As-metabolizing prokaryotes in the analyzed samples were not negligible, thus it could be expected that microbially mediated As transformations likely occur in the system. No significant correlations were detected between the depth and the relative abundances of the

As-metabolizing genera, possibly due to a limited number of samples. All sulfur-metabolizing prokaryotic genera that were observed in the analyzed samples were neutrophiles, while no acidophiles were detected, which might indicate the absence of acidic microenvironment that can form in mine-impacted environments due to localized activity of sulfur oxidizers (Pakostova et al., 2020). A greater proportion of sulfur-oxidizing prokaryotes was detected in the control sample (accounting for 42% of total reads) compared to the mean proportion in the pilot-scale field biofilter ($5.6 \pm 0.4\%$) (Figure 5.10).

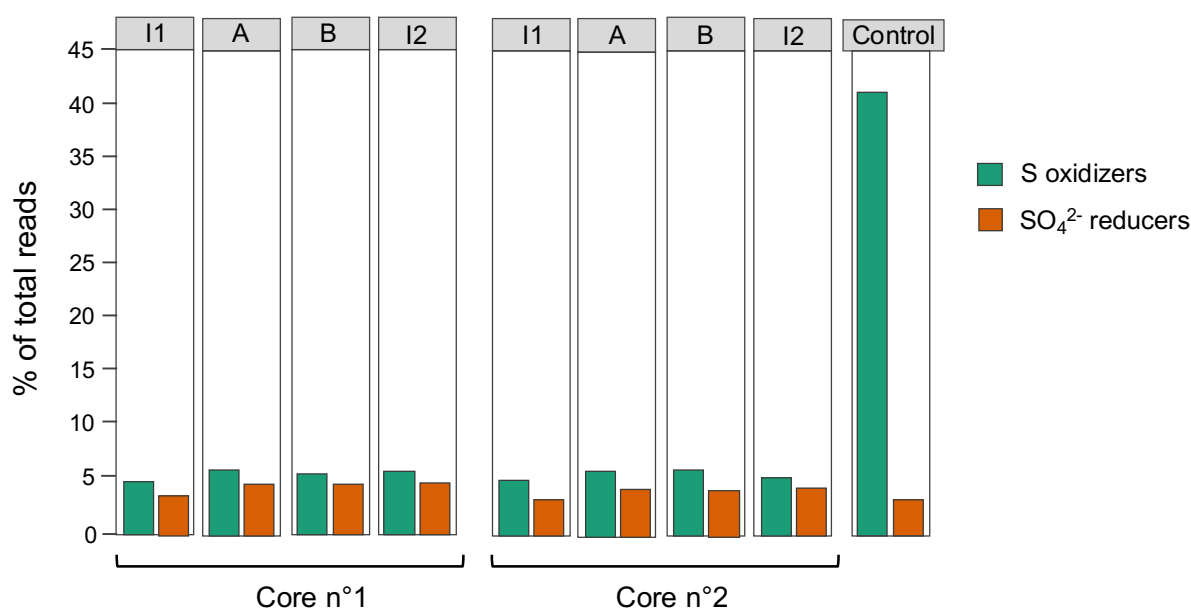


Figure 5.20

Relative abundance of S-metabolizing prokaryotic genera in the control and pilot-scale field biofilter (core n°1 and n°2) samples.

The dominant sulfur-oxidizing genus was *Thiobacillus*, accounting for 42% in the control sample and $5.4 \pm 0.4\%$ in the biofilter samples. The genus *Thiobacillus* is commonly detected in neutrophilic mining environments (McNeil et al., 2020). The second most abundant sulfur oxidizer, *Sulfuritalea*, accounted for $0.1 \pm 0.4\%$ of total reads in the biofilter samples (and only 0.07% in the control sample). Other sulfur oxidizers (*Thiovirga*, *Sulfurimonas*, *Sulfuricurvum*, and *Halothiobacillus*) were detected in the samples with negligible relative abundances ($\leq 0.05\%$ of total reads; Table B6). Relative abundances of 1.0–4.5% of prokaryotes with sulfur or thiosulfate respiration functions were observed in the biofilter samples (Figure B2), which is

in agreement with the relative abundance data. Sulfur respiration was significantly higher at depths B and I2 compared to surface layers, likely due to lower oxygen availability at greater depths, which however was not clearly reflected in the SRB abundance profile (**Figure 5.10**). SRB accounted for 3.3% of total reads in the control sample, and $4.3 \pm 0.5\%$ in the biofilter samples. *Desulfuromonas* was a dominant sulfate-reducing genus, accounting for 3.2 and $4.3 \pm 0.5\%$ of total reads in control and biofilter samples, respectively (**Table B6**). These results were consistent with those obtained with a lab-scale biofilter made of the same mixture as here ([Thevenot et al., 2025](#)). The sulfate reduction was likely to occur in the samples and As has been reported to bind to organic sulphydryl groups within localized microenvironments (such as hyaline cells) in peatlands ([Besold et al., 2018](#)).

Similarly to sulfur-metabolizing genera, Fe-metabolizing prokaryotes observed in the samples were all neutrophilic genera, while no acidophiles were detected. The relative abundance of Fe(III) reducers in all samples ranged from 0 to 0.1% of total reads (with *Geobacter* being a dominant genus within this metabolic group), and Fe(II) oxidizers accounted for 0 to 0.1% (namely, *Gallionella* and *Leptothrix*) (**Table B6**). The low abundance of Fe-metabolizing prokaryotes can be explained by the low concentration of dissolved Fe in the As-NMD treatment systems.

5.6.3.4 Effects of physicochemical parameters on prokaryotic dynamics

Correlations between the abundance of prokaryotic genera and environmental variables, specifically the physicochemical properties of pore water from the spent filling mixture, are shown in **Figure 5.11**.

Several bacterial genera positively correlated with environmental data including *Winogradskyella*, *Sporocytophaga*, *Proteiniphilum*, *Oceanibaculum*, and *Acidaminobacter* whose abundance significantly increased ($p\text{-value} < 0.05$) with increasing As and NO_3^- concentrations. The abundance of *Rhodoferrax* strongly correlated with NO_3^- and Eh, suggesting its involvement in nitrate reduction and As mobilization under oxidizing conditions. Similarly, *Thiobacillus* exhibited positive correlations with SO_4^{2-} and negative correlations with pH, which is consistent with its role in sulfur oxidation under acidic conditions. However, competing electron acceptors, such as SO_4^{2-} or NO_3^- , may have affected microbial community composition and inhibited processes critical for As cycling ([Kujala et al., 2018](#)).

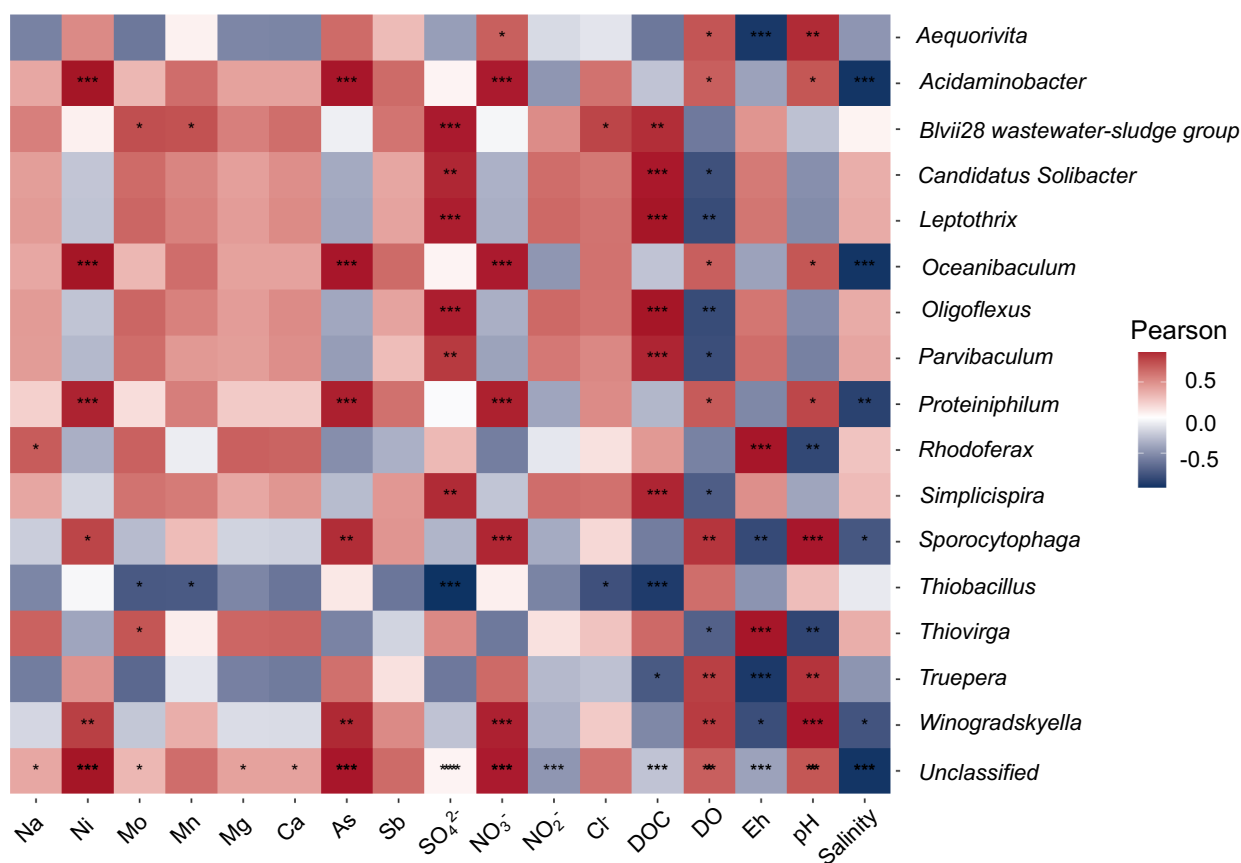


Figure 5.21

Heatmap correlating the physicochemical parameters of the As-NMD biofilter with the abundance of prokaryote genera. Significant correlations (* p -value < 0.05, ** p -value < 0.01, * p -value < 0.001) highlight the ecological roles of bacterial taxa in the As-NMD-treating biofilter. Pearson values ($r > 0$, shades of red) indicate a positive correlation, negative values ($r < 0$, shades of blue) indicate a negative correlation, and $r = 0$ (white) indicates there was no correlation detected between the variable and prokaryotic genus.**

Proteiniphilum has been linked to As(III) detoxification, which indicates that minor taxa can play a significant role in As(III) oxidation. The above-mentioned bacterium has been reported to interact with As in natural environments, and has been connected to bioremediation, resistance to As, and biogeochemical cycling of the metalloid. Other bacteria negatively correlated with the biofilter physicochemical variables; for instance, the abundances of the genera *Acidaminobacter*, *Oceanibaculum* or *Proteiniphilum* decreased with increasing salinity (i.e., K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-}). The above findings indicate that the microbial communities within the biofilter are shaped by the physicochemical parameters, and vice versa,

and can potentially adapted to As-NMD environments. However, further investigations are needed to confirm the long-term performance of the biofilter and its sustainability for As remediation.

5.6.4 Fungi in the pilot-scale field biofilter

Among the most abundant fungal genera were the most frequent and globally distributed soil fungi (means of abundances in all samples are shown in brackets, in % of total reads): *Oidiodendron* (14), *Entomortierella* (13), *Solicoccozyma* (4.9), *Meliniomyces* (4.4), *Trichoderma* (4.1), followed by genera with relative abundance < 0.9%. Of note, around 29% of fungal sequences were not classified on the genus level.

Oidiodendron are known as saprotrophs (decomposers) found in a broad range of plant, animal, and fungal substrates, including peat, soil, wood, lichens, marine sediments, human skin and hair (Rice & Currah, 2005). The second most abundant fungus was *Entomortierella*, reported to establish symbiotic associations with bacteria (e.g., *Burkholderiaceae*) (Herlambang et al. 2022). *Solicoccozyma* primarily contributes to soil biodegradation (Stosiek et al., 2019), has been identified in phosphogypsum sludge stored for 40 years, consisting mainly of gypsum ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) and various contaminants accumulated in large stacks on salt marshes (Gómez-Villegas et al., 2022). *Meliniomyces* are symbiotic, root-associated fungal taxon. *Trichoderma* is present in all soils, where they are the most prevalent culturable fungi. Many species within this genus are opportunistic avirulent plant symbionts.

5.6.5 Performance of the pilot-scale biofilters: Stability and long-term viability

Each pilot-scale field biofilter effectively removed approximately 15 g of As over three months, treating a total of 19 m³ of As-NMD. Despite the relatively small volume of mixture (0.325 m³ of P50/AMD-S50; 0.650 m³ including gravel) (Table 5.2), the system showed a high As-treatment capacity. Previously, a lab-scale biofilter with a substrate volume of 0.035 m³ treated 0.270 m³ of synthetic As-NMD with concentration ranging from 1 to 2.5 mg/L, yielded to a retention of 349 mg As (Thevenot et al., 2025). The comparison confirms the capacity of the pilot-scale field biofilter to maintain efficient As removal despite operational differences between the two systems in upscaling testing.

On dismantling, the removal efficiency of As in the bottommost layer of the biofilter (I2) exceeded 85%, with pore water As concentrations decreased to approximately 0.1 mg/L (**Table B3**). The biofilter did not reach saturation within the 3-month period, as shown by the low As concentrations in the pore water in the I2 layer, owing to the tendency of contaminants to concentrate first in the influent areas (Sekula et al., 2018). This suggests that the substrate volume in the biofilter is sufficient, relative to the treated water and As load, and enables the system to effectively support long-term As removal under the investigated conditions. The system capacity for As retention is expected to remain high even after extended periods of operation.

The long-term performance of biofilters has been shown in comparable systems, such as a biofilter installed at an abandoned mine in Ireland operating unattended for over 120 years, retaining up to 65% of the As (Beining & Otte, 1997). Stabilization of Fe and As removal efficiencies in a pilot-scale field biofilter shortly after commissioning, while Mn removal required 28 days to optimize was also reported (Jacob et al., 2022). By comparison, near complete As removal within 1 day was found in the present study, underscoring its efficiency and rapid adaptation for As removal. The biofilter size relative to loading rates is a major factor affecting the retention capacity of biofilters, and the data obtained in this study indicate the biofilter has the potential to maintain stable performance over time. However, further research is required to determine the maximum operating period under real-world conditions and the impact of larger-scale applications.

While the pilot-scale field biofilter showed promising results, several factors must be considered for its long-term operation and adaptability (i.e., HRT, surface area, and flow rate). Maintaining a sufficiently high HRT is essential for contaminant removal efficiency, and variations in the flow rate (e.g., due to seasonal or operational changes) can affect the performance of the system. A flexible biofilter design that can accommodate fluctuations of these factors is necessary, especially at remote mine sites with limited maintenance capabilities (Jacob et al., 2022). Incorporating adjustable inflow mechanisms or modular configurations could mitigate the effects of variable conditions, while the installation of an upstream retention pond may regulate the flow rate and reduce maintenance costs.

In cold climates, snow cover and freezing conditions pose challenges that can impair biofilter performance by reducing oxygen availability, altering water flow dynamics, limiting the reactive surface area, and increasing As mobility (Heiderscheidt, 2020b; Kujala et al., 2022). Extensive snow accumulation can also cause substrate compaction, particularly in low-load-bearing substrates. The removal efficiency of As can be significantly decreased due to slow kinetics of microbial and chemical processes, which inherently drop with decreasing temperature. Further research should be carried out to determine temperature thresholds for the biofilter operation. The stability of the mineral phases formed or involved during As retention must be considered as they may become unstable, potentially leading to As remobilization under changing conditions, or at the end of the system's lifecycle if the spent substrate requires disposal.

5.7 Conclusion

This study evaluated the performance of a pilot-scale field biofilter (filled with peat and Fe-rich sludge from AMD treatment, mixed with gravel) for As removal from As-NMD at an operating gold mine in northern Québec, Canada. The biofilter design, with a 1-day HRT, effectively maintained predominantly oxidative conditions in the upper layers, promoting the retention of As(V) (H_2AsO_4^- and HAsO_4^{2-}), while reductive conditions at greater depths may have facilitated the partial reduction of As(V) to As(III) (H_3AsO_3). Over three months, biofilter outlet concentrations maintained an average As removal efficiency of $96 \pm 2.9\%$, below Canadian MDMER criterion and Québec D019 guidelines, indicating satisfactorily system performance. Removal efficiency of As was unaffected by temperature fluctuations (between 11 and 20°C). A modest first flush effect was observed at the onset, with a release of As (~ 0.10 mg/L), Fe (~ 0.78 mg/L), and DOC (~ 16 mg/L) from the biofilter filling mixture. Effective As removal was driven primarily by sorption onto Fe-(oxy)hydroxides in the AMD-S and organic matter in the peat. The microbial community, characterized by a dominance of Proteobacteria and *Desulfobacterota* (accounting for 7–10% of total reads in samples collected from deeper layers of the vertical profile of the biofilter), implied the existence of dynamic interactions between the microbes present and As-, or S-cycling. Redox potential was identified as the main factor influencing As speciation, with pH playing a secondary role under circumneutral conditions. Many taxa detected, such as *Thiobacillus*, *Geobacter*, and *Rhodospirillum rubrum*, were associated with As and S cycling. Sulfur-metabolizing prokaryotes were found to contribute significantly to the

biofilter function, enhancing As removal through sulfate reduction and methylation processes, which were more pronounced at greater depths, likely due to reduced oxygen availability. While this study demonstrates the short-term effectiveness of a pilot-scale biofilter for As removal in a cold-climate mining context, additional research is needed to evaluate its long-term stability and operational robustness. Future work should focus on the evolution of reactive mineral phases, the longevity of the filling mixture, and the scalability of the biofilter under extended operational periods. These aspects are critical to establishing the sustained applicability of passive biofiltration for As remediation in northern, mining-impacted environments.

Acknowledgements. This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Canada Research Chairs Program, Mitacs, Ministry of Natural Resources and Forestry (MRNF), and the industrial partners of RIME–UQAT–Polytechnique, including Agnico Eagle Mines, Iamgold, Raglan Mine–Glencore, and Rio Tinto. The authors would like to thank the Dhillmar Éléonore mine staff for their support and the URSTM team, in particular Dr. Étienne Bélanger, for his expertise and advice.

6. ARTICLE 3

LONG-TERM PERFORMANCE OF A WOODCHIP-BASED FIELD-SCALE BIOFILTER FOR ARSENIC REMOVAL FROM NEUTRAL MINE DRAINAGE UNDER A COLD CLIMATE³

Xavier Marc Thevenot¹, Tomy Roy¹, Eva Pakostova^{2,3,4}, Eric Rosa^{1,5}, Lucie Coudert¹, Carmen Mihaela Neculita^{1,*}

¹Research Institute on Mines and the Environment (RIME), University of Québec in Abitibi-Témiscamingue (UQAT), Rouyn-Noranda, QC, Canada, J9X 5E4

²MIRARCO Mining Innovation, Sudbury, ON, Canada, P3E 2C6

³Goodman School of Mines, Sudbury, ON, Canada, P3E 2C6

⁴Department of Earth and Environmental Sciences, University of Waterloo, Waterloo, ON, Canada, N2L 3G1

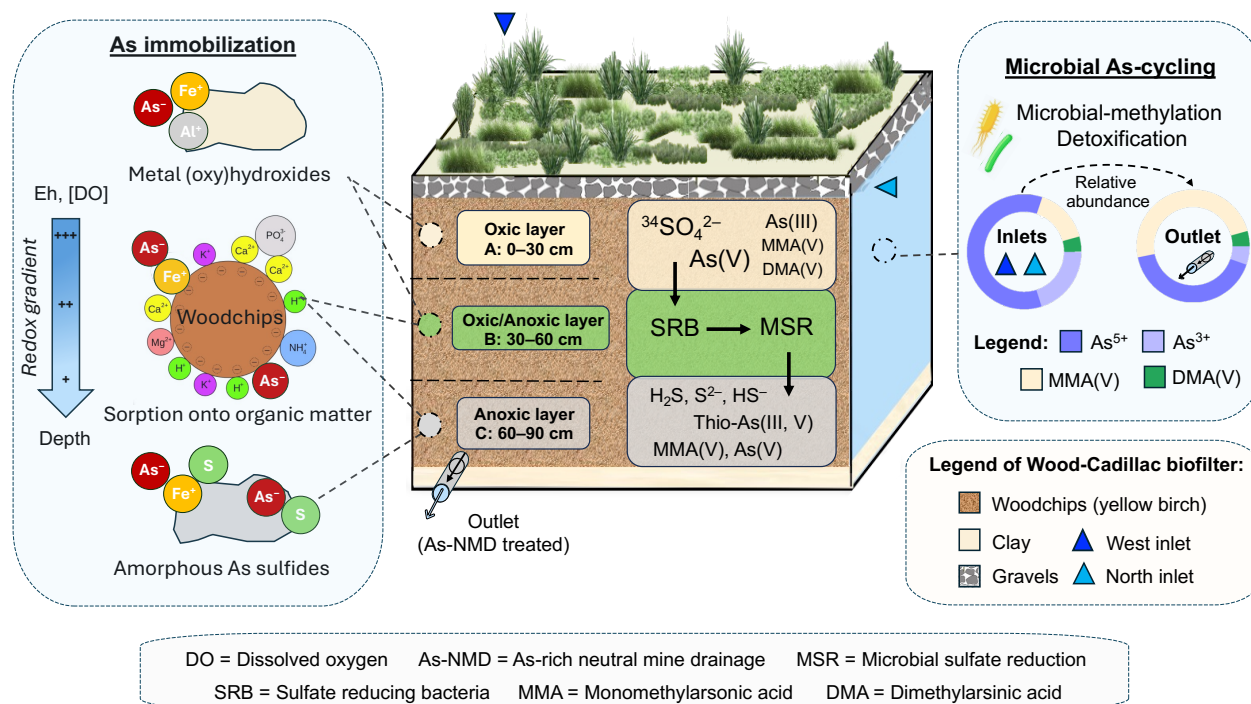
⁵Groundwater Research Group, UQAT, Amos, QC, Canada, J9T 2L8

*Corresponding author email: Carmen Mihaela Neculita

Cet article a été publié dans la revue *Water Research*

³Thevenot, X.M., Roy, T., Pakostova, E., Bélanger, E., Rosa, E., Coudert, L., Mykytczuk, N., Neculita, CM., 2025. Long-term performance of a woodchip-based field-scale biofilter for arsenic removal from neutral mine drainage under a cold climate. *Water Res.*, 124756.

6.1 Graphical Abstract



6.2 Highlights

- Woodchip biofilter sampled after treating As for 22 years under a cold climate
- Physicochemical pore water data revealed evidence of legacy As contamination.
- Core sampling showed dominance of As(V) and methylated-As(V) from surface to bottom.
- $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ isotopic tracing reveals S cycling and sulfate reduction in the biofilter.
- Microbial transformations of As, S, Fe support long-term contaminant immobilization.

6.3 Abstract

The long-term performance of a woodchip-based field-scale biofilter (50 m x 57 m x 1 m) treating As-rich neutral mine drainage (As-NMD) at the restored Wood-Cadillac mine site (Québec, Canada) was assessed. Operated for over 22 years, the biofilter showed up to 80% As removal efficiency, decreasing As influent concentration from 0.35 to < 0.1 mg/L, and complying with Canadian regulation. Speciation of As revealed depth-dependent redox processes, with As(V) dominating surface layer (0–30 cm), As(III) proportions increased in the middle layer (30–60 cm), while in the deepest layer (60–90 cm), MMA(V) becomes the predominant methylated form. Isotopic analyses ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) and sulfate concentration profiles suggest localized hotspots of microbial sulfate reduction (MSR) in anoxic layers, associated with higher $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ (> 12.0‰) and lower sulfate concentrations (61 to 10 mg/L). These spots aligned with high relative abundances of sulfate-reducing bacteria, suggesting As immobilization via As–S complexes and FeAsS/AsS precipitates. Microbial analyses showed stable α -diversity of prokaryotic communities, but significant variation among fungal populations. β -diversity differed significantly within the vertical profile of the biofilter, suggesting depth-dependent shifts in the composition of both prokaryotic and fungal communities. Functional taxa involved in S, Fe, and As cycling showed depth-dependent distributions, reflecting stratified redox conditions and biogeochemical processes. These findings highlight the role of coupled microbial and geochemical processes in sustaining As immobilization over decades and support the use of engineered organic biofilters as long-term passive treatment systems for As-NMD.

Keywords: As-rich NMD, microbial diversity, passive mine water treatment, sulfur isotope, wood-chips field-scale biofilter

6.4 Introduction

Legacy mine sites rehabilitation is challenging, especially in cold climate. Arsenic-rich neutral mine drainage (As-NMD) from legacy mine sites persists due to high As mobility, prolonged ice/snow cover, and limited microbial attenuation (Sprague et al., 2018; Kujala et al., 2024). Passive treatment systems provide sustainable, low-cost solutions for remote mine sites (Neculita et al., 2021), but their efficiency is limited in cold climates through inhibition of microbial activity, lower rates of redox reactions, and impaired As, Fe, and S retention (Nielsen et al., 2018; Kujala et al., 2024). Freeze–thaw cycles and hydrological extremes (i.e., early snowmelt, intense rainfall) further reduce the performance by altering the biofilter structure and hydraulic retention times (HRT) (Khan et al., 2019; Heiderscheidt et al., 2020a). Despite these limitations, engineered organic biofilters remain a promising approach for mine site remediation. The biofilters follow the contaminant-removal processes (e.g., Ni, Fe, Al, As) of natural peatlands through sorption, coprecipitation, complexation, and microbially catalyzed processes (Eberle et al., 2021; Kujala et al., 2022, 2024), while preventing disturbances to sensitive ecosystems.

Laboratory studies report As removal by biofilters from low contaminated As-NMD (10–30 µg/L), but efficiency decreases at higher, field-relevant concentrations (0.2–2.0 mg/L; Heiderscheidt, 2020a,b; Thevenot et al., 2025a). Field-scale data on biofilters composed solely of organic matter remain scarce (Germain & Cyr, 2003; Mehdaoui et al., 2025a). Combining organic substrates with low-cost Fe-rich materials enhances As removal through sorption onto and coprecipitation with Fe (Sekula et al., 2018; Mehdaoui et al., 2025b; Thevenot et al., 2025b). However, in engineered organic biofilters, As immobilization is governed by redox gradients and microbial processes, making long-term stability challenging to maintain.

Organic matter supports microbial colonization and supplies electron donors, enabling redox transformations of As species (e.g., As(V), As(III)) (Liu et al., 2025). Organic matter also supports As methylation, a microbial detoxification pathway producing monomethylarsonic acid (MMA(V)) and dimethylarsinic acid (DMA(V)) (Qian et al., 2023; Liu et al., 2025). Under reducing conditions, As(III) can form stable complexes with sulfhydryl groups and thio-As species (Catrouillet et al., 2016) and/or precipitate as insoluble sulfides such as FeAsS and AsS (Mehdaoui et al., 2025a), reducing As mobility and toxicity. Low Fe concentrations in As-NMD may limit As retention, although Fe cycling can influence As partitioning between solid and

aqueous phases in pore water (Verbuyst et al., 2024). Indeed, Fe cycling can affect As behavior; the activity of iron-reducing prokaryotes (IRP) often leads to solubilization of Fe(III) (oxy)hydroxides and release of sorbed As into porewater, whereas Fe-oxidizing prokaryotes (IOP) regenerate Fe(III) phases, surfaces of which provide new sorption sites (Verbuyst et al., 2024). In addition, Fe(II) can associate with organic matter and As to form organo–Fe–As complexes, which may influence retention under anoxic conditions (Catrouillet et al., 2016). These antagonistic microbial processes continuously reshape Fe availability and redox equilibria, ultimately controlling the distribution of As between solid phase and aqueous phase. The mobilization and retention of As are depth-dependent and strongly influenced by temperature, redox, and microbial activity (Kujala et al., 2024; Thevenot et al., 2025a,b).

Sulfate-reducing bacteria (SRB) mediate microbial sulfate reduction (MSR), generate soluble sulfides (H_2S , HS^- , S^{2-}) during organic substrates mineralization (Pester et al., 2012), and entail metal(loid) attenuation (Pester et al., 2012; Kujala et al., 2022). Soluble sulfides formation promotes As immobilization by precipitation of insoluble sulfides, interacts with Fe cycling, as well as affects the redox conditions in organic-rich biofilters (Kujala et al., 2022). The MSR can contribute more than 50% of total sulfate removal in mining-impacted watersheds (Fischer et al., 2022). Sulfur isotope analyses (including $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ measurements) provide tools for tracing *in situ* MSR, a process that can lead to heavy isotope enrichment in the residual sulfate (Pester et al., 2012; Fischer et al., 2022). Reported fractionation factors ($\alpha_{\frac{\text{SO}_4^{2-}}{\text{H}_2\text{S}}}$) range from 1.016 to 1.048 under anoxic conditions, with the extent of MSR being controlled by microbial activity, organic matter type and availability, sulfate availability, and temperature (Habicht & Canfield, 1997; Canfield, 2001; Sharp, 2017). The roles of sulfur-based processes in As retention have been previously reported, focusing on sulfide precipitation and thio-As formation (Catrouillet et al., 2016; Fischer et al., 2022), but the long-term dynamics in field-scale biofilters treating As-NMD remain understudied.

Mineralogy of As in passive biofilters has been recently reported (Mehdaoui et al., 2025a), but the biogeochemical processes that sustain long-term efficient retention of As remain little documented. The interplay between As speciation and Fe and S cycling (mediated by IRP, IOP, and SRB) has not been thoroughly investigated in field-scale systems under cold climate. To address this gap, the Wood–Cadillac passive biofilter, which has been in operation since 2000 at a restored mine site in

Québec, Canada, was selected and evaluated. By integrating depth-resolved porewater speciation, microbial indicators, and sulfur isotope analyses, this study provides a field-scale evaluation of S–Fe–As interactions under cold climate and advancing predictive insight into the long-term efficiency of passive treatment systems.

6.5 *Materials and methods*

6.5.1 Study site

The Wood-Cadillac mine site (**Figure 6.1**) is located 6 km east of the Cadillac Belt of Rouyn-Noranda in northwestern Québec (48°14'0.664"N, 78°20'17.627"W) and produced gold and silver from 1939 to 1949. The site experiences a humid continental climate, with temperatures ranging from –40°C to 36°C and precipitation from 29–63 mm/month, in January and July, respectively ([Environment and Climate Change Canada, 2024](#)).

Tailings (~350,000 t, 3,600 mg As/kg) were deposited without containment over 21 ha, resulting in As contamination of Pandora Creek ([Germain & Cyr, 2003](#)). The ore comprised pyrite (FeS₂), arsenopyrite (FeAsS), chalcopyrite (CuFeS₂), pyrrhotite (Fe_{1-x}S), native gold, and gangue phases including quartz (SiO₂), scheelite (CaWO₄), calcite (CaCO₃), and ankerite ((CaFe)CO₃) ([Beaudoin & Trudel, 1989](#)). Reclamation (1996–1997) involved a gravel cover monolayer (10 cm) mixed with yellow birch woodchips to stabilize tailings and support vegetation. Prolonged exposure led to the oxidation of As-bearing minerals and generation of As-NMD, with average concentrations of 325 µg/L in waterlogged areas and a concentration range of 100–220 µg As/L along Pandora Creek ([Germain & Cyr, 2003](#)).

In 2000, a field-scale organic biofilter (50 × 57 m, 1 m depth) was built downstream of the deposited tailings to treat As-NMD via gravity flow from two inlet pipes (north and west), with a nominal HRT of 25 h ([Germain & Cyr, 2003](#)). Despite 6 months of snow cover, the biofilter appears to properly operate year around. Biofilters installed in northern climate can operate throughout winter ([Kujala et al., 2024](#)). At depths of 30 to 100 cm, water temperatures remain above 5°C, even under extreme cold conditions (–30°C), while flow and microbial activity are maintained ([Nielsen et al., 2018](#); [Heiderscheidt et al., 2020a](#); [Kujala et al., 2024](#)).

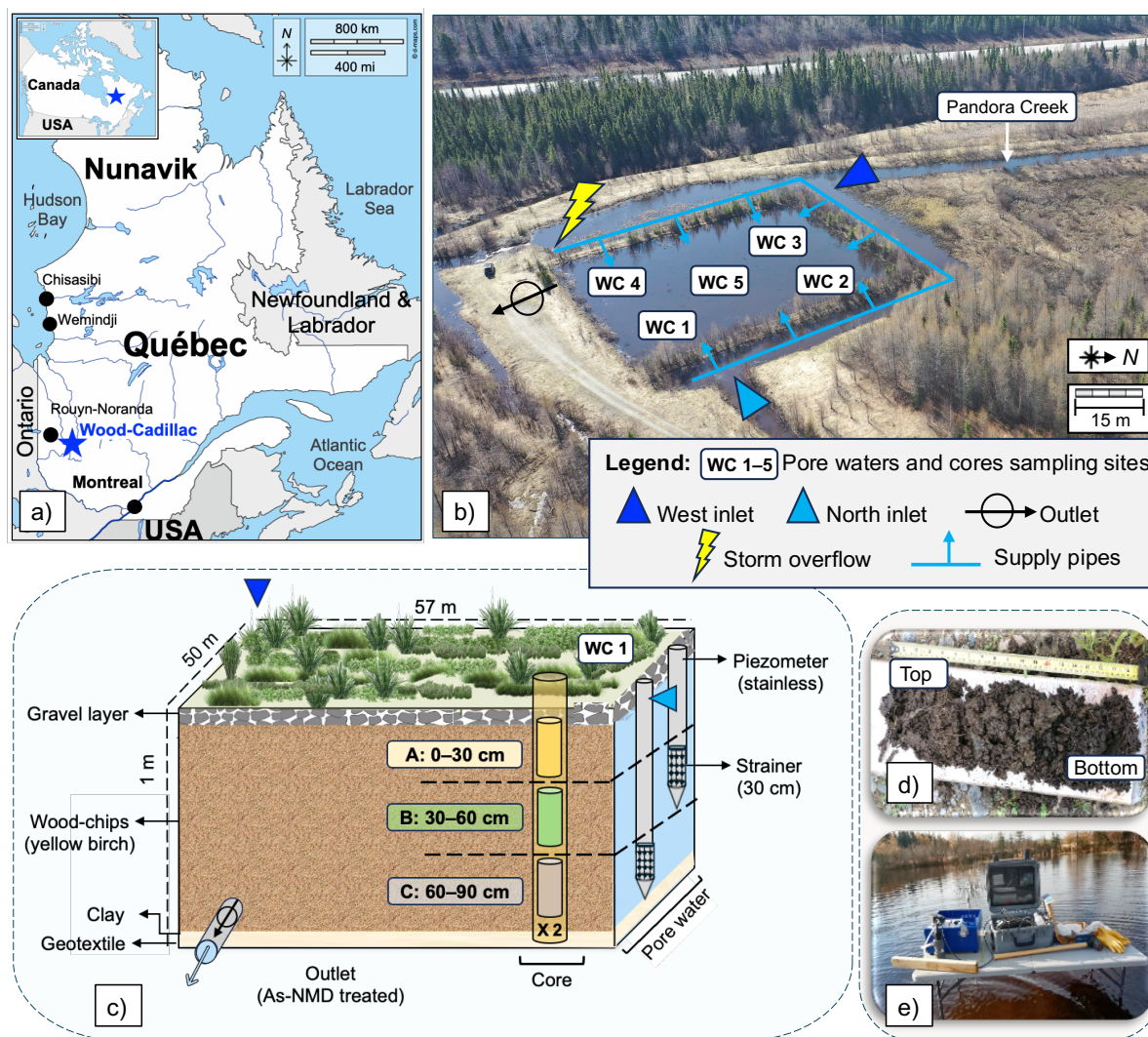


Figure 22.1

Location of the Wood-Cadillac field-scale biofilter in northwestern Québec, Canada (a) aerial site view with sampling locations (b), schematic representation of the biofilter showing the vertical core profile and As-NMD pore water sampling (c), photos of organic residues sampled (d) and equipment used for pore water extraction (e).

Source : adapted from <https://d-maps.com/>.

These stable thermal regimes, observed in polishing peatlands, contribute to As retention by minimizing freeze-induced disruptions to hydraulic flow and redox conditions (Heiderscheidt et al., 2020a; Kujala et al., 2024). By 2002, organic matter accumulation reduced infiltration and decreased maximum discharge from 7 to 5 L/s. A bypass overflow prevents overloading but discharges untreated As-NMD during high-flow events. The system removed >80%

As from 2002 to 2018 ([Turcotte et al., 2021](#)). Sampling was conducted during a single field campaign in October 2022, under mean temperatures of 8°C (day) and 3°C (night). Historical physicochemical characteristics of the As-NMD, including long-term monitoring data provided by the Québec Ministry of Natural Resources and Forests (MRNF), are presented in **Table C1**.

6.5.1.1 Prior investigations in the Wood-Cadillac biofilter

Geochemical and mineralogical assessment of residues accumulated in the Wood-Cadillac biofilter after over 20 years of operation was recently reported ([Mehdaoui et al., 2025a](#)). A strong vertical stratification of Fe, Al, and As concentrations was found, with As retained via sorption onto Fe/Al-(oxy)hydroxides in surface layers and via precipitation as amorphous As sulfides (e.g., FeAsS, AsS) in deeper reducing zones. Reduced sulfur and organosulfur species (e.g., M–S, C–S bonds) were prevalent at depth, indicating sulfidic conditions and interactions between inorganic and organic sulfur pools. Leaching tests showed that most residues met [USEPA Water Quality Criteria \(1992, 1994\)](#), but some exceeded Québec’s D019 thresholds ([MELCCFP, 2025](#)) under aggressive protocols such as modified field leaching test, suggesting that residue management must prevent drying. While confirming long-term As immobilization, these prior investigations did not assess pore water speciation or microbially catalyzed processes, and no study has previously documented the long-term evolution of the woodchip matrix. The present work, therefore, provides the first integrated field-scale evaluation of microbial and geochemical processes in the Wood–Cadillac biofilter after more than two decades of operation.

6.5.2 Water geochemistry

6.5.2.1 Surface and pore water sampling

Water samples were collected in pre-cleaned high-density polyethylene (HDPE) bottles. Surface water was sampled at four locations: west inlet, north inlet, outlet, and top of biofilter surface (layer A). Pore water from subsurface layers (B: 30–60 cm; C: 60–90 cm) was collected using a custom piezometer (Solinst product; **Figure C1**) connected via HDPE tubing to a Spectra Field Pro peristaltic pump equipped with a chemically inert silicone tubing in the pump head. Pore water samples were collected from five locations: four near the perimeter (WC1–WC4, ~5 m from the biofilter borders) and one central point (WC5). Sampling at WC4 was not successful due to clogging of the piezometer intake. Given its location near the outlet and the expected similarity in

water chemistry, the omission was unlikely to significantly impact the interpretations of the results. To prevent cross-contamination between surface water, interstitial water, and other sampling points, an open-bottom plastic basin (92 cm diameter, 20 cm height) was installed at each location, allowing suspended particles displaced during sampling to settle. Prior to each sample collection, the piezometer was purged for around 20 min at a pumping rate of 0.2 L/min until the temperature, pH, and electrical conductivity (EC) stabilized (Bondu et al., 2017). The water pumped from the piezometer was fed directly into a flow-through cell containing the multi-parameter probe.

6.5.2.1.1 Water sample analysis

In situ physicochemical parameters (temperature, pH, dissolved oxygen [DO], redox potential [ORP], EC) were measured using an YSI Professional Plus portable multimeter coupled with a flowthrough cell. Ferrous iron (Fe^{2+}) and soluble sulfides (expressed as S^{2-}) concentrations were measured using a portable spectrophotometer (Hach DR9001; APHA, 2012). ORP was corrected to the standard hydrogen electrode potential (+204 mV) for Eh calculation. Alkalinity was measured with a Metrohm Brinkmann 716 DMS Titrino titrator (APHA, 2012). Total metal(loid) concentrations were measured on filtered (0.45 μm) and preserved (in 2% v/v HNO_3) samples using inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES; Agilent 5800-Vertical Dual View) with a detection limit of 0.03 mg As/L. Anions were analyzed by ion chromatography (Metrohm 881 Compact IC Pro) in unpreserved, filtered (0.45 μm) aliquots. Dissolved As species (As(III), As(V), MMA(V), DMA(V)) were isolated within 24 h using preconditioned (Watts et al., 2010) solid-phase extraction (SPE) cartridges (Agilent Technologies). A 30 mL filtered sample (0.45 μm) was passed through strong cation (SCX) and anion exchange (SAX) cartridges: As(III) was collected in the filtrate and preserved with 2% HNO_3 , while DMA(V), MMA(V), and As(V) were retained on the resins. The SCX and SAX cartridges were then sealed individually in plastic bags and wrapped in parafilm. In the laboratory, DMA(V) was eluted from the SCX cartridge using 5 mL of 1 M HNO_3 , while the SAX cartridge was sequentially treated with 5 mL of 80 mM acetic acid to elute MMA(V), and 5 mL of 1 M HNO_3 to recover As(V). All As species were quantified by ICP-OES.

Porewater samples for sulfur isotope analysis were filtered in-line through a 0.45 μm Waterra FHT-45 microfilter connected in series to the flowthrough cell. Samples were stored at 4°C without acidification and shipped under refrigerated conditions to the Environmental Isotope Laboratory

(Waterloo, ON, Canada). Sulfur-sulfate isotope compositions ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) were determined using a BaSO_4 precipitation method (Isochrom CFRIMS, Micromass, UK; Isoprime CFIMS, GV Instruments). Isotopic compositions are reported using the δ -notation, in permil (‰) relative to the Vienna Canyon Diablo Troilite (VCDT) standard:

$$\delta^{34}\text{S} = \left(\frac{\left[\frac{^{34}\text{S}}{^{32}\text{S}} \right]_{\text{sample}}}{\left[\frac{^{34}\text{S}}{^{32}\text{S}} \right]_{\text{V-CDT}}} - 1 \right) \times 1000\text{‰ VCDT} \quad (6.1)$$

MSR induces isotopic fractionation between residual sulfate and produced sulfide, which can be evaluated using the Rayleigh distillation equation. Under conditions with limited sulfate replenishment, the progressive removal of sulfate results in a predictable heavy isotope enrichment (higher $\delta^{34}\text{S}$) of the ($^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) reactant pool. This isotopic evolution was assessed using the Rayleigh equation (Eq. 2), which relates $\delta^{34}\text{S}$ to the fraction of remaining sulfate (f):

$$\delta^{34}\text{SO}_4^{2-} = f^{(\alpha_{\frac{\text{H}_2\text{S}}{\text{SO}_4^{2-}}} - 1)} (\delta^{34}\text{SO}_4^{2-} + 1000) - 1000 \quad (6.2)$$

where $\delta^{34}\text{SO}_4^{2-}$ represents the isotopic composition of sulfur in sulphate at the inlets at the time of samplings, f represent the remaining (residual) fraction of SO_4^{2-} of the field-scale biofilter following its transformation into H_2S , and $\alpha_{\frac{\text{H}_2\text{S}}{\text{SO}_4^{2-}}}$ represents the isotopic fractionation factor between SO_4^{2-} and H_2S , (with $\alpha_{\frac{\text{H}_2\text{S}}{\text{SO}_4^{2-}}} = \frac{1}{\alpha_{\frac{\text{SO}_4^{2-}}{\text{H}_2\text{S}}}}$). Total sulfur concentration in surface water samples

was determined by ICP-OES. Samples were placed on ice in coolers and transported to the laboratory on the same day. Samples not analyzed immediately were stored at 5°C until analysis.

6.5.3 Microbial profiling in soil samples

6.5.3.1 Sampling, DNA extraction, and sequencing

Microbiological analyses of prokaryotic and fungal communities were performed on 30 samples. Solid cores were collected using a custom manual corer (1 m length, 25 cm width) after pore water sampling. More details are provided elsewhere (Mehdaoui et al., 2025a; **Figure C1**). At each sampling site (WC1–WC5), six samples were collected from two cores, each divided into three depth-specific subsamples: A (0–30 cm), B (30–60 cm), and C (60–90 cm), to investigate variations in the microbial community within the vertical profile in the field-scale biofilter

(**Figure 6.1c**). Samples were collected within the same week, transported at 5°C, and stored at –20°C until DNA extraction.

Total genomic DNA was extracted from the solid soil samples using the PowerSoil DNA Kit (Qiagen), following the manufacturer's protocol. A negative control for each extraction kit was processed and sequenced under the same conditions as the samples. For prokaryotic analysis, the V4 region of 16S RNA genes was amplified by PCR using the 515F/926R primer pair (515F: GTGYCAGCMGCCGCGGTAA – 926R: CCGYCAATTYMTTTRAGTTT). Fungal communities were assessed by amplifying the nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region using ITS1F/ITS2 primers (ITS1F: CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA, ITS2: GCTGCGTTCTTCATCGATGC). DNA libraries were sequenced using MiSeq paired-end 2 × 300 base pair, v3 Kit (600–cycles, Illumina reference MS–102–3003) at the UQAM CERMO–FC Genomics Platform (Montreal, QC, Canada).

6.5.3.2 Sequence data processing: Bioinformatics, statistics, and multivariate analysis

Demultiplexed sequences were processed using the amplicon sequence variant (ASV) approach in DADA2 (v1.22; [Callahan et al., 2016](#)) with adapter trimming performed using cutadapt. Reads were truncated based on declining quality scores, assembled, and filtered to remove chimeric and organelle sequences during bioinformatic processing by the CERMO-FC. The SILVA v138.1 database was used both for chimera filtering and taxonomic classification. Prokaryotic taxonomy was assigned using the IdTaxa algorithm from the DECIPHER package ([Murali et al., 2018](#)) and assessed at the phylum and genus levels. The taxonomy file was screened for microorganisms associated with S, Fe, and As transformations. Additionally, microbial diversity was assessed and compared among different depths and sampling sites, to analyze the microbial spatial distribution and its impact on the biofilter performance. All metabolic and statistical analyses, together with data visualization, were performed with R software using the *microeco* package (1.12.0) ([Liu et al., 2021](#)). ASV-specific functional profiles (i.e., metabolic functions) were inferred using FAPROTAX ([Louca et al., 2016](#)) and FUNGuild ([Nguyen et al., 2016](#)) for prokaryotic and fungal datasets, respectively. Microbial α -diversity was assessed using the Shannon and Simpson indices, while β -diversity was investigated using the Bray–Curtis dissimilarity and visualized through a principal coordinates analysis (PCoA). The differences in the community composition between depths of the biofilter vertical profile were tested using the Wilcoxon rank-sum test (W).

Correlations between β -diversity and pore water physicochemical parameters were evaluated at each sampling depth. Redundancy analysis (RDA) was performed to explore the relationships between microbial communities and environmental gradients, and to identify key physicochemical drivers of the microbial community. Analysis of variance (ANOVA) was used to compare microbial community distributions across sampling sites and depths when assumptions of normality and homogeneity of variances were met. For comparisons involving non-normally distributed data, the Kruskal–Wallis (KW) test was applied, followed by the Dunn’s post hoc test for pairwise comparisons of physicochemical parameters and predicted functional traits.

6.6 Results and discussion

6.6.1 Spatial variability of physicochemical parameters in the Wood-Cadillac field-scale biofilter

Physicochemical parameters showed significant heterogeneity across the passive biofilter (KW; $p < 0.001$; **Table C1**; **Figure C2**). The conceptual model (**Figure 6.2**) summarizes the spatial distribution of As, S, and Fe, highlighting redox-driven heterogeneity (Eh, pH, DO) across horizontal and vertical layers (**Table 6.1**). The complete porewater geochemical dataset is provided in **Table C2**. Internal layers (B, C; 30–90 cm) showed higher porewater temperatures (up to 11.4°C) than inlets (North, West) and the surface of biofilter (6.35–7.30°C), because of thermal insulation due to biofilter design. The pH remained circumneutral throughout the vertical profile, irrespective of depth. Despite sub-zero winter air temperatures, snow cover and substrate insulation maintain $>5^{\circ}\text{C}$ in deeper layers ([Kujala et al., 2024](#)), preserving the redox stratification that controls As retention in cold seasons. Redox stratification was observed: oxic conditions prevailed in the surface and inlet waters (DO up to 9.9 mg/L; Eh +325 mV), while suboxic to reducing conditions developed with depth (DO down to 0.1 mg/L; Eh –48.3 mV), promoting anaerobic respiration. High Fe(II) concentrations (1.98–4.36 mg/L) suggested active Fe(III) reduction.

Iron cycling was central to these processes: Fe-(oxy)hydroxides in upper and middle layers ([Mehdaoui et al., 2025a](#)) likely underwent reductive dissolution by Fe(III)-reducing bacteria, releasing Fe(II) and mobilizing sorbed As. With depth, Fe(II) co-occurred with sulfides (up to 1.32 mg/L) and dissolved As, creating geochemical hotspots where amorphous Fe–As–S phases (e.g., FeAsS, AsS) precipitated under the low dissolved metal(oid) concentrations typical of As-NMD, as confirmed by solid-phase analyses ([Mehdaoui et al., 2025a](#)).

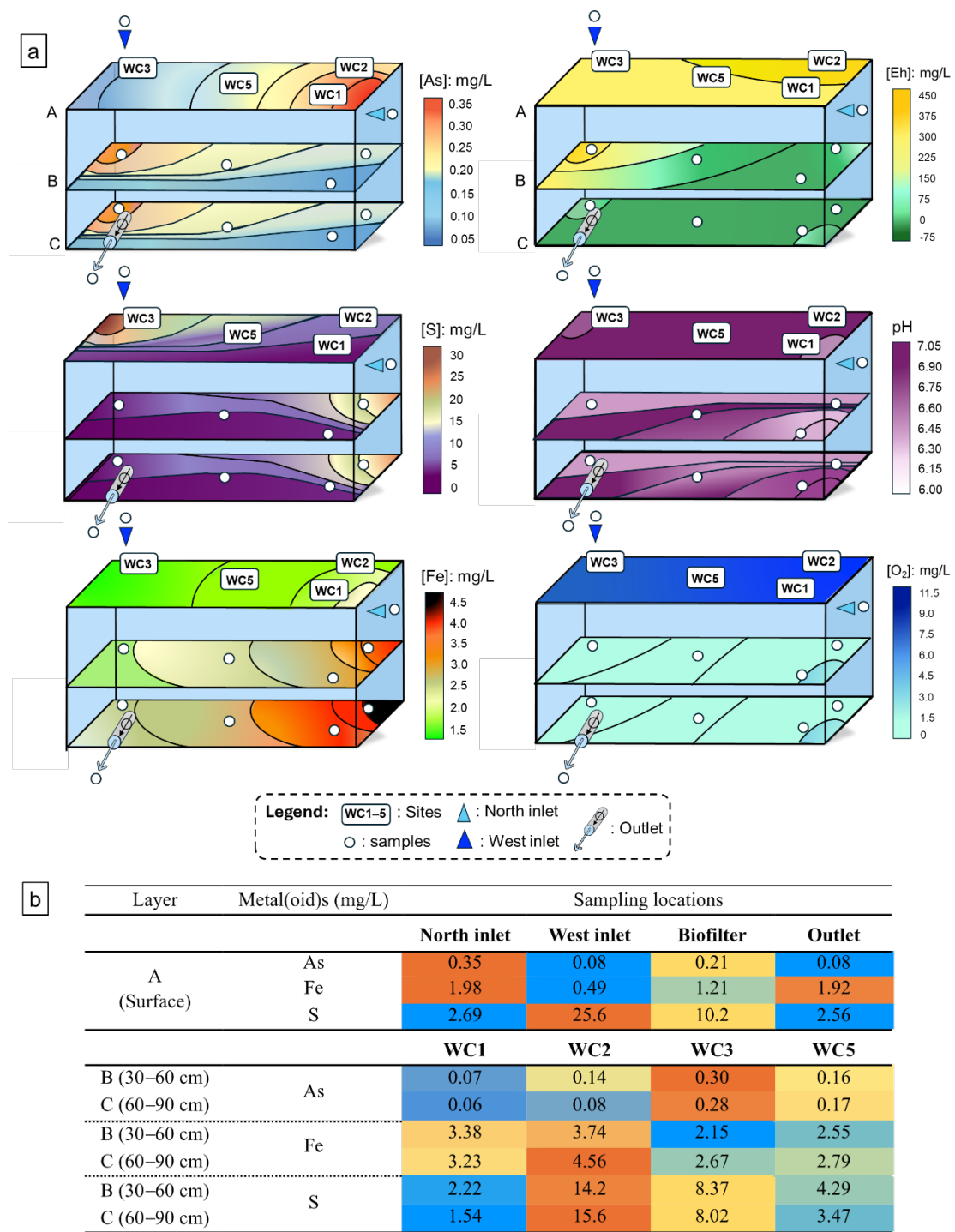


Figure 232
(a) Conceptual model of spatial distribution of physicochemical parameters (Eh, pH, DO, As, Fe, and S) in surface and pore water within the field-scale biofilter, and (b) a color-coded concentration map of As, Fe, and S (red = high, yellow = medium, blue = low).

Sulfate concentrations differed between inlets (11 mg/L North vs. 61 mg/L West) and generally declined with depth (10 mg/L at the outlet), while high sulfide (up to 1.32 mg/L) indicated ongoing MSR. Localized higher sulfate concentrations, in some deep zones (e.g., 30 mg/L at WC2), likely reflect partial mixing and heterogeneous flow paths.

The predominance of oxidized sulfur species (SO_4^{2-}) in surface waters, and enrichment in reduced sulfur and organosulfur compounds (M–S, C–S) at depth, highlight the tight coupling of Fe cycling with MSR as a key mechanism sustaining long-term As sequestration. The detection of C–S bonds suggests that thiol-bearing organic matter and Fe(II/III) complexes further contributed to retention (Catrouillet et al., 2016). Collectively, these Fe–S–As interactions underline the pivotal role of iron as (i) sorbent in oxic layers, (ii) electron acceptor in suboxic zones, and (iii) co-precipitating agent with As and S in anoxic layers, thereby ensuring the long-term stability of As in the biofilter.

The distribution of aqueous As in the biofilter was variable, with the highest As concentration (0.35 mg/L) at the north inlet, and the lowest concentration (0.08 mg/L) at the west inlet from Pandora Creek. Surface waters within the biofilter showed intermediate concentrations (0.21 mg As/L), suggesting dominant As contributions from the north inlet. Depth profiles at WC1 indicate that As is more abundant in porewaters of the middle and bottom layers, due to the existence of enriched zones likely associated with flow stagnation or extended residence times, despite a nominal 25 h of HRT. At WC3, localized accumulation at close to west inlet, may reflect uneven inflow from damaged pipes, while partial dissolution of Fe-(oxy)hydroxides concentrated in deeper layers (Mehdaoui et al., 2025a) likely contributed to As release.

Overall, this stratification reflects preferential contaminants retention near the inlets, a common feature in natural peatlands polishing As-NMD, where flow constraints and biogeochemical gradients promote localized accumulation (Eberle et al., 2021). Arsenic removal reached ~80% throughout the biofilter, with porewater concentrations decreasing to 0.21 mg/L, at the center (WC5), and 0.08 mg/L at the outlet, in compliance with the Canada's federal regulation ($\text{As} \leq 0.30$ mg/L; Canadian Minister of Justice, 2024). Long-term MRNF monitoring (2000–2018; Table C1) further supports this stability: while inlets As rose from ~0.10 to 0.73 mg/L, outlet values remained low and consistent (≤ 0.10 mg/L), confirming the long-term stability of the filter performance over nearly two decades, despite variations in climate.

Table 6.1**Physicochemical parameters measured in water samples collected throughout the vertical profile of the Wood-Cadillac biofilter.**

Samples		Physicochemical parameters									
		Temperature	pH	Eh	EC	DO	Fe(II)	Fe _{total}	SO ₄ ²⁻	S ²⁻	Alkalinity
		(°C)		(mV)	(µS/cm)			(mg/L)			(mg/L CaCO ₃)
Surface layer	North inlet	6.60	6.67	295	55.9	9.86	0.38	1.98	11	0.10	14.6
	West inlet	7.30	6.90	325	244	7.44	0.15	0.49	61	0.20	30.6
	Surface (A)	6.35	7.00	314	122	8.62	0.12	1.21	21	0.05	20.3
	Outlet	8.90	6.50	58.3	82.1	1.70	1.88	1.92	10	1.32	28.6
Layer B: 30–60 cm	WC1	9.70	6.22	–12.0	75.6	1.10	2.80	3.38	11	0.04	24.9
	WC2	6.70	6.50	87.7	148.2	0.25	2.29	3.74	28	0.35	15.4
	WC3	9.30	6.46	339	113.9	0.18	1.90	2.15	20	0.41	19.2
	WC5	11.4	6.67	–17.9	91.5	0.10	2.38	2.55	13	0.78	26.2
Layer C: 60–90 cm	WC1	9.10	6.92	42.8	74.2	0.14	2.58	3.23	10	0.12	25.2
	WC2	7.90	6.58	3.90	168	0.50	4.36	4.56	30	0.61	20.2
	WC3	10.0	6.58	17.1	114	0.47	2.47	2.67	19	1.18	24.1
	WC5	11.0	6.55	–48.3	83.0	0.45	2.36	2.79	11	0.64	27.8

6.6.2 Distribution of As species in the Wood-Cadillac biofilter

Arsenic speciation showed a pronounced vertical gradient governed by redox stratification and microbially mediated processes (**Figure 6.3**; **Table 6.1**; data on As species is available in **Table C3**). In surface waters (inlets and surface biofilter), As(V) dominated the dissolved phase ($50 \pm 8.0\%$), particularly at the northern inlet ($210 \mu\text{g/L}$), reflecting oxidizing conditions and oxygenated inflows. The presence of As(V), coupled with low proportions of As(III) ($15 \pm 8\%$) and methylated species, including MMA(V) ($31 \pm 15\%$) and DMA(V) ($5.4 \pm 1.5\%$), indicated limited microbial activity. The surface biofilter layer likely acts as an oxidative barrier, where As(V) is efficiently retained by reactive mineral and organic components, while deeper zones favor reductive transformation and methylation.

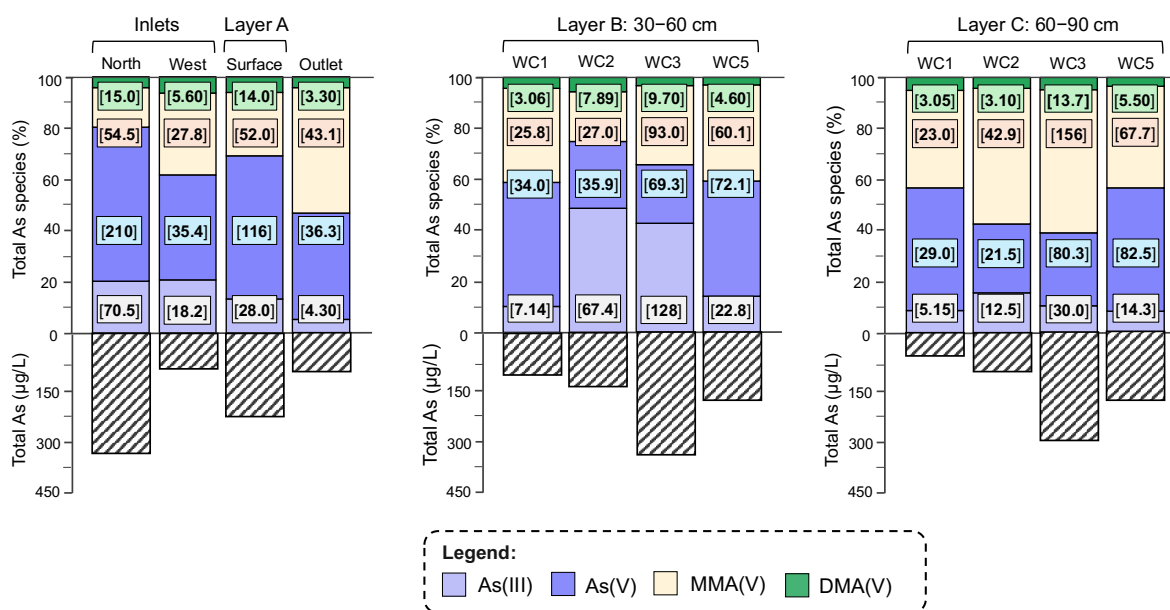


Figure 24.3

Adjusted proportions of dissolved As species (% of total As, corrected to 100%) and total As ($\mu\text{g/L}$) across sampling points (WC1–WC5) and depths (A: 0–30, B: 30–60, and C: 60–90 cm). Bracketed values indicate concentrations of As(III, V), MMA(V), and DMA(V) in $\mu\text{g As/L}$.

Towards the middle layer (B: 30–60 cm), declining redox potential enabled microbial As(V) reduction, reflected by a decrease in As(V) ($32 \pm 10\%$) and an increase in As(III) ($27 \pm 20\%$) relative to surface waters. Lateral variability in As(III) concentrations — from $7.14 \mu\text{g/L}$ at WC1 to $128 \mu\text{g/L}$ at WC3 — suggests the presence of localized hotspots of As(V) microbial

reductive activity, possibly governed by carbon availability or HRT. High MMA(V) concentrations at WC5 and WC3 (up to 93.0 µg/L) suggest the onset of enzymatic methylation. An alternative mechanism, such as organosulfur complexation, could have contributed to the MMA(V) accumulation. This microbial ArsM transformation occurs when respiratory electron acceptors are depleted, redirecting As(III) toward detoxification pathways (Qian et al., 2023; Kujala et al., 2022, 2024).

In the bottom layer (60–90 cm), MMA(V) was the predominant species (up to 156 µg/L), while As(V) was nearly absent and As(III) was present at moderate levels. This pattern is characteristic of anaerobic methylation in electron acceptor-depleted environments. A high concentration of MMA(V), and a minimal DMA(V) (< 10%), suggests a bottleneck within the methylation (efficient detoxification microbial mechanism that mitigates intracellular toxicity of As under anoxic conditions; Qian et al., 2023), potentially due to metabolic regulation.

Chemical stabilization may also contribute to the persistence of MMA(V) and As(III). Covalent bonding with reduced sulfur groups — particularly thiol-bearing organic matter and thiolated As complexes (e.g., HAsS_4^{2-}) — can greatly reduce the solubility and mobility of As under organic-rich anoxic conditions (Catrouillet et al., 2016; Mehdaoui et al., 2025a). The interactions may contribute to the methylated species retention within the deeper, reduced zones of the biofilter. These patterns show the vertical progression of As transformations — from oxidative retention to microbial reduction and methylation — and the influence of sulfur reactivity on the persistence of reduced and methylated As species. The outlet profile shows the integration of these biogeochemical processes across the biofilter.

6.6.3 Sulfur isotope composition ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) as a tracer of microbial sulfate reduction

The expected effects of major biotic and abiotic processes on sulfate concentrations and $\delta^{34}\text{S}$ are summarized in **Table 6.2**.

The MSR and sulfate dilution/precipitation appear to dominate sulfur cycling in the Wood-Cadillac biofilter. The isotopic composition of sulfate measured throughout the field-scale biofilter (**Figure 6.4a**) tends to support the occurrence of active MSR under anoxic conditions. Inlet waters show relatively low $\delta^{34}\text{S}$ values (7.47–9.32‰), while the outlet showed a higher value (12.6‰), reflecting the progressive reduction of $^{32}\text{SO}_4^{2-}$ and the heavy isotope enrichment

of the residual sulfate pool along the flow paths. The relationship between $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ and the residual sulfate fraction (f) (**Figure 6.4b**) reveals that samples plot below the theoretical Rayleigh fractionation trend (**Figure 6.4b**), calculated assuming a fractionation factor ($\alpha_{\frac{\text{SO}_4^{2-}}{\text{H}_2\text{S}}}$) ranging between 1.016 and 1.048 — values typical for MSR in organic-rich, anoxic environments (Habicht & Canfield, 1997; Canfield, 2001).

Table 6.2

Summary of the effect of the most common biogeochemical processes on sulfate (SO_4^{2-})/hydrogen sulfide (H_2S) concentrations and sulfur isotopic composition ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$).

Process	Effect on the concentration	Effects on the isotopic composition of the residual species	References
Microbial sulfate reduction (MSR)	$\downarrow[\text{SO}_4^{2-}]$; $\uparrow[\text{H}_2\text{S}]$	$\uparrow\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ due to preferential reduction of $^{32}\text{SO}_4^{2-}$	Pester et al. (2012); Fischer et al. (2022)
Sulfide oxidation	$\downarrow[\text{H}_2\text{S}]$; $\uparrow[\text{SO}_4^{2-}]$	$\downarrow\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ when sulfate inherits the low $\delta^{34}\text{S}$ of a reduced sulfur source	Sharp (2017)
Mineral dissolution	$\uparrow[\text{SO}_4^{2-}]$	$\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ will reflect the mineral isotopic composition	Fischer et al. (2022)
Sulfate mineral precipitation	$\downarrow[\text{SO}_4^{2-}]$	Slight $\downarrow\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ as residual sulfate may become depleted in heavy isotopes	Sharp (2017)
Mixing of water sources	Variable	Intermediate $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ with non-linear shifts depending on mixing ratios, isotopic compositions and SO_4^{2-} concentrations	Fischer et al. (2022)
Organic sulfur mineralization	$\uparrow[\text{SO}_4^{2-}]$	$\downarrow\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ due to the low $\delta^{34}\text{S}$ of organic matter	Sharp (2017)
Dilution	$\downarrow[\text{SO}_4^{2-}]$	Minimal effect: low-sulfate inputs have a limited influence on $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$	Sharp (2017); Fischer et al. (2022)
Sorption onto organic soil	$\downarrow[\text{SO}_4^{2-}]$	No significant isotopic fractionation	Sharp (2017)

Processes with the greatest relevance are highlighted in bold.

The Rayleigh model was parameterized using the West inlet as the initial sulfate source, (with a sulfate concentration of 61 mg/L and a $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ of 7.47‰) and assuming a $\alpha_{\frac{\text{SO}_4^{2-}}{\text{H}_2\text{S}}}$ of 1.032. The main causes that could explain the position of the points below the theoretical curve representing the Rayleigh equation include (1) mixing with water from the surface (dilution), (2) mixing with water from the west and north inlets that has percolated through preferential flow paths, and (3) the impact of H_2S oxidation in the samples prior to isotopic analysis (mainly for the samples corresponding to the outlet, WC5 (layers B and C) and WC3 (layer C), which contain higher concentrations of H_2S). The potential effects of H_2S oxidation to SO_4^{2-} on the isotopic compositions measured in the samples were evaluated on a theoretical basis, and the results are presented in **Table C4**. Nevertheless, the measured isotopic compositions are consistent with the hypothesis that MSR occurs within the biofilter, as they show a general increase in $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ from the inlet to the outlet.

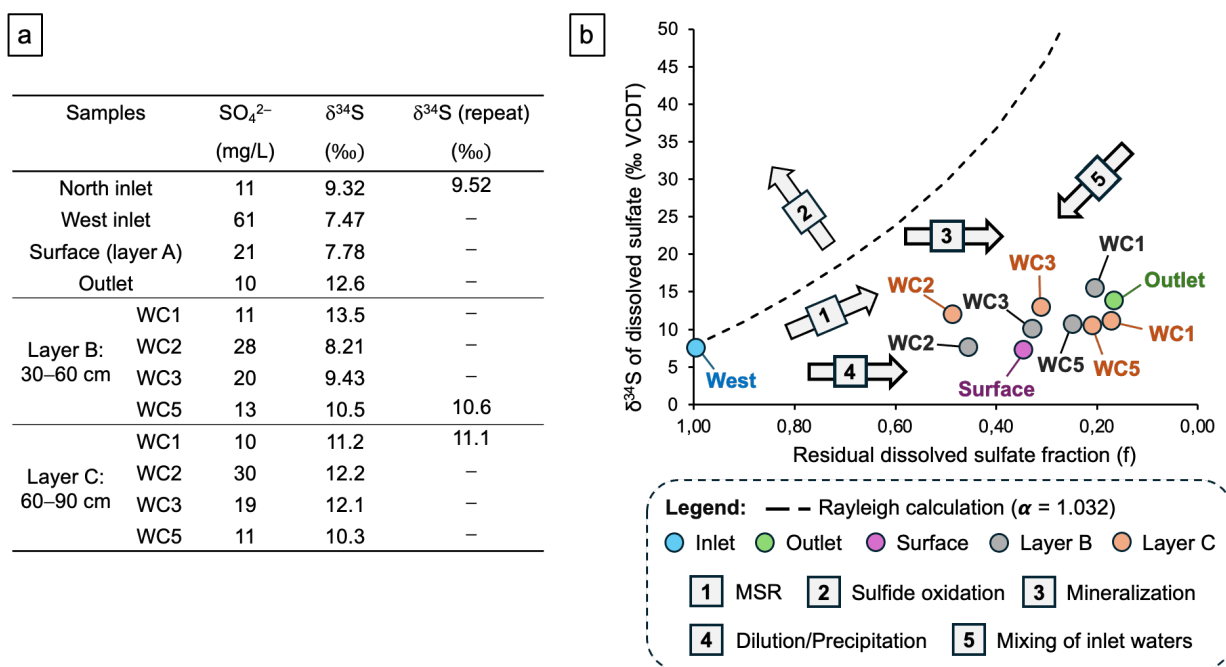


Figure 25.4

Sulfate and $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ concentrations across the field-scale biofilter (a) and $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ values as a function of residual sulfate fraction (f) (b). Arrows indicate dominant geochemical processes influencing S-cycling.

The $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ showed strong vertical variability. Surface water (7.78‰) mirrored the inlets, suggesting minimal MSR near the surface — consistent with the strict anaerobic requirements of sulfate reducers. In contrast, middle and bottom layers showed $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ ranging from 8.21‰ to 13.5‰, with the highest values (>12.0‰ in layer B: WC1 and layer C: WC2, WC3) corresponding to zones of pronounced sulfate depletion. These results suggest the existence of spatially discrete MSR hotspots. Lower $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ values (7.47–9.43‰) observed in some samples may reflect incomplete reduction or slight mixing with sulfate sources presenting lower $\delta^{34}\text{S}$. Dilution effects on measured $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ values are likely negligible, given the low sulfate concentrations and $\delta^{34}\text{S}$ typically found in local atmospheric inputs (3.1–6.7‰; Caron et al., 1986). Similar isotopic compositions ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) were reported in organic-rich systems, such as As-bearing tailings (10–30‰; Verbuyst et al., 2024) and acid mine drainage-affected watersheds (2.1–17.0‰; Fischer et al., 2022). They support the $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ as an integrative tracer of MSR in both natural and engineered treatment systems.

The vertical variability in $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ in the field-scale biofilter suggests the existence of discrete MSR hotspots associated with local redox and substrate conditions. The concept of hotspots of high microbial activity within organic-rich systems, where electron donor availability and anoxic conditions support active sulfur transformation and As immobilization is supported. Several SRB taxa — including *Desulfobulbus*, *Desulfosporosinus*, *Desulfosarcina*, *Desulfatirhabdium*, *Desulfopila*, and representatives of the *Desulfobacteraceae* and *Desulfobulbaceae* families — are known to induce heavy isotope enrichments in residual SO_4^{2-} (up to > 40‰), depending on sulfate availability, carbon sources, and redox dynamics (Canfield, 2001; Pester et al., 2012). *Desulfosporosinus* and *Desulfobulbus* can remain metabolically active even at low abundance and sustain fractionation even in low-sulfate environments.

Together, $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ and sulfate depletion profiles reveal the spatial heterogeneity of MSR and identify discrete microbial hotspots. These findings motivated a deeper investigation into the taxonomic and functional structure of the prokaryotic and fungal communities to better characterize the microbial drivers of coupled S- and As-cycling under field-scale conditions.

6.6.4 Prokaryotic and fungal communities in the field-scale biofilter

6.6.4.1 Spatial distribution of microbiomes

A total of 243,285 raw reads were obtained for prokaryotes, with a mean of $2,380 \pm 874$ ASVs per sample (ranging from 865 to 3,496 ASVs), and with 3 ± 1 reads per ASV. The lowest diversity (865 ASVs) was recorded at the deepest point of WC4, whereas the highest diversity (4,380 ASVs) was recorded in layer B at site WC1. Fungal communities yielded 392,524 reads, with a mean of 602 ± 166 ASVs per sample (ASVs ranging from 288 to 929, and 23 ± 10 reads per ASV). The lowest diversity (288 ASVs) was observed at the deepest layer of site WC5, while the highest diversity (903 ASVs) was recorded in layer B at site WC3.

A Venn diagram, based on 30 samples collected within the field-scale biofilter, shows the occurrence of prokaryotic and fungal ASVs at different depths (**Figure C6a, c**) and sites (**Figure C6b, d**). Prokaryotic communities throughout the vertical profile of the biofilter showed a high number of shared taxa, with 4,926 ASVs (that accounted for 92% of total sequences) shared across depths, indicating also taxa ubiquity. The numbers of depth-specific ASVs detected in the samples were relatively low, with 1,017 ASV (0.5% reads) exclusive to A, 1,209 (0.7%) to B, and 1,103 (1.3%) to C, suggesting depth-dependent environmental influences. The horizontal distribution of prokaryotes followed a similar trend, with 2,713 ASVs (78%) present across sites, though local differences persisted.

Fungal communities in the samples showed greater consistency than prokaryotes, with 1,199 ASVs (accounting for 99% of the sequence reads) shared across depths and 694 (96%) across sites, suggesting efficient distribution of the ASVs across samples and thus limited influence of physicochemical parameters on the fungal populations, either due to lower sensitivity to environmental factor, broader ecological plasticity, or the dominance of endemic strains well adapted to prevailing conditions than prokaryotic communities ([Bahram et al., 2018](#)). These findings indicate that while most microbial communities were widely distributed, prokaryotes showed stronger spatial structuring within the biofilter, whereas fungi were less affected by environmental gradients.

6.6.4.2 Diversity of microbial communities

Prokaryotic and fungal communities were analyzed at the phylum level in samples collected from different sites and depths based on the Bray-Curtis dissimilarity index, which considers the ASV counts in each library (**Figure 6.5**).

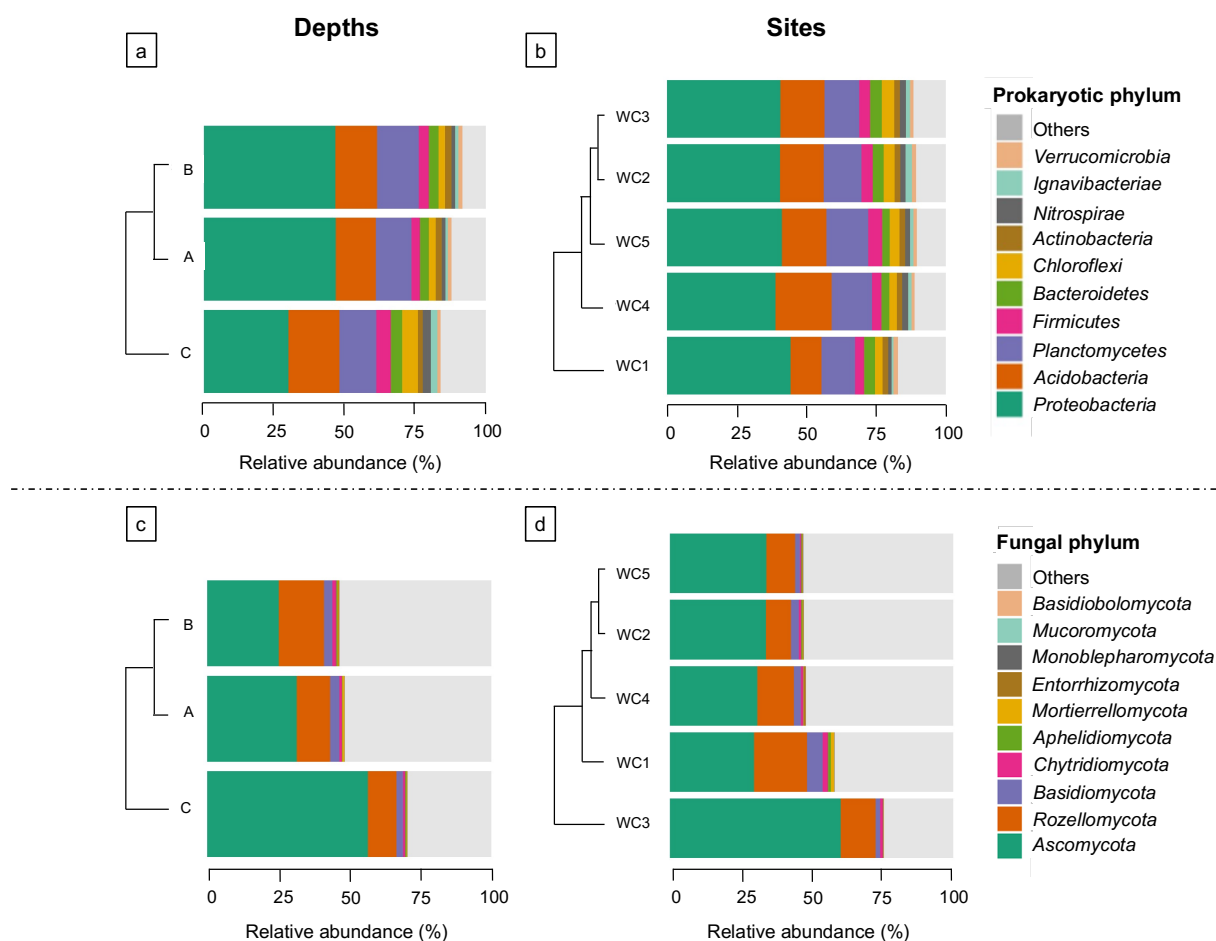


Figure 0.5

Relative proportions of the 10 most abundant (a, b) prokaryotic and (c, d) fungal phyla in the field-scale biofilter samples collected at (a, c) 3 depths (A: 0–30, B: 30–60, and C: 60–90 cm), and (b, d) 5 sampling locations (WC1–WC5), based on hierarchical clustering of the Bray-Curtis dissimilarity index.

Detailed site-specific data are provided in **Figure C4, C5**. Despite variations in prokaryotic richness (**Table C5, C6**), the differences in α -diversity were not significant (ANOVA, $p > 0.05$) among either depths or sites (**Table C7**), indicating that the overall numbers and distribution of taxa were relatively stable within the field-scale biofilter. *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, and

Planctomycetes were the most dominant phyla, with the sum of their relative abundances accounting for > 60% of total reads in all samples, except for the samples collected at the greatest depth (which contained lower proportions of the three dominant phyla). The sum of relative abundances of *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Chloroflexi* remained below 10% in the samples. A lower relative abundance of *Proteobacteria* (30% of total reads) was observed at the greatest depth (60–90 cm) of the vertical profile of the biofilter compared to other layers, indicating depth-related shifts in the composition of the prokaryotic communities. Fungal communities were primarily composed of *Ascomycota* (ranging between 31–60%) and *Rozellomycota* (10–20%), with lower proportions of *Basidiomycota* (3.0–6.0%), *Chytridiomycota* (< 2.0%), and *Aphelidiomycota* (< 1.0%).

A greater abundance of *Ascomycota* (up to 56% of total reads) was detected in samples from the deeper zones of the biofilter compared to upper layers (29 and 26% were detected in the top and middle layers respectively), suggesting depth-related selection pressure. In contrast to prokaryotes, fungal community composition and α -diversity indices (Shannon, Simpson, Chao1; **Table C8**) varied highly significantly across sites and depths (ANOVA, $p < 0.001$), indicating that site-specific community structure and rare species richness were more sensitive to depth gradients reflecting localized environmental variability.

Proteobacteria, *Acidobacteria*, and *Planctomycetes* were the most dominant phyla, with the sum of their relative abundances accounting for > 60% of total reads in all samples, except for the samples collected at the greatest depth (which contained lower proportions of the three dominant phyla). In contrast, the sum of relative abundances of *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Chloroflexi* remained below 10% in the samples. A lower relative abundance of *Proteobacteria* (30% of total reads) was observed at the greatest depth (60–90 cm) of the vertical profile of the biofilter compared to other layers, indicating depth-related shifts in the composition of the prokaryotic communities. Fungal communities were primarily composed of *Ascomycota* (ranging between 31–60%) and *Rozellomycota* (10–20%), with lower proportions of *Basidiomycota* (3.0–6.0%), *Chytridiomycota* (< 2.0%), and *Aphelidiomycota* (< 1.0%). Notably, a greater abundance of *Ascomycota* (up to 56% of total reads) was detected in samples from the deeper zones of the biofilter compared to upper layers (29 and 26% were detected in the top and middle layers respectively), suggesting depth-related selection pressure.

In contrast to prokaryotes, fungal community composition and α -diversity indices (Shannon, Simpson, Chao1; **Table C6**) varied highly significantly across sites and depths (ANOVA, $p < 0.001$), indicating that site-specific community structure and rare species richness were more sensitive to depth gradients reflecting localized environmental variability.

6.6.4.3 Depth-driven variations in microbial community structure

Depth-related variation in microbial β -diversity was initially visualized using principal coordinates analysis (PCoA) based on Bray–Curtis dissimilarity (**Figure C7**). Both prokaryotic and fungal communities showed partial clustering within the vertical profile. Bray–Curtis distance-based analysis confirmed statistically significant differences in prokaryotic community composition between the 0–30 cm and 60–90 cm depth layers (W , $p < 0.05$). Fungal communities showed significant dissimilarities between 0–30 cm and 60–90 cm (W , $p < 0.01$), and between 30–60 cm and 60–90 cm (W , $p < 0.001$). To identify the environmental drivers underpinning the patterns in the field-scale biofilter, RDA was conducted (**Figure 6.6**).

The first RDA axis accounted for 54.4% and 70.1% of the variance in prokaryotic and fungal datasets, respectively, underscoring strong environmental filtering with the measured physicochemical variables. Prokaryotic and fungal taxa showed clear correlations with environmental factors. Sulfate-reducing taxa (e.g., *Thermodesulfovibrio*, *Caldisphaera*) (Macur et al., 2004) were positively correlated with Fe^{2+} , S^{2-} , and temperature, whereas *Bradyrhizobium*, *Hyphomicrobium*, and *Methylocystis* were negatively correlated with As.

In contrast, fungal genera such as *Hyaloscypha*, *Ramgea*, *Holwaya*, and *Pseudotaeniolina* show positive correlations with As, suggesting tolerance to high As levels (Yin et al., 2024). The level of microbial community dispersion was greater in surface layers (0–30 cm), indicating higher variability, while deeper layers (60–90 cm) showed more constrained structuring of the microbiome. The above aligns with the ecological niche differentiation hypothesis, wherein dynamic and heterogeneous biogeochemical conditions near the surface levels promote functional diversity, while deeper layers, which are buffered from environmental fluctuations, promote the establishment of more specialized communities (Thevenot et al., 2025b).

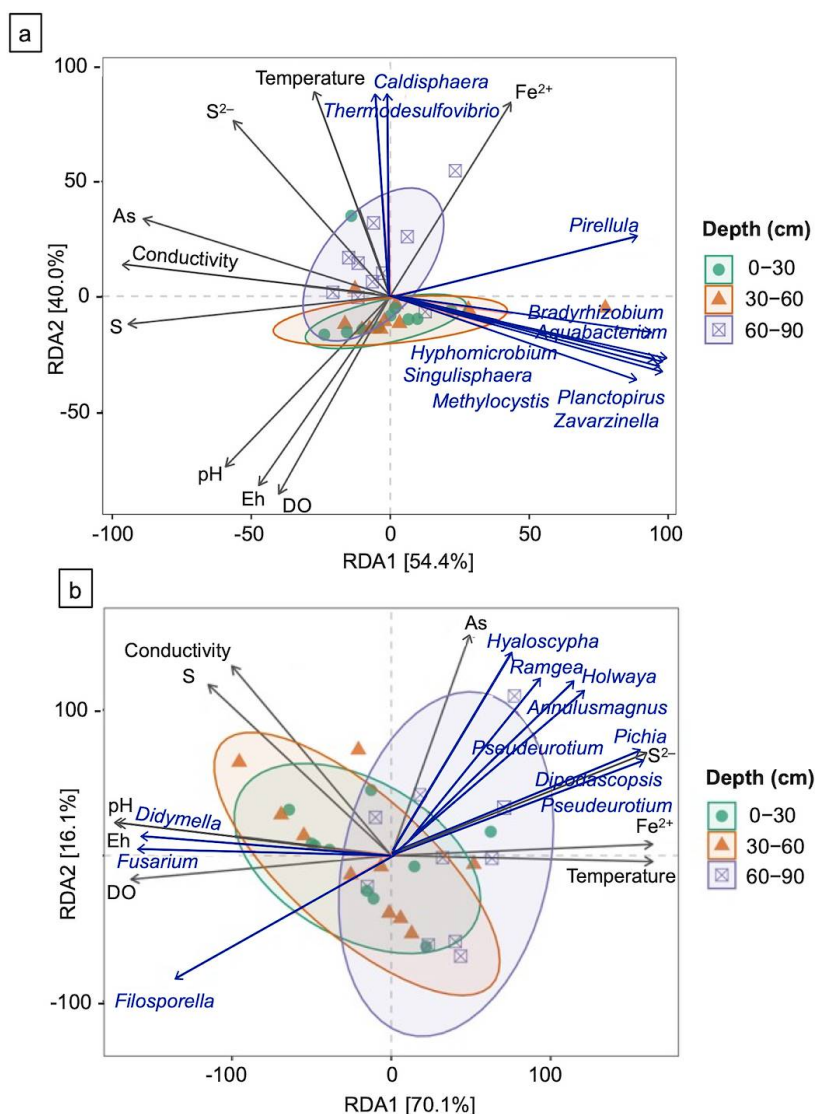


Figure 0.6

Redundancy analysis (RDA) showing the responses of (a) prokaryotic and (b) fungal communities to physicochemical variables within the vertical profile of the field-scale biofilter. Arrows represent the direction and strength of correlations between microbiomes and environmental gradients. Only the ten taxa showing the strongest correlations with the canonical axes are plotted.

The presence of As-tolerant fungal taxa in deeper layers also raises the possibility of their functional role in As immobilization or transformation. These genera may contribute to detoxification processes or participate in As cycling under specific redox or organic matter conditions, a hypothesis that requires further in-depth investigations. Microbial data reflects a single sampling event in October 2022. Seasonal fluctuations, particularly in the surface layers,

may have influenced the microbial populations through changes in temperature and organic matter availability, as reported in cold-region peatlands and passive bioreactors (Nielsen et al., 2018; Kujala et al., 2024).

In contrast, microbial communities in deeper layers were likely buffered from such variations by more stable thermal and redox conditions. Long-term, multi-season monitoring would be necessary to fully characterize the seasonal dynamics of microbiome composition in the field-scale biofilter.

6.6.4.4 Microbial functional profiles

Microbial community function varied significantly across the biofilter's vertical profile, with distinct patterns observed between prokaryotic (**Figure 6.7a**) and fungal (**Figure 6.7b**) groups, reflecting variations in redox conditions and nutrient availability. Depth-dependent increases in sulfate respiration and methanogenesis were observed and previously documented in Wood-Cadillac biofilter (Germain & Cyr, 2003), reaching maximum activity at 60–90 cm — reflecting a transition to strictly anaerobic conditions. The increasing abundance of SRB, responsible for reducing sulfate and intermediate sulfur species (e.g., sulfite, thiosulfate), suggests enhanced MSR driven by available electron donors (e.g., H_2 , labile organic compounds) under reducing conditions (**Table 6.1**). Methanogenic activity — especially hydrogenotrophic pathways — also increased at depth, reflecting competition for terminal electron acceptors where sulfate and nitrate are limited.

Microbes catalyzing anaerobic dissimilatory processes such as sulfate reduction and denitrification compete for labile organic carbon, which often leads to the inhibition of less favorable pathways like methanogenesis in the presence of more energetically advantageous electron acceptors such as sulfate or nitrate (Pester et al., 2012; Kujala et al., 2022). Microbes associated with aerobic processes (e.g., nitrification, ammonia oxidation) were detected primarily in the upper layer (0–30 cm; **Figure 6.7**), where greater oxygen availability enabled oxidative metabolism. Minor differences in total nitrogen in solids between upper layers (A, B: $0.9 \pm 0.1\%$) and deeper layer (C: $0.7 \pm 0.1\%$) were previously detected (Mehdaoui et al., 2025a), supporting the vertical stratification of processes involved in nitrogen cycling.

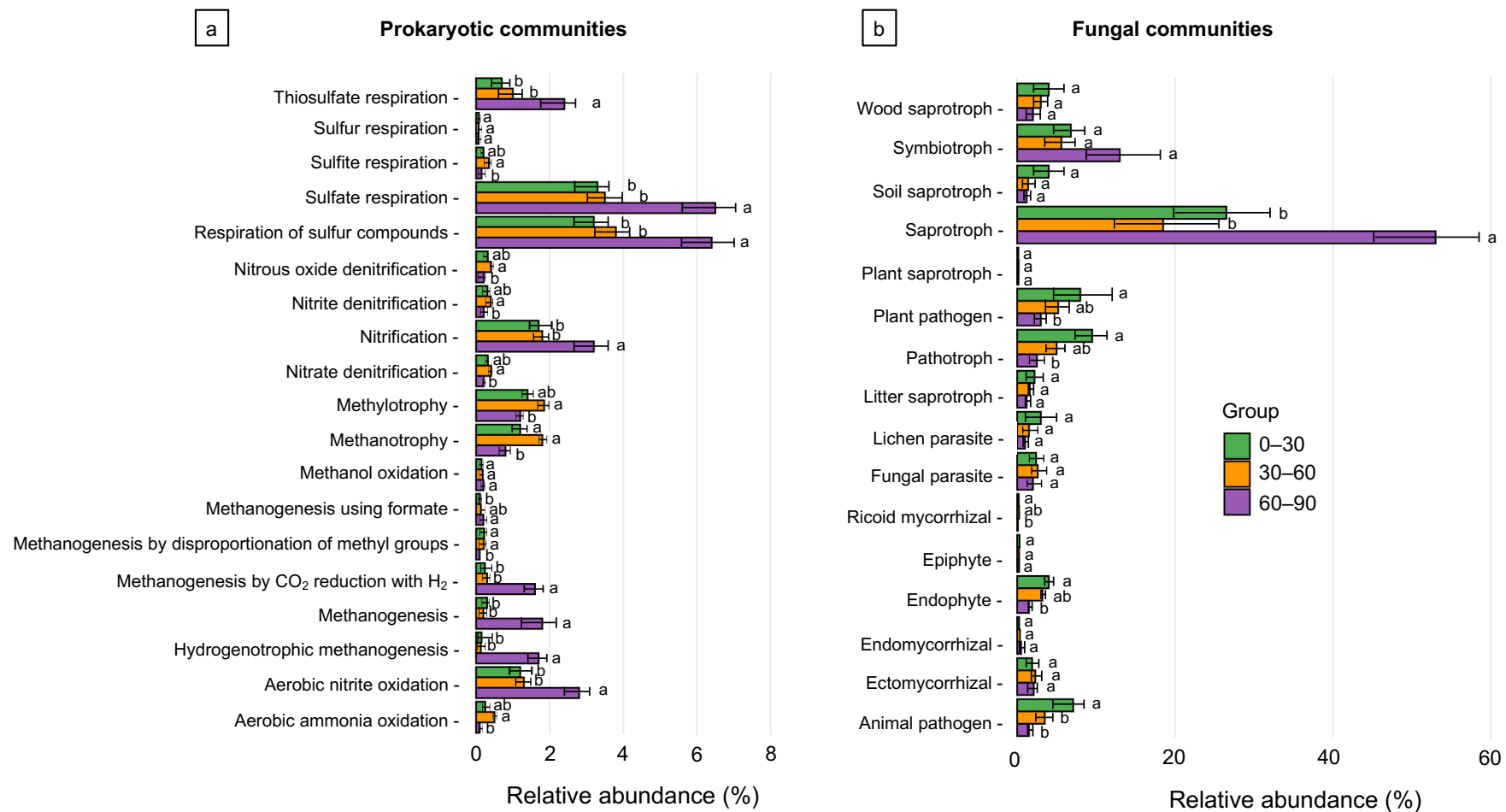


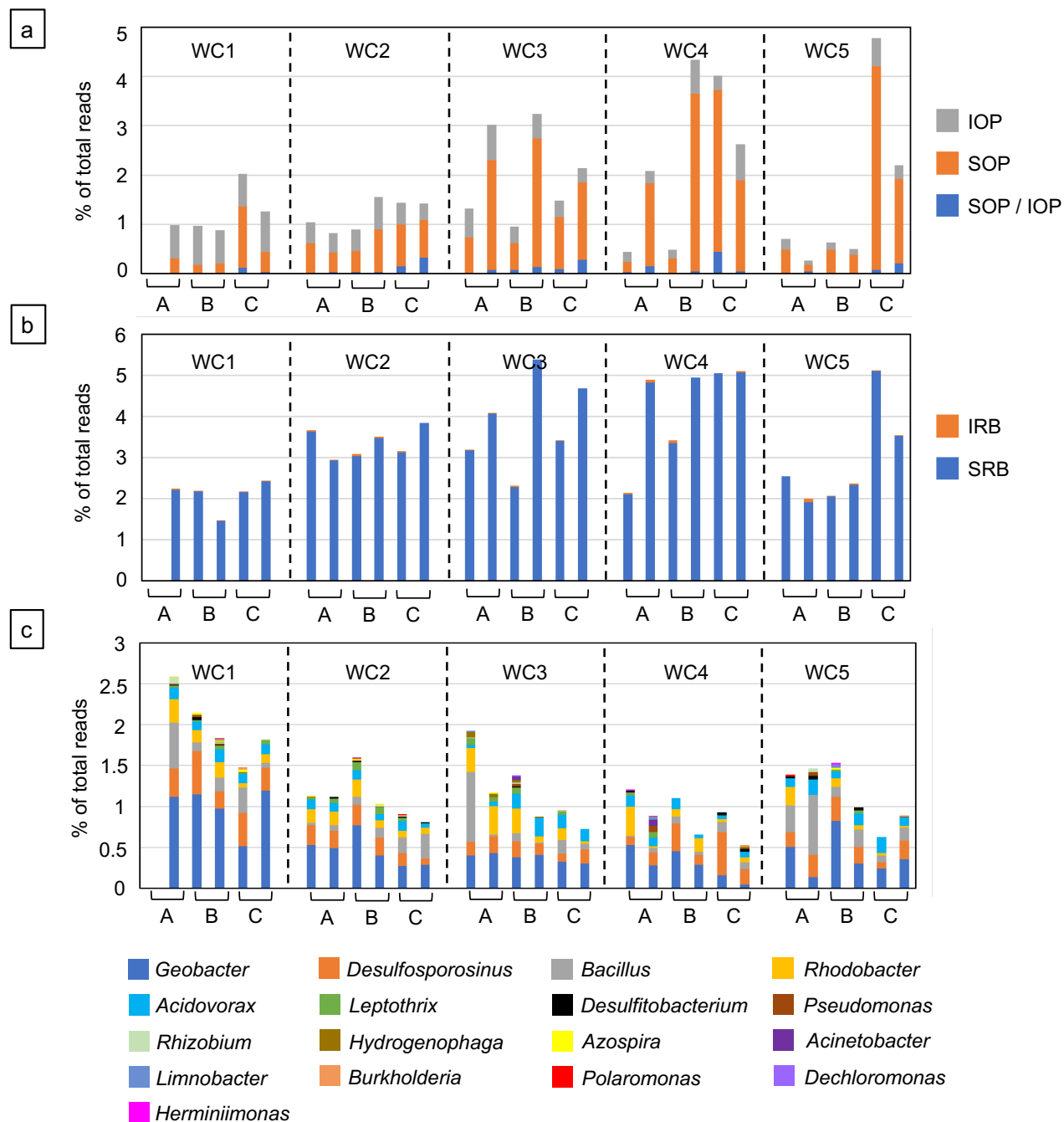
Figure 0.7
Functional profiles of (a) prokaryotic and (b) fungal communities within the vertical profile (0–30, 30–60, and 60–90 cm) of the field-scale biofilter, with statistical comparisons using Kruskal-Wallis test and post hoc Dunn’s test ($p < 0.05$). Legend: ‘a’ and ‘b’ indicate groups that were statistically different from one another, while ‘ab’ indicates no significant difference was detected.

Fungal communities showed depth-dependent patterns. Surface layers, characterized by higher oxygen availability, showed advanced woodchip degradation, while deeper samples contained large, undegraded wood fragments (**Figure 6.1d**). In anoxic zones at depth, saprotrophic fungi dominated and contributed to the breakdown of recalcitrant organic matter, indirectly supporting SRB activity and MSR (**Figure 6.7**). Fungi can indirectly promote As immobilization through the precipitation of amorphous FeAsS and AsS ([Mehdaoui et al., 2025a](#)) catalyzed by SRB, and contribute to S-, Fe-, and As-biogeochemical cycling within the field-scale biofilter.

6.6.4.5 S-, Fe- and As-metabolizing prokaryotes

Genera known to contain species involved in S-, Fe-, and As-cycling represented a minor but functionally relevant proportion of the prokaryotic community (**Figure 6.8; Table C9**). S-/Fe-oxidizing taxa accounted for $1.6 \pm 1.2\%$ of total reads (range: 0–4.8%), with over 95% being neutrophiles and acidophiles contributing only marginally. SRB comprised $3.2 \pm 1.3\%$ of total reads, which was consistent with the strong hydrogen sulfide odor released during deep core sampling (layer C: 60–90 cm). Even low proportions of SRB ('rare biosphere' accounting for as little as 0.006% of total 16 S rRNA genes) can perform significant ecological functions ([Pester et al., 2012](#)). In peatlands (which generally contain <50 mg/L sulfate and are found across a wide range of temperatures), taxa from the rare biosphere, such as *Desulfosporosinus* (0.2% of BSR; **Table C9**), have been shown to sustain high cell-specific sulfate reduction rates and contribute substantially to overall sulfate turnover ([Pester et al., 2012](#)). The low relative abundance of SRB in the present study aligns with the prior observations of a disproportionately significant functional role despite low abundance.

Of note, the detection of other sulfur-metabolizing genera (e.g., *Desulfosporosinus*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacca*, *Nitrospira*; **Table C9**), further reinforces the presence of spatially structured microbial control over sulfur cycling within the filter ([Canfield, 2001](#); [Pester et al., 2012](#)). For further comparison, MSR under unfrozen conditions in the summer season in the catchment of an abandoned copper mine where the annual average temperature was -1.6 °C was reported ([Fischer et al., 2022](#)).

**Figure 0.8**

Relative abundance of genera known to contain species: (a) oxidizing S and/or Fe(II), (b) reducing sulfate or Fe(III), and (c) metabolizing As (or known to contain genes involved in As transformations). Legend: IOP: iron-oxidizing prokaryotes, SOP: sulfur-oxidizing prokaryotes, IRB: iron-reducing bacteria, SRB: sulfate-reducing bacteria.

Strict Fe(III)-reducers were present at negligible abundances ($< 0.1\%$), indicating that a limited level of microbially catalyzed Fe reduction occurred and/or the process was supported by the activity of microbes with primary metabolic functions other than Fe reduction. This is consistent with Fe(III) depletion in the middle layer (B: 30–60 cm), where As(V) reduction was enhanced, indicating a redox-driven shift in terminal electron acceptors (Kujala et al., 2022, 2024). As-metabolizing genera represented $1.2 \pm 0.5\%$ of total reads, with a slightly high abundance at WC1, a sampling point receiving a high As supply. Among genera that are known to contain species that metabolize As or carry As genes, *Geobacter*, *Bacillus*, and *Desulfosporosinus* were the most abundant groups that may have contributed to As transformations in the system. The above taxa have previously been associated with As(V) reduction and As(III) methylation in anoxic environments (Viacava et al., 2020; Qian et al., 2023).

In addition, prokaryotes can gain energy from the oxidation of As(III) (Hudson-Edwards & Santini, 2013), and collectively, all these groups complement each other in shaping As speciation and long-term immobilization. Based on the vertical gradient in As speciation, i.e. accumulation of As(III) and MMA(V) in deeper layers, microbially catalyzed As(V) reduction and As(III) methylation (Qian et al., 2023) likely occurred in these parts of the biofilter. The above findings indicate that microbial pathways play an important role in As detoxification and fate in the Wood-Cadillac biofilter.

6.6.5 Integrated conceptual model of biogeochemical stratification and As retention in the biofilter

The Wood-Cadillac biofilter, long-term (> 20 years) efficient for the treatment of As-NMD under a cold climate, developed a vertically stratified biogeochemistry where redox gradients and microbial activity controlled As speciation and immobilization. Oxidic surface layers (A) were dominated by As(V), immobilized via sorption onto Fe/Al-(oxy)hydroxides. In contrast, reduced (As(III)) and methylated species (MMA(V), DMA(V)) accumulated under suboxic to anoxic conditions in the middle (B) and bottom (C) layers, respectively.

The redox zones coincided with distinct microbial communities and functions, forming hotspots where SRB and saprotrophic fungi were particularly active. These communities supported MSR, generating sulfides that combined with Fe(II) and As(III) precipitated amorphous Fe–As–S minerals (e.g., FeAsS, AsS). In parallel, As–S complexation with organic matter or thio-As species

(e.g., thio-As(V), thio-As(III)) further contributed to immobilization of As. Iron cycling acted as a central process, linking Fe(II/III) transformations with sulfur reactions and As retention. The enrichment of reduced sulfur and organosulfur compounds (M–S, C–S) in deeper layers further indicates that thiol-bearing organic matter contributed to As sequestration.

The complex interactions by coupling aqueous chemistry, isotopic tracers, microbial community composition, and mineral phases are shown in **Figure 6.9**. The integrated model highlights the sequential nature of As immobilization: (i) surface-layer sorption onto Fe/Al-(oxy)hydroxides, (ii) intermediate As(V) reduction and Fe cycling, and (iii) deep-layer sulfide-driven precipitation, As–S complexation, and methylation. The complementary mechanisms enhanced system resilience by distributing contaminant retention pathways across distinct redox niches.

The Wood–Cadillac biofilter showed that engineered organic biofilters can maintain efficient As removal in cold climate for over two decades. Snow-mediated insulation maintains a subsurface temperature above 5°C, enabling psychrotolerant SRB and saprotrophic fungi to sustain As, Fe, and S cycling throughout the winter, ensuring continued As removal ([Kujala et al., 2024](#)). The integration of As speciation, sulfur isotopes, and microbial profiling offers deep understanding of element cycling in passive systems and helps anticipate responses to future climate stressors such as global warming, freeze–thaw cycles, and hydrological variability.

Operational uncertainties persist, related to fluctuations in HRT during freeze–thaw cycles and the woodchip exhaustion. Passive biofilters, with proven promising potential and inherent practical limitations, can thus serve as low-cost, low-maintenance systems for long-term As-NMD treatment at remote mine sites.

6.7 Conclusion

The long-term performance of the Wood-Cadillac passive biofilter, which efficiently treated As-NMD at a restored mine site in Québec, Canada, was assessed. The woodchip-based system maintained up to 80% As removal and complying with Canadian regulation. The analyses showed As(V) dominance in oxic surface layers (0–30 cm), while reduced (As(III)) and methylated forms accumulated in the middle (30–60 cm) and bottom layers (60–90 cm). This speciation stratification reflected vertical redox gradients and microbial methylation.

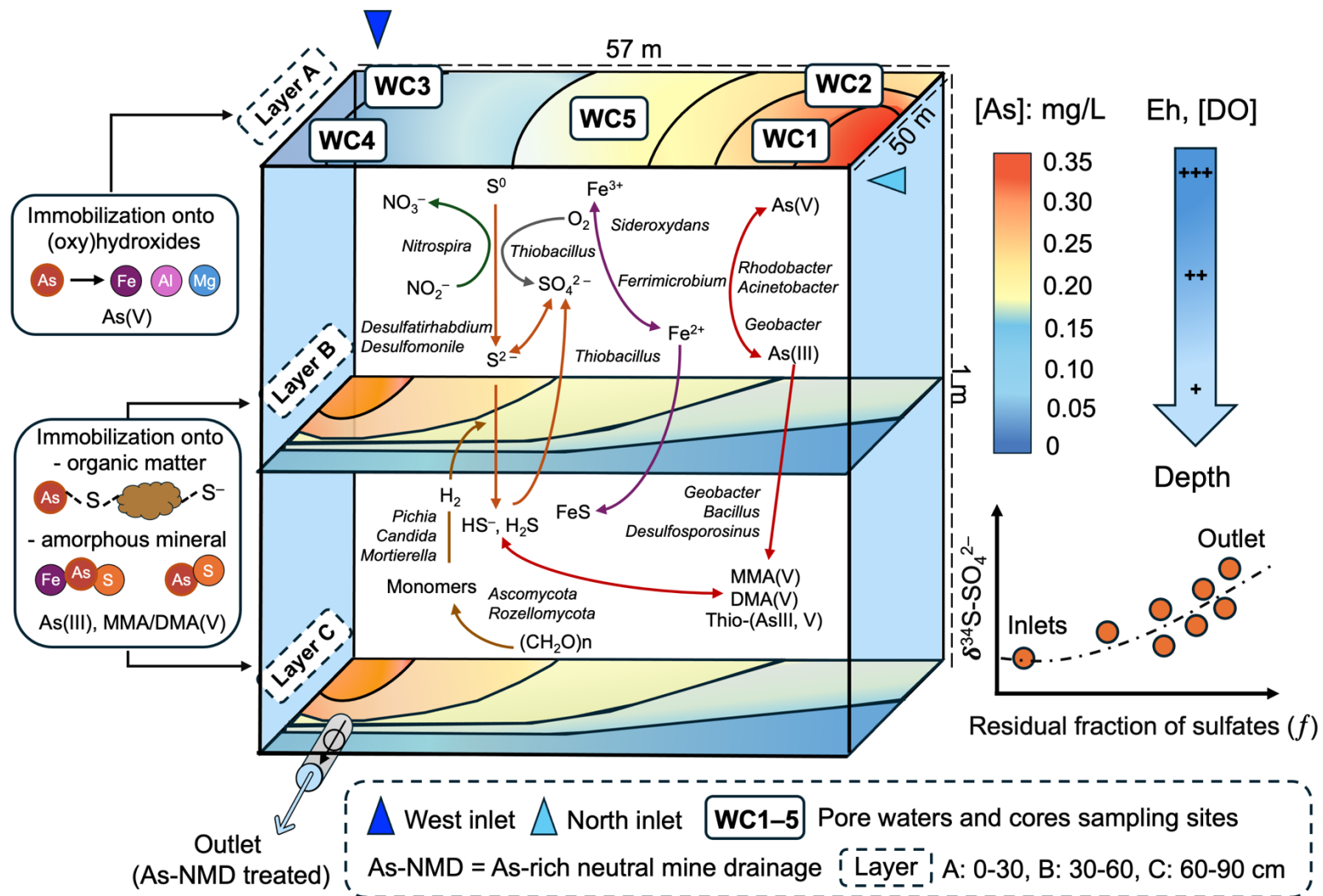


Figure 0.9
Conceptual model of As immobilization dynamics in the Wood-Cadillac biofilter.

Heavy isotope enrichment in residual sulfate ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ up to >12‰) and sulfate depletion (from 61 to 10 mg/L) confirmed localized MSR, in deeper layers with elevated abundances of SRB. These conditions favored As immobilization via precipitation of FeAsS/AsS and As–S complexation, while As(V) in surface layers was immobilized through sorption onto Fe-(oxy)hydroxides. While prokaryotic α -diversity remained stable, fungal α -diversity varied significantly with depth. The β -diversity showed major changes in both prokaryotic and fungal community compositions, between surface (0–30 cm) and bottom (60–90 cm) layers of the biofilter. Anaerobic layers hosted saprotrophic fungi and SRB (e.g., *Desulfatirhabdium*, *Desulfomonile*), alongside taxa with known As-metabolizing potential (e.g., *Geobacter*, *Desulfosporosinus*, *Bacillus*). Functional markers for S-, Fe-, and As-related metabolisms were detected and showed depth-dependent trends, as proof of the role of microbes in mediating biogeochemical processes within the field biofilter. The long-term As immobilization in the biofilter is sustained by coupled redox processes, organic matter reactivity, and microbial processes. The study shows that passive biofilters could be viable for As-NMD treatment in cold climates, potentially offering promising options for the rehabilitation of legacy mine sites.

Data availability: Illumina sequence data used in this study are openly available in the European Nucleotide Archive (ENA) (accession no. PRJEB97329 (prokaryotes) and PRJEB97411 (fungi)).

Acknowledgements: This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), Canada Research Chairs Program, Mitacs, and RIME UQAT-Polytechnique industrial partners, including Agnico Eagle, Canadian Malartic Mine, Iamgold, Raglan Mine, Glencore, Newmont, and Rio Tinto. The authors would like to thank MRNF for their on-site support during the sampling campaign and for providing the historical monitoring data. They also thank Dr Youssef Guesmi, Ricot Saint Aimé, and Dr Youssef Hsan Mehdaoui for their participation during field sampling.

7. DISCUSSION GÉNÉRALE

Le DNC-As représente une problématique environnementale croissante dans les régions minières, notamment au Québec (Canada). Ce type d'effluent, à pH circumneutre (6–9), résulte de la co-occurrence de minéraux arsénifères (pyrite arsénifère, löllingite, réalgar) et de phases neutralisantes, principalement carbonatées (calcite, dolomite) dans les résidus miniers. Contrairement au DMA, abondamment étudié, les mécanismes régissant la mobilité de l'As et son traitement en conditions circumneutres restent insuffisamment documentés, en particulier dans les contextes nordiques. En l'absence de traitement approprié, le DNC-As peut entraîner des impacts durables sur les écosystèmes aquatiques et les usages de l'eau en aval. La majorité des technologies passives existantes ont été conçues pour le DMA et reposent sur la précipitation de phases métalliques en milieu acide, ce qui les rend peu transposables au contexte neutre du DNC-As. Dans ces conditions, la sorption sur les phases ferriques ou la matière organique constitue le principal mécanisme d'immobilisation de l'As, bien que sensible aux gradients redox, à la saturation des sites réactifs et aux fluctuations physico-chimiques, soulevant des incertitudes majeures quant à la stabilité à long terme des formes immobilisées.

Dans ce contexte, les tourbières offrent un exemple fonctionnel d'immobilisation naturelle de l'As ([Palmer et al., 2015](#) ; [Eberle et al., 2021](#)). Bien qu'efficaces, elles constituent des écosystèmes fragiles à protéger, incompatibles avec un usage minier intensif. Leur exploitation directe pour le traitement des effluents n'est donc pas envisageable dans une perspective de préservation environnementale. Le développement de biofiltres passifs artificiels constitue ainsi une alternative durable, visant à reproduire les fonctions biogéochimiques des tourbières tout en offrant un contrôle opérationnel compatible avec la réhabilitation de sites miniers fermés ou abandonnés. Si ces systèmes ont été largement étudiés pour le traitement du DMA, leur application au DNC-As reste marginale, et les connaissances sur leur efficacité en conditions réelles, notamment en climat froid, demeurent fragmentaires. Ce travail se distingue par l'originalité d'évaluer l'utilisation de la tourbe comme matériau de remplissage dans des biofiltres passifs, malgré ses propriétés peu favorables à l'immobilisation de l'As en raison de son pH_{PZC} faible (3,66).

Dans une volonté d'application concrète, cette thèse a adopté une approche multi-échelle pour concevoir et évaluer l'efficacité de biofiltres combinant des matériaux organiques (tourbe, copeaux de bois) et inorganiques (boues de géotube riches en fer) à faible impact environnemental. Trois volets complémentaires ont été menés, du laboratoire au terrain : (1) des essais cinétiques de sorption en lots (cm^3) ; (2) un biofiltre de laboratoire en flux continu (dm^3) ; (3) des biofiltres pilotes de terrain en duplicata sur un site minier actif (m^3), et un système passif à grande échelle (Wood-Cadillac, 2850 m^3), actif depuis plus de deux décennies. Ce travail a permis (i) d'évaluer la performance comparative de différents mélanges de matériaux, (ii) de caractériser les processus d'immobilisation de l'As à travers des analyses physico-chimiques, microbiologiques et isotopiques, et (iii) de mieux comprendre l'effet d'échelle sur la stabilité et l'efficacité du traitement. Les résultats obtenus permettent de dégager des principes de conception et des recommandations techniques pour le déploiement de solutions de traitement passif du DNC-As, adaptées aux contraintes nordiques, à faibles coûts et à long terme.

Ce chapitre propose une analyse transversale des résultats obtenus aux différentes échelles d'expérimentation, afin de mettre en évidence les paramètres qui conditionnent l'efficacité des biofiltres passifs dans l'enlèvement de l'As. Il permet ainsi de dégager des tendances communes, de souligner les limites observées et de proposer des recommandations pour le développement de solutions durables, intégrant les réalités du terrain.

7.1 Comparaison multi-échelle des performances des biofiltres

La performance des biofiltres passifs combinant matériaux organiques et inorganiques pour le traitement du DNC-As a été évaluée à différentes échelles expérimentales, du laboratoire au terrain, jusqu'à un système en fonctionnement prolongé depuis plus de vingt ans. Tous les systèmes ont montré des capacités élevées d'enlèvement de l'As, mais avec des dynamiques de stabilisation, de saturation ou de remobilisation contrastées, dépendantes des conditions opératoires, du type de matériau utilisé, du volume du biofiltre et de la durée de fonctionnement. Afin de mettre en perspective les résultats obtenus à chaque échelle expérimentale, le **Tableau 7.1** présente une synthèse multi-échelle des résultats obtenus.

Tableau 7.1
Synthèse des performances multi-échelle des biofiltres passifs aux DNC-As.

Laboratoire			Terrain	
Échelle	Lots (150 cm ³)	Biofiltre (80 dm ³)	Biofiltres pilotes (1 m ³)	Wood-Cadillac (2850 m ³)
DNC-As	Synthétique : 2 mg As/L Réal : ~1 mg As/L	Synthétique : 2,5–1,0 mg As/L	Réal : ~1 mg As/L	Réal : ~1 mg As/L
Matériaux	Tourbe/boues de géotube ≠ ratios massiques	Tourbe/boues de géotube (50%) + gravier (50%)	Tourbe/boues de géotube (50%) + gravier (50%)	Copeaux de bois
Température (°C)	5–22°C	22°C	11–20°C	≤ 10°C
TRH (j)	–	1	1	1
Durée (j)	0–2	107	95	> 8000
Efficacité As (%)	• Synthétique 5°C : –11 à 82% • Synthétique 22°C : –69 à 88% • Réel 5°C : –382 à 48% • Réel 22°C : –486 à 77%	98% à –257%	96 ± 2,9%	80%
Remobilisation	Oui (°C, TRH, salinité)	Oui (saturation)	Non après 5–10 j	Non
Mécanisme dominant	Sorption Fe/Al (oxy)hydroxydes/MO	Sorption Fe/Al (oxy)hydroxydes/MO	Sorption Fe/Al (oxy)hydroxydes/MO	Sorption Fe/Al (oxy)hydroxydes/MO Précipitation (AsS/FeAsS) dominance BSR profondeur
Communauté microbienne dominante	–	As(V)–red. (1,9 ± 0,2%) As(III)–ox. (1,6 ± 0,0%) BSR (5,9 ± 1,5%) S–ox. (6,2 ± 0,1%) Fe–red. (11 ± 3,3%) Fe–ox. (0,8 ± 0,2%)	As(V)–red. (1,1 ± 0,2%) As(III)–ox. (3,5 ± 0,8%) BSR (4,3 ± 0,5%) S–ox. (5,6 ± 0,4%) Fe–red. (0,1 ± 0,0%) Fe–ox. (0,1 ± 0,0%)	As–red/ox (1,2 ± 0,5%) BSR (3,2 ± 1,3%) S–ox. (1,6 ± 1,2%) Fe–red. (< 0,1 ± 0,0%) Fe–ox. (1,7 ± 1,2%)

MO = Matière organique ; red. = Réducteur ; ox. = Oxydant ; BSR = Bactéries sulfato-réductrices

7.1.1 Essais en lots (150 cm³)

Les essais en lots (cm³), réalisés à 5 et 22°C avec un DNC-As synthétique/réel, ont confirmé l'efficacité du mélange tourbe + boues de géotube (50/50% massique) à immobiliser efficacement l'As(V), avec des rendements d'enlèvement jusqu'à 88% à 22°C. Néanmoins, l'efficacité diminuait à 48% à 5°C, traduisant un effet marqué de la température. De plus, les essais avec le DNC-As réel ont révélé un impact négatif de la salinité sur l'immobilisation de l'As, probablement par compétition ionique entre l'As(V) et d'autres anions (Cl⁻, SO₄²⁻), diminuant la disponibilité des sites actifs. L'immobilisation reposait principalement sur la chimisorption avec les Fe/Al-(oxy)hydroxydes amorphes contenus dans les boues de géotube.

L'ajustement des proportions tourbe/boues s'est révélé crucial. Un excès de tourbe (> 50%) a fortement diminué la conductivité hydraulique ($2,10 \times 10^{-5}$ cm/s), et favorisé la lixiviation de l'As contenu initialement dans les boues de géotube, probablement en raison d'un pH acide et d'une libération accrue de composés organiques dissous. Inversement, un excès de boues a soulevé des préoccupations environnementales quant à l'utilisation sécuritaire de ces matériaux en grandes quantités, considérés comme des déchets miniers contaminés. Le temps de contact s'est révélé être un paramètre critique, malgré un mélange tourbe/boues optimal et une conductivité hydraulique supérieure ($1,24 \times 10^{-4}$ cm/s). Des temps < 4 h ont conduit à une fixation partielle, voire une remobilisation de l'As contenu initialement dans les boues de géotube.

Ces résultats montrent que seule la composition du mélange ne suffit pas : le TRH, la température et la chimie du DNC-As doivent être considérés conjointement pour assurer une efficacité optimale d'enlèvement de l'As. Ces premiers résultats ont guidé la conception du biofiltre de laboratoire, visant à tester la stabilité du système dans un environnement hydrodynamique contrôlé (**Tableau 7.1**).

7.1.2 Biofiltre de laboratoire (80 dm³)

Le biofiltre de laboratoire (80 dm³) a été opéré en flux ascendant pendant 107 j à 22 °C avec un DNC-As synthétique (2,5–1,0 mg/L), un débit nominal de 10 L/j et un TRH = 1 j. Le mélange de remplissage, composé de tourbe/boues de géotube sélectionné précédemment, a été complété par 50% de gravier (en volume) afin d'améliorer la conductivité hydraulique ($1,86 \times 10^{-3}$ cm/s),

limiter les phénomènes de tassement et stabiliser uniformément l'écoulement. Ce choix de conception visait à maintenir une porosité effective ($> 0,30$) et un écoulement suffisant afin de garantir une rétention optimale de l'As.

Une efficacité maximale d'enlèvement de l'As de 98% a été atteinte dès la première semaine d'opération, confirmant l'efficacité initiale du système. La sorption de l'As(V) sur les Fe/Al-(oxy)hydroxydes issus des boues, renforcée par la structure poreuse de la MO, a favorisé une immobilisation rapide. Toutefois, cette performance n'a pas été maintenue dans le temps. Un relargage progressif de l'As a été détecté à partir du 27^e j, après traitement de 270 L et rétention de 349 mg d'As, soit 10 mg d'As/Kg de mélange. Ce relargage semble résulter de plusieurs mécanismes : (1) saturation des sites de sorption, certains déjà occupés par l'As des boues ; (2) désorption d'As initialement fixé ; (3) réduction des oxyhydroxydes de Fe(III) par des bactéries ferriréductrices, entraînant respectivement la présence de Fe dans le lixiviat et la libération de l'As sorbé ; (4) dissolution de phases minérales contenant de l'As, favorisée par des fluctuations de pH/dégradation de la MO.

Lors du démantèlement, l'analyse des communautés microbiennes a révélé la présence de procaryotes ferriréducteurs (11%), sulfato-réducteurs (6,0 %), oxydants du soufre (6,1%) et micro-organismes métabolisant l'As (3,5%). Cette diversité reflète des conditions redox différenciées malgré un TRH court et un faible volume, favorisant des interactions biogéochimiques complexes affectant la stabilité des complexes As-Fe-MO.

Ces résultats renforcent les constats issus des essais en lots : la performance des biofiltres passifs ne dépend pas uniquement du mélange réactif, mais également de la capacité du système à maintenir des conditions propices à l'immobilisation de l'As dans le temps. La section suivante examinera les performances en conditions réelles de terrain, à l'échelle m^3 , afin de vérifier la transférabilité de ces observations (**Tableau 7.1**).

7.1.3 Biofiltres pilotes de terrain ($1 m^3$)

Deux biofiltres pilotes ($1 m^3$), remplis du mélange tourbe/boues sélectionné au laboratoire, ont été déployés sur le site minier actif Dhilmar Éléonore pour traiter un DNC-As réel. Les dispositifs ont été opérés en flux ascendant, avec un TRH = 1 j et un débit de 200 L/j par biofiltre (**Tableau 7.1**). Une mise en eau progressive sur 4 j a permis d'assurer une saturation homogène

du substrat et de limiter la formation de chemins préférentiels. Sur les 95 j d'opération, les dispositifs ont traité 38 m³ d'effluent, avec une concentration moyenne d'entrée de 0,91 mg As/L vs sortie 0,04 mg As/L, soit une efficacité d'enlèvement moyenne de $96 \pm 2,9\%$. La masse totale d'As immobilisée est estimée à ~30 g (~15 g par biofiltre), soit 22,2 mg/Kg de mélange. Un lessivage transitoire (Fe, As, COD) a été observé durant les 10^{iers} j, caractéristique de substrats non préconditionnés, suivi d'une stabilisation rapide. Aucun relargage d'As n'a été détecté par la suite. La sorption sur les (oxy)hydroxydes de Fe constituait le mécanisme dominant, renforcé par le volume accru de mélange de remplissage à cette échelle.

L'analyse des communautés microbiennes a révélé une structuration fonctionnelle impliquant des procaryotes métabolisant l'As, le S et le Fe. Des genres tels que *Acidovorax*, *Burkholderia* et *Geobacter* ont été identifiés, suggérant des transformations microbiennes redox de l'As. Les BSR (4,3%) et *Thiobacillus* (5,6%) étaient également bien représentés, reflétant un couplage actif des cycles S-As. La faible abondance des bactéries ferroxydantes ou ferriréductrices concorde avec la faible teneur en Fe dissous.

Ces résultats montrent que l'efficacité des biofiltres pilotes repose sur l'interaction entre des mécanismes physico-chimiques rapides (sorption) et des processus microbiens actifs. Ils confirment la transférabilité du mélange tourbe/boues de géotube à l'échelle m³, sous réserve d'un dimensionnement hydraulique approprié. La section suivante examine un biofiltre de grande échelle fonctionnant depuis plus de deux décennies, afin d'évaluer la pérennité des mécanismes d'immobilisation de l'As en conditions réelles prolongées.

7.1.4 Biofiltre de Wood-Cadillac (milliers de m³)

Le biofiltre de Wood-Cadillac, en fonctionnement depuis 22 ans, constitue un exemple unique de traitement passif à grande échelle (2 850 m³) du DNC-As en climat froid (**Tableau 7.1**). Avec une efficacité moyenne de 80% et des concentrations en sortie < 0,1 mg As/L, ce système démontre une remarquable stabilité des performances de traitement, sans renouvellement de matériaux (copeaux de bois). La stratification verticale de l'As, marquée par la prédominance d'As(V) en surface et de formes réduites ou méthylées (As(III), MMA(V)) en profondeur, traduit des transformations redox progressives le long du profil. L'enrichissement en ³⁴S ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}} > 12\text{‰}$) couplé à une diminution du sulfate (de 61 à 10 mg/L) suggère une réduction

microbienne active du sulfate, menant potentiellement à la formation de complexes peu solubles de type As-S (AsS, FeAsS).

La structuration verticale des communautés procaryotes et fongiques confirme l'existence de niches fonctionnelles distinctes, en lien avec les gradients redox. Contrairement aux systèmes de plus petite échelle, aucun relargage d'As n'a été observé, soulignant la résilience du système et l'évolution autonome de ses fonctions biogéochimiques. Le grand volume de bois a permis le maintien d'une hétérogénéité interne, avec coexistence de zones oxydantes et réductrices selon une double stratification verticale et latérale.

L'exemple de Wood-Cadillac démontre qu'un biofiltre organique, lorsqu'il est correctement dimensionné, peut évoluer vers un écosystème biogéochimique stable assurant une immobilisation pérenne de l'As. Il illustre également l'évolution des mécanismes dominants au fil du temps, passant d'une sorption sur les (oxy)hydroxydes métalliques (Fe, Al) à une précipitation en profondeur contrôlée par les conditions redox et la structuration microbienne.

7.2 *Contraintes rencontrées selon les différentes échelles expérimentales*

L'approche multi-échelle adoptée dans ce travail a permis de documenter, au-delà des performances épuratoires des biofiltres passifs, les contraintes techniques et les limitations propres à chaque configuration expérimentale. L'intérêt d'une telle démarche réside dans la capacité à analyser comment des mécanismes élémentaires, aisément observables en conditions contrôlées de laboratoire, évoluent et se complexifient lorsque les systèmes sont soumis à des contraintes physiques (hydraulique, porosité, tassement), chimiques (variabilité de la composition du drainage, gradients redox) et biologiques (structuration des communautés microbiennes) caractéristiques des conditions de terrain. Les difficultés rencontrées à chaque échelle ont nécessité des ajustements méthodologiques (optimisation de la composition des mélanges, reconfiguration des régimes d'écoulement), indispensables pour accroître la représentativité et la transférabilité des résultats. Ces contraintes mettent simultanément en évidence les limites intrinsèques de chaque dispositif expérimental et la nécessité de considérer l'ensemble de la chaîne d'échelles pour aboutir à des critères de conception robustes et applicables en contexte opérationnel. L'ensemble de ces contraintes identifiées est synthétisé dans le **Tableau 7.3**, en propose une vue d'ensemble par échelle expérimentale.

Tableau 7.2
Contraintes et problèmes spécifiques identifiés selon les différentes échelles expérimentales.

Échelle	Contexte expérimental	Contraintes principales	Problèmes spécifiques observés
Lot (150 cm ³ , laboratoire).	- Conditions contrôlées. - Durée (jours).	- Sans écoulement. - Représentativité limité du terrain.	- Vitesse d'agitation > 250 rpm fragmente les particules de tourbes et boues ; augmente la surface spécifique. - Ratio liquide/solide < 1 :10 rend très difficile la filtration lixiviat (ex : 100 mL pour 30 mg de tourbe)
Bac rectangulaire (80 dm ³ , laboratoire).	- Conditions contrôlées. - Durée (mois). -Écoulement ascendant vertical.	- Conductivité hydraulique insuffisante du mélange optimal (T50/B50).	- Ajout de graviers (50 % v/v) : améliore porosité et conductivité hydraulique ; des proportions inférieures réduisent ces propriétés. - Biofiltre à écoulement horizontal n'a pu maintenir un TRH constant (Figure 7.1)
Biofiltres pilotes (1 m ³ , terrain).	- Conditions semi-contrôlées exposées aux variations de °C. - Durée (mois). -Écoulement ascendant vertical.	- Échantillonnage DNC-As réel aval PAR (zone de travaux ; danger). - Installation des biofiltres ; définir un emplacement pratique et sécurisé. - Déplacements par avion.	- Machineries lourdes à proximité des biofiltres ; sécurisation des lieux. - Échantillonnage (tourbe et boues), conception et construction des biofiltres, mobilisant ~500 kg de matériaux par biofiltre.
Biofiltre de Wood- Cadillac (2850 m ³ , terrain).	- Contexte industriel. - Conditions non contrôlées. - Durée (années). - Écoulement gravitaire.	- Forte hétérogénéité spatiale. - Absence de suivi > 20 ans.	- Courts-circuits hydrauliques, zones passives. - Accumulation fines particules proche exutoire (WC4). - Fortes odeurs de sulfures à l'exutoire, et regard de collecte ; un masque de sécurité. - Submersion partielle du biofiltre (~20 cm d'eau) ; barrage castor aval déversoir d'orage.



Figure 26
Prototype, biofiltre à écoulement horizontal.

7.3 *Recommandations dans la conception des biofiltres passifs au DNC-As*

Sur la base des résultats expérimentaux obtenus à différentes échelles et des connaissances actuelles sur les systèmes passifs, plusieurs recommandations peuvent être formulées pour guider la conception de biofiltres passifs pour le traitement du DNC-As en climat froid.

1. Sélection et structuration des matériaux filtrants

- Le mélange tourbe/boues de géotube (50/50% massique) a démontré une bonne efficacité d'immobilisation de l'As, notamment via la sorption sur les (oxy)hydroxydes de Fe/Al.
- L'ajout de gravier (50% en volume) est recommandé pour améliorer la conductivité hydraulique ($1,86 \times 10^{-3}$ cm/s), limiter le tassement et prévenir les écoulements préférentiels. Un volume $< 30\%$ a diminué significativement la conductivité hydraulique ($1,19 \times 10^{-4}$ cm/s).
- La structuration verticale du biofiltre de Wood-Cadillac justifie la mise en œuvre de designs multi-couches favorisant des zones fonctionnelles distinctes (sorption, réduction, précipitation). Ces éléments doivent être intégrés dès la phase de conception pour garantir une performance robuste et une maintenance minimale.

2. TRH et mise en fonctionnement

- Un TRH = 1 j est nécessaire pour assurer un traitement efficace. Un TRH trop court (< 4 h) pourrait conduire à un lessivage de l'As initialement présent dans les boues de géotube tandis qu'un TRH plus long n'augmenterait pas significativement l'efficacité de traitement. Toutefois, des TRH = 12–18 h peuvent être envisagés, en considérant que le tassement progressif du matériau filtrant au cours du temps tend à augmenter naturellement le TRH effectif. Cette approche permettrait d'anticiper l'évolution physique du système tout en garantissant la performance du biofiltre.
- Une mise en eau progressive est recommandée avant une alimentation continue, afin (1) d'assurer une saturation homogène du mélange et de prévenir la formation de chemin préférentiels susceptibles de compromettre l'efficacité de traitement du système ; (2) limiter le lessivage des particules fines

3. Configuration hydraulique

- Un écoulement vertical ascendant est recommandé. Il augmente le temps de contact, limite l'accumulation de particules fines à la base du système, et permet à l'oxygène dissous (présent dans le DNC-As d'alimentation) de maintenir des conditions oxydantes en profondeur, stabilisant l'As sous forme As(V), moins mobile et toxique qu'As(III).
- Un prétraitement par décantation en amont du biofiltre peut être envisagé pour limiter les particules solides ou colloïdales présentes dans le DNC-As susceptibles d'encrasser le mélange filtrant.
- En aval, une cascade/bassin d'aération est à envisager pour réoxygéner l'eau traitée. Cette étape est particulièrement importante lorsque les concentrations en Fe dissous sont faibles, car des conditions réductrices résiduelles peuvent favoriser la formation de sulfures (H_2S), susceptibles d'altérer la qualité des milieux aquatiques récepteurs.
- Enfin, par mesure de sécurité, le biofiltre doit être conçu avec un système de dérivation permettant de rediriger temporairement l'effluent en cas de surcharge hydraulique exceptionnels (pluies intenses, fonte des neiges), limitant le lessivage potentiel des contaminants initialement immobilisés. Une surcapacité de volume (≥ 20 %) est recommandée pour augmenter la durée de vie du système et amortir les variations de charge.

4. Adaptation au climat nordique

- Le biofiltre doit être enterré sous la ligne de gel afin de garantir un fonctionnement stable durant l'hiver, en évitant les cycles de gel/dégel susceptibles d'altérer le TRH. Une géomembrane installée en fond du biofiltre permet d'assurer l'étanchéité et le confinement du DNC-As tout en protégeant le système des infiltrations latérales ou du gel par le bas. Cette configuration est essentielle pour maintenir des conditions physico-chimiques stables dans les climats froids, notamment en site isolé.
- Une isolation thermique passive (ex. couche de sol végétalisée, neige, géotextile), peut être intégrée pour maintenir une température minimale ($> 5^{\circ}\text{C}$), favorable à l'activité microbienne.

5. Programme de surveillance

- Il est recommandé d'installer des piézomètres à différentes profondeurs et à plusieurs emplacements stratégiques (entrée, cœur du système, sortie), afin de suivre l'évolution des gradients redox, des niveaux d'eau et de la qualité du traitement.
- Enfin, l'intégration de sondes multi-paramètres connectées (température, Eh, pH, conductivité) permettrait un suivi en temps réel des conditions physico-chimiques internes, contribuant à une meilleure compréhension du fonctionnement du biofiltre et à l'anticipation des dysfonctionnements.

7.4 *Retour sur les hypothèses et objectifs spécifiques*

Le **Tableau 7.4** synthétise les principales hypothèses de recherche formulées dans cette thèse, et indique leur niveau de validation au regard des résultats obtenus. Il met en relation les objectifs expérimentaux poursuivis à différentes échelles et les enseignements tirés des trois articles scientifiques. Ce tableau met en exergue dans quelle mesure les matériaux, les conditions opératoires et les dynamiques biogéochimiques étudiés contribuent à l'efficacité et à la transférabilité des biofiltres passifs pour le traitement du DNC-As en climat froid

Tableau 7.4

Retour sur les objectifs spécifiques et les hypothèses de recherche.

Objectifs spécifiques (OS)	Hypothèses de recherche (H)	Tests	Résultats (selon les articles)
OS1 : Évaluer comparativement l'efficacité d'un matériau/mélange de matériaux à immobiliser l'As dans le DNC-As. <i>Articles 1 et 2</i>	(H1) Le mélange à parts égales (50/50 massique) tourbe/boues de géotube constitue la combinaison la plus performante pour l'immobilisation de l'As, sans lixiviation concomitante, afin de respecter les seuils physico-chimiques de la D019 et du REMMMD (As, Fe, pH).	Test 1 : Caractérisation des matériaux et essais en lots à petite échelle, sous différentes conditions (DNC-As synthétique vs réel ; 22 °C vs 5 °C).	(H1) Confirmée : Le mélange tourbe/boues de géotube (50/50 massique) a montré la meilleure performance, forte efficacité d'enlèvement (jusqu'à 88% As, 22°C), faible lixiviation (Fe, S) et pH ~7,0.
	(H2) La performance du système diminue sous l'effet de la salinité et de la température, mais l'effet de la salinité >> température.	Test 2 : Évaluation comparative des effets de la salinité et de la température pour un DNC-As synthétique vs réel ; 22 °C vs 5 °C) sur l'immobilisation de l'As.	(H2) Confirmée : La salinité affecte davantage l'efficacité du traitement que la température. À 22°C : 88% vs 77% (réel vs synthétique). À 5°C : 82% vs 48% (réel vs synthétique).
	(H3) L'écoulement ascendant combiné à l'ajout de matériaux granulaires (ex. gravier) augmentent la conductivité hydraulique, limitent le tassement, et assurent le maintien des performances du biofiltre à long terme.	Test 3 : Mesure de la conductivité hydraulique des mélanges avec et sans gravier, conception et mise à l'échelle de biofiltres passifs (dm ³ au m ³).	(H3) Confirmée : L'ajout de gravier a amélioré la conductivité hydraulique (1,24 x 10 ⁻⁴ vs 1,86 x 10 ⁻³ cm/s) et limité les effets de tassement, assurant une circulation stable et homogène du DNC-As des biofiltres testés.

Tableau 7.4
Retour sur les objectifs spécifiques et les hypothèses de recherche. (suite)

Objectifs spécifiques (OS)	Hypothèse de recherche (H)	Tests	Résultats (selon les articles)
OS2 : Identifier et quantifier les processus géochimiques et biochimiques impliqués dans l'immobilisation de l'As présent dans des DNC-As en s'appuyant sur des analyses isotopiques ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) et sur la caractérisation des communautés microbiennes impliquées dans le cycle du S, Fe, et As.	(H4) Un TRH = 24 h favorise des conditions oxydantes (vs. réductrices).	Test 4 : Mesure de la composition isotopique du soufre-sulfate ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$) dans le biofiltre de Wood-Cadillac, et analyse des concentrations en sulfates ainsi que de la structure des communautés microbiennes dans l'ensemble des biofiltres passifs étudiés.	(H4) Partiellement confirmée : La conception des biofiltres (TRH = 1 j) a favorisé des conditions oxydantes (~10 mg O ₂ /L en sortie), mais des communautés réductrices ont été détectées en abondance comparable aux oxydantes. À Wood-Cadillac, la composition isotopique du soufre-sulfate ($\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4^{2-}}$ élevée) et l'appauvrissement en sulfates indiquent des processus réducteurs localisés.
<i>Articles 1, 2 et 3</i>			
OS3 : Réaliser une étude comparative des résultats obtenus en laboratoire et sur le terrain (objectif 1 et 2) afin de déterminer les critères de conception adaptés au développement de nouveaux systèmes de traitement passif au DNC-As en contexte nordique.	(H5) Comparaison de la structuration microbienne verticale à différentes échelles (laboratoire à terrain), et analyse de la spéciation de l'As à Wood-Cadillac.	Test 5 : Comparaison de la structuration microbienne verticale à différentes échelles (laboratoire à terrain), et analyse de la spéciation de l'As à Wood-Cadillac.	(H5) Confirmée : L'augmentation d'échelle du biofiltre de laboratoire au biofiltre de Wood-Cadillac a induit une structuration verticale marquée des communautés microbiennes, ainsi qu'une répartition différenciée des formes d'As en fonction de la profondeur.
<i>Articles 1, 2 et 3</i>			

8. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette thèse a permis de documenter, à différentes échelles expérimentales, le potentiel des biofiltres passifs combinant des matériaux organiques (tourbe, copeaux de bois) et inorganiques résiduels riches en fer (boues de géotube) pour le traitement du drainage neutre contaminé à l'arsenic (DNC-As) en climat froid. En conditions contrôlées comme sur le terrain, les systèmes étudiés ont montré une capacité notable à immobiliser l'arsenic, dans le respect des exigences réglementaires québécoises (D019) et fédérales (REMMMD), tout en mobilisant une diversité de mécanismes physico-chimiques et microbiologiques.

L'approche multi-échelle adoptée – allant des essais en lots à un système de terrain en fonctionnement depuis 22 ans – a mis en évidence les effets croisés de la composition du mélange de remplissage, de la chimie de l'effluent, des conditions environnementales (température, salinité), et de l'échelle de conception. Le mécanisme de sorption sur les (oxy)hydroxydes de Fe/Al s'est révélé dominant à court terme, tandis que les systèmes matures, tels que le biofiltre de Wood-Cadillac, ont évolué vers des mécanismes redox plus complexes, notamment via la sorption As–MO et la précipitation de phases As–S/As–S–Fe en lien avec la réduction microbienne du sulfate. Le couplage entre structuration verticale, diversification des communautés fonctionnelles, et gradients redox internes a été identifié comme un facteur déterminant de la stabilité à long terme.

L'analyse métagénomique réalisée dans ce travail a permis d'identifier les communautés microbiennes potentiellement impliquées dans les cycles du soufre, du fer et de l'arsenic. Cette première caractérisation ouvre la voie à des approches plus résolutes, telles que la métatranscriptomique (ciblant l'expression des gènes impliqués dans les transformations de l'As, du Fe et du S) ou la protéomique, qui permettraient de préciser les rôles métaboliques et d'estimer quantitativement la contribution des différentes voies microbiennes aux cycles biogéochimiques.

Ces travaux offrent ainsi des bases solides pour le développement de biofiltres passifs robustes, peu coûteux et transférables à d'autres sites producteurs de DNC-As, en particulier en contexte boréal. Les résultats obtenus permettent de proposer des critères de conception concrets :

sélection de mélanges tourbe/boues optimisés, configuration en flux ascendant, ajout de gravier pour maintenir la perméabilité, enfouissement sous la ligne de gel et contrôle initial des flux.

Cependant, plusieurs perspectives doivent être envisagées pour consolider ces résultats en vue d'un déploiement opérationnel :

- D'une part, il est impératif de tester la performance des biofiltres sur des périodes plus longues, a minima sur un cycle hydrologique complet (≥ 12 mois), afin d'évaluer l'impact des cycles de gel/dégel, des variations saisonnières de température, et des événements extrêmes sur la stabilité du traitement.
- D'autre part, la mise en place d'un pilote de terrain à plus grande échelle (≥ 10 tonnes de mélange de remplissage) permettrait de valider les hypothèses de conception dans un contexte semi-industriel, tout en intégrant les réalités logistiques, économiques et réglementaires propres aux opérations minières.

Au-delà de leur efficacité technique, les biofiltres développés dans cette étude s'inscrivent dans une logique de valorisation de sous-produits (résidus miniers, biomasse organique) et d'intégration aux paysages locaux. Ils représentent une solution peu coûteuse, autonome et à faible empreinte carbone, adaptée à la réhabilitation des sites miniers fermés ou orphelins dans les régions nordiques. Cette approche renforce l'ancrage territorial des technologies environnementales, en lien avec les objectifs de transition écologique, de circularité des ressources et de justice environnementale.

Enfin, cette recherche ouvre la voie à de nouveaux axes interdisciplinaires, combinant microbiologie environnementale, géochimie isotopique et ingénierie écologique, dans une optique de gestion durable des passifs miniers. Elle invite également à repenser la conception des systèmes de traitement passif en intégrant non seulement des objectifs de dépollution, mais aussi des fonctions écosystémiques (séquestration du carbone, soutien à la biodiversité) et des principes d'adaptation aux changements climatiques. Dans ce contexte, il devient crucial de mieux comprendre dès maintenant le fonctionnement des biofiltres passifs en climat froid, afin d'anticiper leurs performances futures dans un environnement où les régimes de température, de précipitations et de gel/dégel seront de plus en plus variables et extrêmes.

ANNEXE A – MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE PUBLIÉ AVEC L'ARTICLE 1

Table A1
TCLP and SPLP results from peat and AMD-S.

	As (mg/L)	Fe (mg/L)
<i>Toxicity characteristic leaching procedure (TCLP)</i>		
Peat	0.03 ± 0.00	0.30 ± 0.01
AMD-S	19.2 ± 3.4	667 ± 16
<i>Synthetic precipitation leaching procedure (SPLP)</i>		
Peat	0.03 ± 0.01	< 0.03
AMD-S	0.60 ± 0.21	< 0.03
<i>Regulation</i>		
United States Environmental Protection Agency (USEPA 1992; 1994)	0.2	-
Directive 019 pertaining to the mining industry in Quebec criterion (MELCCFP, 2012)	0.2	3

D.L.: detection limit. Results show means ± s.d. (n = 3). s.d.: standard deviation.

Table A2

Proportions of major prokaryotic genera (in %) detected in the biofilter-Post and biofilter-Pre samples. Unclassified and minor genera (with relative abundance < 0.5 %) were grouped together.

Genus	Biofilter-Post (mean $\pm$ s.d.; n = 2)	Biofilter-Pre
Minor and unclassified genera	54.8	29.1
<i>Thiobacillus</i>	6.08 $\pm$ 0.61	41.6
<i>Geothrix</i>	10.1 $\pm$ 3.1	2.01
<i>Desulfuromonas</i>	4.69 $\pm$ 1.32	3.22
<i>Thermomonas</i>	3.40 $\pm$ 0.59	2.91
<i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i>	2.39 $\pm$ 0.06	2.99
<i>Candidatus Nitrotoga</i>	3.14 $\pm$ 0.22	0.40
<i>Rhodoferax</i>	0.80 $\pm$ 0.07	3.74
<i>Nitrospira</i>	1.61 $\pm$ 0.04	1.33
<i>WCHB1-32</i>	2.04 $\pm$ 0.33	0.14
<i>Geobacter</i>	1.38 $\pm$ 0.15	1.21
<i>Flavobacterium</i>	0.07 $\pm$ 0.04	3.21
<i>Dokdonella</i>	1.39 $\pm$ 0.05	0.53
<i>Paludibacter</i>	1.50 $\pm$ 0.32	0.06
<i>Gemmobacter</i>	0.64 $\pm$ 0.02	1.23
<i>Citri fermentans</i>	1.08 $\pm$ 0.11	0.12
<i>Pajaroellobacter</i>	1.10 $\pm$ 0.53	0.06
<i>Rhodanobacter</i>	0.50 $\pm$ 0.34	1.17
<i>Bradyrhizobium</i>	0.80 $\pm$ 0.08	0.31
<i>Pseudolabrys</i>	0.86 $\pm$ 0.58	0.00
<i>AAP99</i>	0.54 $\pm$ 0.12	0.60

Table A3

Proportions of bacterial genera (in %) detected in the biofilter-Post and biofilter-Pre samples that are known to catalyze the dissimilatory oxido-reduction of sulfur and iron.

Genus	Biofilter-Post (mean $\pm$ s.d.; n = 2)	Biofilter-Pre
1. Sulfur oxidizers	6.150 $\pm$ 0.603	41.710
<i>Thiobacillus</i>	6.076 $\pm$ 0.610	41.602
<i>Sulfuritalea</i>	0.070 $\pm$ 0.003	0.068
<i>Thiovirga</i>	0.000 $\pm$ 0.000	0.041
<i>Sulfuricurvum</i>	0.003 $\pm$ 0.005	0.000
2. Sulfate reducers	5.878 $\pm$ 1.457	3.249
<i>Desulfuromonas</i>	4.692 $\pm$ 1.318	3.219
<i>[Desulfobacterium] catecholicum</i> group	0.447 $\pm$ 0.376	0.000
<i>Desulfobulbus</i>	0.237 $\pm$ 0.092	0.000
<i>Desulfitobacterium</i>	0.175 $\pm$ 0.114	0.000
<i>Desulfosporosinus</i>	0.099 $\pm$ 0.041	0.030
<i>Desulfovibrio</i>	0.143 $\pm$ 0.001	0.000
<i>Desulfomicrobium</i>	0.034 $\pm$ 0.005	0.000
<i>Desulfatirhabdium</i>	0.035 $\pm$ 0.004	0.000
<i>Desulfurispora</i>	0.015 $\pm$ 0.010	0.000
3. Iron reducers	10.62 $\pm$ 3.30	2.024
<i>Geothrix</i>	10.14 $\pm$ 3.06	2.006
<i>Geobacter</i>	0.452 $\pm$ 0.213	0.000
<i>Acidibacter</i>	0.022 $\pm$ 0.031	0.000
<i>Shewanella</i>	0.000 $\pm$ 0.000	0.019
4. Iron oxidizers	0.782 $\pm$ 0.190	0.075
<i>Ferritrophicum</i> *	0.579 $\pm$ 0.050	0.000
<i>Gallionella</i>	0.185 $\pm$ 0.114	0.000
<i>Leptothrix</i>	0.000 $\pm$ 0.000	0.075
<i>Ferribacterium</i>	0.018 $\pm$ 0.025	0.000

*Also capable of iron reduction

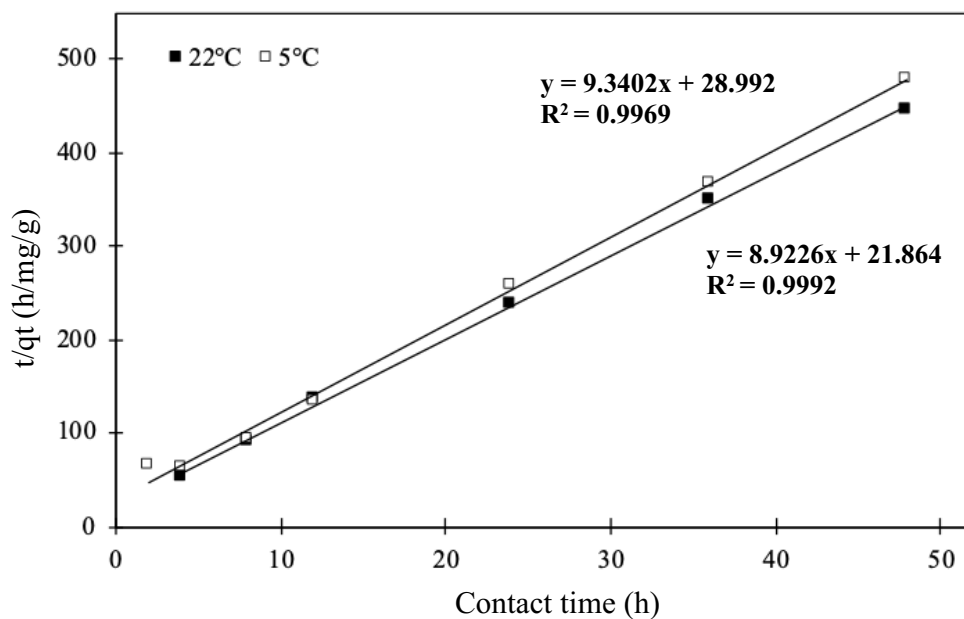


Figure A1
Kinetic modeling of chemisorption of As from synthetic As-NMD onto P50/AMD-S50 at 22 and 5°C.

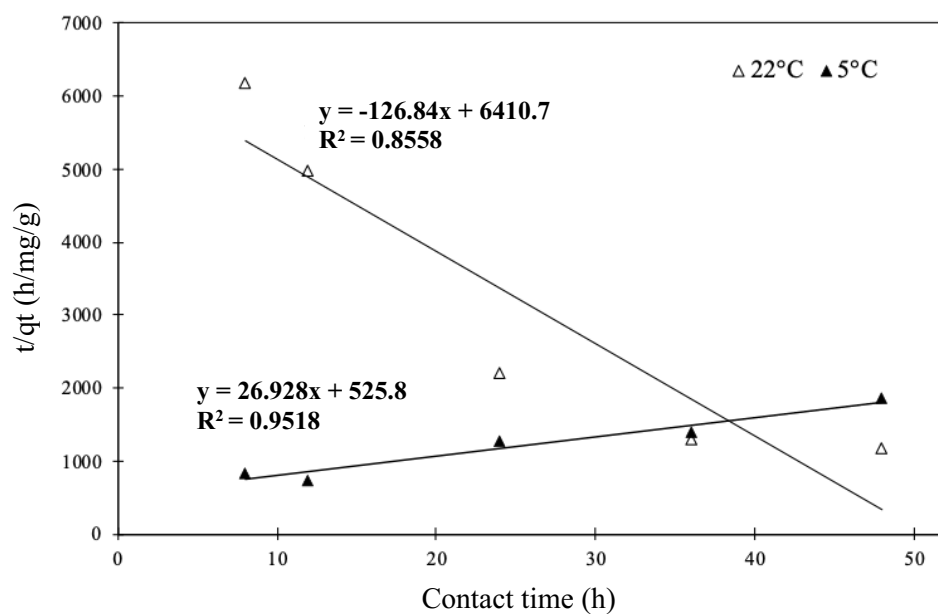


Figure A2
Kinetic modeling of chemisorption of As from real As-NMD onto P50/AMD-S50 at 22 and 5°C.



Figure A3
Metabolic function of microbial communities in the lab-scale biofilter and control samples.

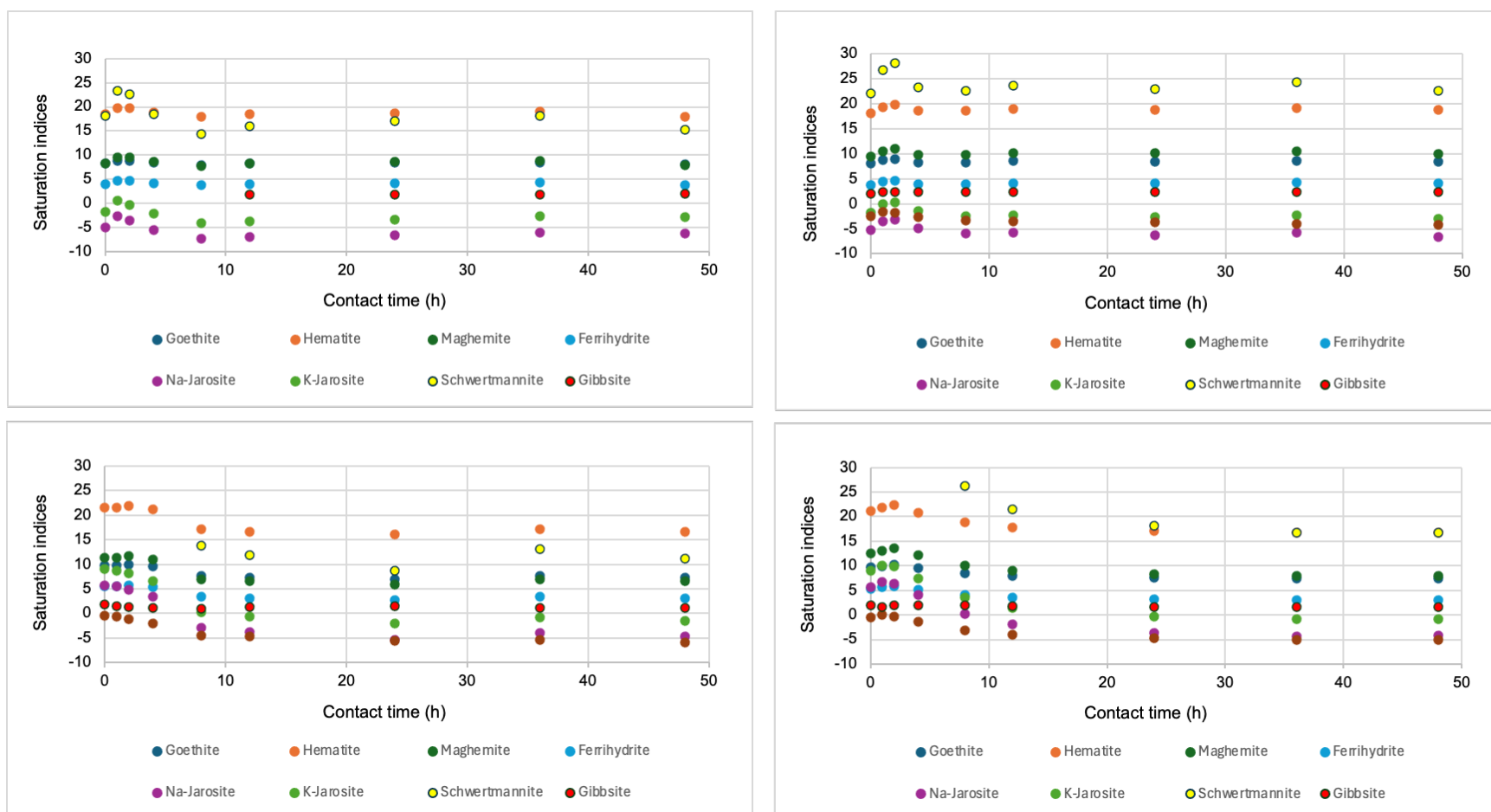


Figure A4
Saturation indices calculated using water chemistry (PHREEQC) data obtained from batch tests (0 to 48 h) with synthetic and real As-NMD at 22 and 5°C.

PHREEQC Simulation

Modeling the speciation of dissolved species in peat pore waters can be affected by inaccuracies in representing the effects of dissolved organic matter. Inaccuracies related to pH measurements caused mainly by suspended particles (suspension effect) can further affect calculations. Organic acids and H^+ can dominate the ion balance in dilute peat porewaters. Despite attempts to integrate organic matter into geochemical models, converting mass concentrations of DOC to molar concentrations of humic and fulvic acids remains challenging. In peat porewaters, the ion balance error is often well above the $\pm 5\%$ threshold, due to the presence of unquantified organic acids (carrying negative charge) resulting in an elevated positive ion balance error (Dasgupta et al., 2015; Siegel et al., 2006). Several coupled models, such as PHREEQC with a generic model (fulvic and humic acids), allow simulations of the effects of humic acids on the geochemical behavior of metals (Catrouillet et al., 2014), but the model accuracy depends on the accuracy of the assessment of the chemical composition of the organics. As an alternative approach to challenges posed by organic acid charge, it has been proposed to use an analogous triprotic acid to fit the models, as previously reported (Siegel et al., 2006; Dasgupta et al., 2015):

SOLUTION_MASTER_SPECIES



SOLUTION_SPECIES



ANNEXE B – MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE PUBLIÉ AVEC L'ARTICLE 2

Table B1

Physicochemical parameters of As-NMD treated by pilot-scale field biofilters (from August to November 2023). Minimum (min) and maximum (max) values are given.

Parameters	As-NMD from Éléonore mine (WSF) (min–max)
<i>Physicochemical parameters</i>	
Temperature (°C)	11.0–20.7
pH	7.43–7.92
Dissolved oxygen (DO) (mg/L)	6.80–10.4
Redox potential (Eh) (mV)	165–230
Electrical conductivity (EC) (mS/cm)	5.50–7.00
Salinity (mg/L)	3000–3800
Alkalinity (mg/L CaCO ₃)	152–161
<i>Chemical composition (mg/L)</i>	
Dissolved organic carbon (DOC)	12.1–13.4
Cl ⁻	330–347
NO ₂ ⁻	79.3–164
NO ₃ ⁻	211–522
PO ₄ ³⁻	< 0.90
SO ₄ ²⁻	2519–2910
Al	0.01–0.02
As	0.71–0.94
Ca	445–531
Co	0.49–0.61
Fe	< 0.03
K	263–267
Mg	35.0–41.5
Na	830–899
Ni	0.18–0.32
S	938–1010
Sb	0.34–0.44
Zn	0.04–0.06

Legend: WSF= Waste Storage Facility (storing tailings and waste rock piles)

Table B2**Physicochemical parameters of the inlet, outlet and pore water samples collected from biofilter #1 and #2 during dismantling.**

Sample ID	°C	Conductivity (mS/cm)	pH	Salinity (g/L)	Eh (mV)	O ₂ (mg/L)	DOC (mg/L)
Inlet biofilter #1	12.5	6812	7.92	3.75	231	11.4	12.7
Core n°1–I1	12.4	6726	7.32	3.70	221	11.4	29.6
Core n°1–A	11.8	6278	7.32	3.44	221	11.6	10.2
Core n°1–B	12.5	6469	7.60	3.55	218	11.6	12.4
Core n°1–I2	12.2	4051	7.94	2.16	218	11.8	10.4
Outlet biofilter #1	12.0	6892	7.38	3.80	231	11.1	10.1
Inlet biofilter #2	12.5	6862	7.91	3.78	231	11.3	12.7
Core n°2–I1	12.2	6700	7.27	3.69	222	11.5	11.2
Core n°2–A	12.4	6210	7.31	3.49	224	11.5	12.0
Core n°2–B	12.2	5153	7.80	2.80	223	11.6	10.0
Core n°2–I2	12.2	3426	7.80	1.80	222	11.8	10.3
Outlet biofilter #2	11.8	6808	7.50	3.75	231	11.0	10.0

Sample ID	(mg/L)											
	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Sb	As	Ca	Mg	Mn	Mo	Ni	Na
Inlet biofilter #1	337	92.3	522	2519	0.42	0.71	531	41.5	0.74	0.15	0.32	830
Core n°1–I1	402	1.52	426	2665	0.26	0.02	529	48.3	0.50	0.20	0.01	987
Core n°1–A	399	< 0.70	426	2632	0.19	0.02	472	46.5	0.17	0.15	0.01	954
Core n°1–B	399	1.09	438	2638	0.16	0.03	252	24.0	0.27	0.09	0.01	488
Core n°1–I2	404	< 0.70	438	2646	0.39	0.09	554	52.3	0.62	0.18	0.07	1050
Outlet biofilter #1	405	0.70	422	2588	0.18	0.02	499	36.5	0.47	0.16	0.01	875
Inlet biofilter #2	337	92.3	522	2519	0.42	0.71	531	41.5	0.74	0.15	0.32	830
Core n°2–I1	408	< 0.70	478	2659	0.25	0.02	525	45.5	0.47	0.18	0.01	958
Core n°2–A	408	< 0.70	471	2641	0.22	0.03	489	47.1	0.17	0.15	0.01	956
Core n°2–B	408	0.65	491	2641	0.31	0.06	527	49.8	0.54	0.17	0.02	998
Core n°2–I2	408	0.71	528	2634	0.40	0.09	576	53.1	0.61	0.19	0.07	1070
Outlet biofilter #2	416	11.3	481	2563	0.22	0.06	526	37.9	0.46	0.16	0.01	844

Legend: Eh = redox potential, DOC = Dissolved Organic Carbon

Table B3**Summary of α -diversity indices for each sample of cores n°1 and n°2 (biofilter #1).**

Sample ID	Diversity indices					
	OTUs	Chao1	Shannon	Pielou	Simpson	InvSimpson
Core n°1–I1	743	743	5.46	0.83	0.99	88.2
Core n°1–A	697	697	5.19	0.79	0.98	59.4
Core n°1–B	670	670	5.22	0.80	0.99	67.4
Core n°1–I2	704	704	5.34	0.81	0.99	72.6
Core n°2–I1	701	701	5.27	0.80	0.97	72.2
Core n°2–A	726	726	5.38	0.82	0.99	83.6
Core n°2–B	433	433	4.99	0.82	0.98	61.7
Core n°2–I2	715	715	5.26	0.80	0.99	67.3
Control (unused filling mixture)	315	315	3.68	0.64	0.86	7.30

Table B4**Summary of α -diversity indices for each group (= mean per depth, biofilter #1).**

Sample ID	Diversity indices					
	OTUs	Chao1	Shannon	Pielou	Simpson	InvSimpson
Group I1	722	722	5.37	0.82	0.99	80.2
Standard deviation	29.7	29.7	0.14	0.01	0.00	0.11
Standard error	21.0	21.0	0.02	0.11	0.00	7.96
Group A	711	711	5.28	0.80	0.99	71.5
Standard deviation	0.20	0.20	0.11	0.07	0.00	0.17
Standard error	0.15	0.15	0.09	0.01	0.00	0.12
Group B	552	552	5.10	0.81	0.98	64.5
Standard deviation	0.02	0.02	0.16	0.01	0.00	4.00
Standard error	0.01	0.01	0.15	0.00	0.00	2.83
Group I2	709	709	5.30	0.80	0.99	70.0
Standard deviation	7.78	7.78	0.06	0.00	0.00	3.71
Standard error	5.50	5.50	0.04	0.00	0.00	7.30

Table B5**Comparison of β -diversity between each depth group (I1, A, B, I2) using the Wilcoxon test (biofilter #1), with values indicating P-values.**

Sample ID	Group I1	Group A	Group B	Group I2	Control
Group I1					
Group A	0.71				
Group B	1.48E-17	42.8E-16			
Group I2	0.52	0.79	2.93E-15		
Control (unused filling mixture)	5.58E-65	1.49E-62	3.47E-26	1.59E-61	

Table B6

Proportions of bacterial genera detected in the control (unused filling mixture) and biofilter #1 (cores n°1 and n°2) samples that are known to catalyse the dissimilatory oxido-reduction of sulfur and Fe.

Genus	Control	Core							
		n°1-I1	n°1-A	n°1-B	n°1-I2	n°2-I1	n°2-A	n°2-B	n°2-I2
1. Neutrophilic S-oxidizers	41.710	5.197	6.206	5.714	5.777	4.786	5.722	5.703	5.345
<i>Thiobacillus</i>	41.602	4.785	5.764	5.692	5.647	4.682	5.654	5.703	5.325
<i>Sulfuritalea</i>	0.068	0.398	0.421	0.021	0.117	0.092	0.059	0.000	0.019
<i>Thiovirga</i>	0.041	0.010	0.007	0.000	0.000	0.011	0.008	0.000	0.000
<i>Sulfurimonas</i>	0.000	0.000	0.014	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Halothiobacillus</i>	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2. SRB	3.279	3.915	4.494	4.436	4.777	3.484	4.202	4.775	4.678
<i>Desulfuromonas</i>	3.219	3.915	4.442	4.404	4.777	3.484	4.181	4.775	4.678
<i>[Desulfobacterium] catecholicum</i> group	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Desulfosporosinus</i>	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Desulfomicrobium</i>	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Desulfocapsa</i>	0.000	0.000	0.000	0.021	0.000	0.000	0.021	0.000	0.000
<i>Desulforhopalus</i>	0.000	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Dethiobacter</i>	0.000	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fe(III) reducers	0.019	0.048	0.056	0.096	0.113	0.056	0.124	0.114	0.130
<i>Geobacter</i>	0.000	0.048	0.056	0.091	0.087	0.056	0.107	0.114	0.130
<i>Acidibacter</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.000	0.000
Neutrophilic Fe(II) oxidizers	0.075	0.062	0.019	0.000	0.000	0.062	0.000	0.000	0.000
<i>Gallionella</i>	0.000	0.024	0.019	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000	0.000
<i>Leptothrix</i>	0.075	0.038	0.000	0.000	0.000	0.039	0.000	0.000	0.000

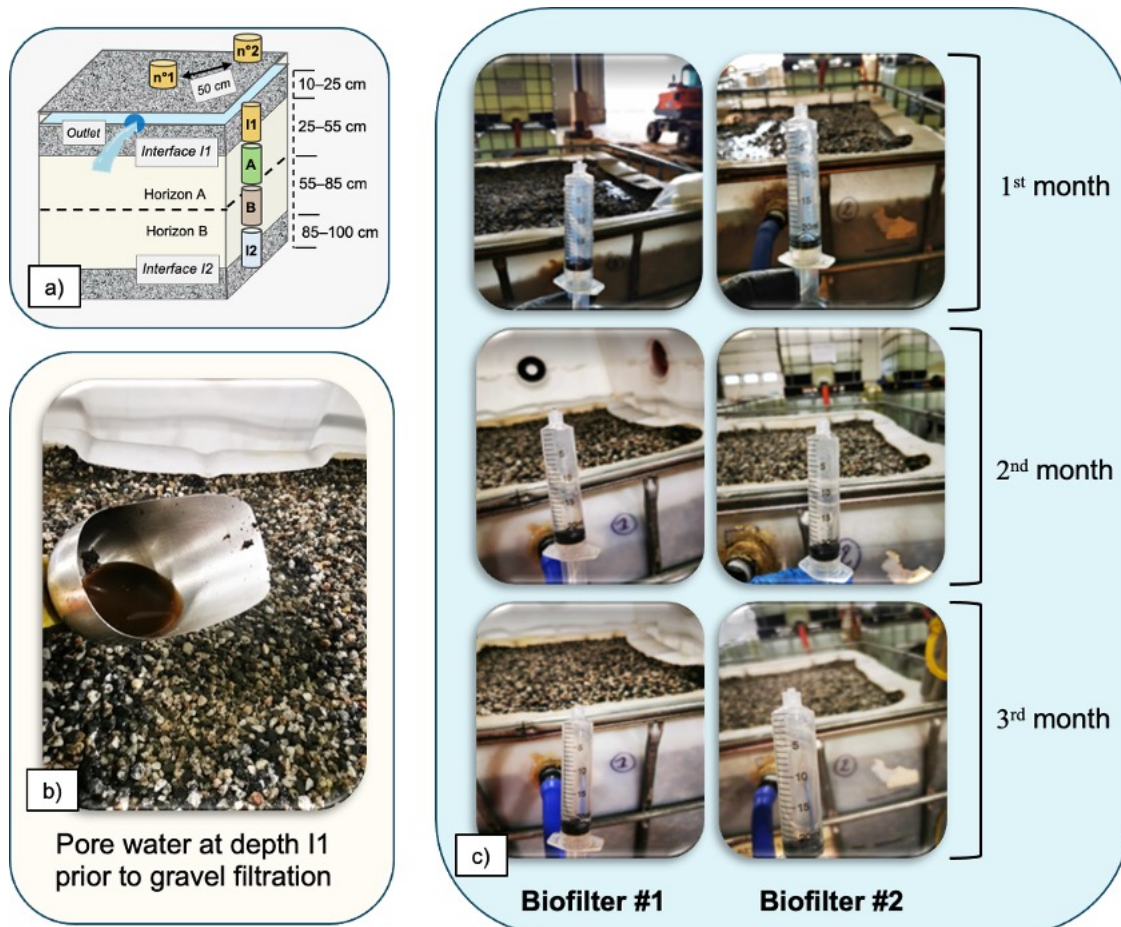


Figure B1

Schematic representation of the cross section of the biofilter constructed for the present study (a). Watercolor: at depth I1 (b) (before filtration with gravel), and at the outlets of biofilters #1 and #2 (c) during 3 months of operation.

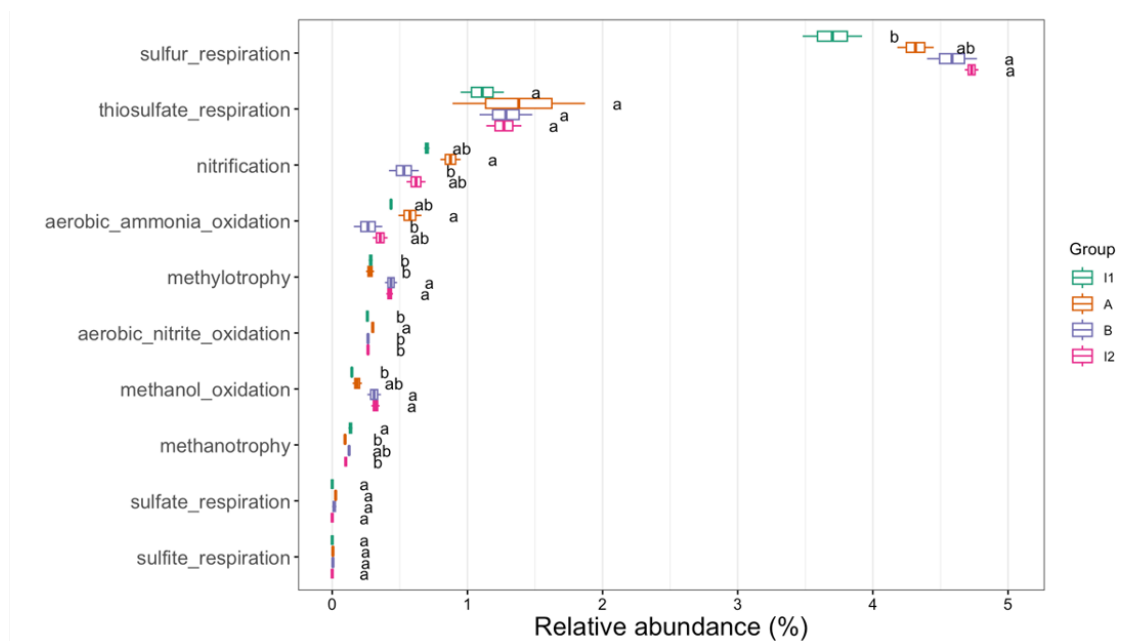


Figure B2

Relative abundance of the metabolic functions determined in each section within the vertical depth profile of the biofilter. Letters (a, b, ab) from Kruskal-Wallis test indicate significant differences (KW p -value < 0.05): groups sharing the same letter are similar, while those with different letters differ. Boxplots show medians, interquartile ranges, and variability.

ANNEXE C – MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE PUBLIÉ AVEC L'ARTICLE 3

Table C1

Historical physicochemical parameters of As-NMD collected from the Wood-Cadillac field-scale biofilter, determined between 2000 and 2018. Legend: Eh = standard hydrogen electrode corrected redox potential, EC = electrical conductivity, D019 = Québec provincial guidelines (Ministry of the Environment).

		Number of samples (n)	pH	Eh (mV)	EC (μ S/cm)	Alkalinity (mg/L as CaO ₃)	As (mg/L)	Fe (mg/L)	S (mg/L)
D019			6.00–9.50	NA	NA	NA	0.10	3.00	NA
North inlet May–November	2000	15	7.51	64	843	64	0.10	0.51	112
	2010	5	7.09	170*	339	69	0.23	1	NA
	2015	7	6.85	NA	256	45	0.73	3	NA
	2018	6	6.57	NA	70	23	0.70	4	NA
West inlet May–November	2000	15	7.52	71	949	55	0.09	0.07	136
	2010	5	7.19	198*	370	56	0.33	0.62	NA
	2015	7	7.20	NA	351	64	0.16	0.67	NA
	2018	6	6.92	NA	205	35	0.64	5.17	NA
Outlet May–November	2000	15	5.89	–145	960	294	0.01	1.54	74.7
	2010	5	6.85	–295*	332	98	0.14	0.16	NA
	2015	7	6.71	NA	289	86	0.10	0.46	NA
	2018	6	6.58	NA	134	48	0.08	1.45	NA

* n = 1, N/A = not assessed

Table C2
Complete porewater geochemical dataset of Wood-Cadillac biofilter.

		mg/L									
Sample		Al	As	Ba	Ca	Fe	K	Mg	Na	S	Si
Surface layer	North inlet	0,42	0,35	0,37	9,05	1,98	0,93	1,99	0,92	2,69	3,39
	West inlet	0,16	0,07	0,77	44,24	0,49	1,70	4,18	3,85	26,63	3,61
	Surface (A)	0,24	0,21	0,65	18,81	1,21	1,17	2,89	2,45	10,16	3,28
	Outlet	0,16	0,08	0,51	12,12	1,92	1,02	2,24	1,92	2,560	3,07
Layer B	WC1	0,25	0,07	0,31	9,99	3,38	0,91	2,07	1,27	2,22	3,01
	WC2	0,17	0,14	0,8	19,45	3,74	1,12	3,32	3,02	14,19	3,23
	WC2	0,25	0,30	0,56	16,00	2,15	1,19	2,35	2,69	8,37	3,08
	WC3	0,23	0,16	0,41	12,27	2,55	1,40	2,54	1,42	4,29	3,00
	WC5	0,23	0,17	0,40	12,33	2,54	1,44	2,53	1,38	4,3	2,99
	WC5 (repeat)	0,24	0,06	0,45	10,18	3,23	0,82	2,10	1,34	1,54	2,92
Layer C	WC1	0,14	0,08	0,87	22,15	4,56	1,26	4,21	3,05	15,58	3,18
	WC2	0,20	0,28	0,73	16,06	2,67	1,23	2,48	2,78	8,02	3,08
	WC2 (repeat)	0,19	0,29	0,68	15,1	2,49	1,42	2,38	2,88	7,34	2,98
	WC3	0,23	0,17	0,41	11,12	2,79	1,32	2,33	1,44	3,47	3,00
	WC3 (repeat)	0,25	0,13	0,41	11,21	2,79	1,32	2,32	1,40	2,20	3,04
	WC5	0,42	0,35	0,37	9,05	1,98	0,93	1,99	0,92	2,69	3,39
	WC5 (repeat)	0,16	0,07	0,77	44,24	0,49	1,70	4,18	3,85	26,63	3,61

Table C3**Concentrations of total dissolved As and As species in surface and pore water samples from the field-scale biofilter.****Legend: MMA = monomethylarsonic acid, DMA = dimethylarsinic acid.**

Sample		As _{total} (µg/L)	As(III)		As(V)		MMA(V)		DMA(V)		Sum of As species (µg/L)	Recovery (%)
			(µg/L)	(%)	(µg/L)	(%)	(µg/L)	(%)	(µg/L)	(%)		
Surface layer	North inlet	339	66.1	19.5	198	58.3	51.1	15.1	14.0	4.1	329	97.0
	West inlet	78.3	18.1	23.1	35.3	45.0	27.7	35.3	5.60	7.1	86.7	110
	Surface (A)	212	28.1	13.3	116	55.0	51.7	24.4	13.3	6.3	209	99.0
	Outlet	88.1	4.80	5.4	36.7	41.7	43.3	49.1	3.80	4.3	88.6	100
Layer B	WC1	102	8.51	8.3	40.5	39.6	30.9	30.2	3.58	3.5	83.5	80.0
	WC2	137	67.4	49.2	35.7	26.2	27.0	19.9	7.90	5.8	138	101
	WC3	333	130	39.1	70.1	21.0	94.1	28.2	9.77	2.9	304	91.2
	WC5	181	23.4	12.9	74.0	40.9	61.7	34.1	4.71	2.6	164	90.5
Layer C	WC1	68.2	5.20	7.6	29.3	43.0	23.2	34.0	3.00	4.4	60.7	89.0
	WC2	103	15.6	15.2	26.8	26.0	52.9	51.2	4.3	4.1	99.6	96.5
	WC3	280	29.8	10.6	79.8	28.5	156	55.8	13.4	4.8	279	99.7
	WC5	170	13.1	7.7	75.6	44.5	62.0	36.5	5.1	3.0	156	91.7

On a theoretical basis, the potential impact of H_2S oxidation to SO_4^{2-} on the isotopic composition of SO_4^{2-} measured in the laboratory can be estimated using the measured concentrations of H_2S and SO_4^{2-} in the samples, and by assuming a realistic isotopic fractionation factor based on data from the literature (here, $\alpha \frac{SO_4^{2-}}{H_2S} = 1.032$). Assuming that all H_2S will oxidize to SO_4^{2-} in the samples before chemical and isotopic analyses, the fraction of SO_4^{2-} resulting from H_2S oxidation ($(SO_4^{2-})_{from H_2S}$) can be estimated as follows:

$$S_{(SO_4^{2-})_{from H_2S}} = 1 - \frac{S_{(SO_4^{2-})_{measured}} - S_{(H_2S)_{measured}}}{S_{(SO_4^{2-})_{measured}}}$$

A corrected value for the amount of S that was found in samples as SO_4^{2-} prior to the oxidation of H_2S can thus be expressed as:

$$S_{(SO_4^{2-})_{corrected}} = S_{(SO_4^{2-})_{measured}} - S_{(H_2S)_{measured}}$$

The fraction of S from H_2S oxidation to SO_4^{2-} (x_{H_2S}) can be expressed as:

$$x_{H_2S} = \frac{S_{(H_2S)_{measured}}}{S_{(SO_4^{2-})_{measured}}}$$

The fraction of S that was found in samples as SO_4^{2-} prior to the oxidation of H_2S can thus be expressed as:

$$x_{SO_4^{2-} \text{ corrected}} = \frac{S_{(SO_4^{2-})_{measured}} - S_{(H_2S)_{measured}}}{S_{(SO_4^{2-})_{measured}}} = 1 - x_{H_2S}$$

The impact of H_2S oxidation to SO_4^{2-} on the isotopic composition of SO_4^{2-} measured in the laboratory is then estimated based on a mixing calculation where the $\delta^{34}SO_4^{2-}$ measured in the laboratory represents a value corresponding to a mixture between a fraction of S with the isotopic composition of sulfate prior to the oxidation of H_2S ($\delta^{34}SO_4^{2-} \text{ corrected}$; $x_{SO_4^{2-} \text{ corrected}}$) and S from H_2S that was oxidized to SO_4^{2-} ($\delta^{34}SO_4^{2-} \text{ from } H_2S$; x_{H_2S}):

$$\begin{aligned}\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{measured} \\ &= \delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected} \cdot x_{SO_4^{2-}{}_{corrected}} + \delta^{34}SO_4^{2-}{}_{from\ H_2S} \\ &\quad \cdot (1 - x_{SO_4^{2-}{}_{corrected}})\end{aligned}$$

Assuming a fractionation factor $\alpha_{\frac{SO_4^{2-}}{H_2S}} = 1.032$, the isotopic composition of S in H_2S can be estimated as:

$$\delta^{34}S_{H_2S} \approx \delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected} - 32\text{‰}$$

Thus, the mixing equation can be rewritten as:

$$\begin{aligned}\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{measured} \\ &= \delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected} \cdot x_{SO_4^{2-}{}_{corrected}} + (\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected} + 32\text{‰}) \\ &\quad \cdot (1 - x_{SO_4^{2-}{}_{corrected}})\end{aligned}$$

Rearranging and isolating $\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected}$ yields:

$$\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected} = \delta^{34}SO_4^{2-}{}_{measured} - 32 \cdot x_{SO_4^{2-}{}_{corrected}} + 32$$

The $\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected}$ values calculated for each sample are reported in **Table C4**.

Table C4
Measured and corrected (estimated) $\delta^{34}SO_4^{2-}$.

Site	SO_4^{2-} (mg/l)	SO_4^{2-} (mg S/l)	H_2S (mg S/l)	x_{H_2S}	$x_{SO_4^{2-}}$	$\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{measured}$ (‰ VCDT)	$\delta^{34}SO_4^{2-}{}_{corrected}$ (‰ VCDT)
West inlet	61	20.33	0.2	0.01	0.99	7.47	7.78
Surface	21	7.00	0.05	0.01	0.99	7.78	8.01
Outlet	10	3.33	1.32	0.28	0.60	12.6	25.27
WC1	11	3.67	0.04	0.01	0.99	13.5	13.85
WC2	28	9.33	0.35	0.04	0.96	8.21	9.41
WC3	20	6.67	0.41	0.06	0.94	9.43	11.40
WC5	13	4.33	0.78	0.15	0.82	10.5	16.26
WC1	10	3.33	0.12	0.03	0.96	11.2	12.35
WC2	30	10.00	0.61	0.06	0.94	12.2	14.15
WC3	19	6.33	1.18	0.16	0.81	12.1	18.06
WC5	11	3.67	0.64	0.15	0.83	10.3	15.89

Table C5

Summary of prokaryotic α -diversity indices for each depth (0–30 cm, 30–60 cm, 60–90 cm) and each site (WC1–WC5). Legend: means $\pm$ s.d. (standard deviations) are shown; (a) n = 10, (b) n = 6.

(a)	Depth (cm)	ASV	Chao1	Shannon	Simpson
	0–30	2146 $\pm$ 1037	3488 $\pm$ 1479	6.40 $\pm$ 2.06	0.95 $\pm$ 0.16
	30–60	2462 $\pm$ 1001	3901 $\pm$ 969.0	7.12 $\pm$ 0.36	1.00 $\pm$ 0.00
	60–90	2290 $\pm$ 910	3663 $\pm$ 1128	6.65 $\pm$ 0.63	0.99 $\pm$ 0.14

(b)	Site	ASV	Chao1	Shannon	Simpson
	WC1	2714 $\pm$ 1462	3964 $\pm$ 1977	6.26 $\pm$ 2.74	0.92 $\pm$ 0.20
	WC2	2896 $\pm$ 679	4487 $\pm$ 646.2	7.17 $\pm$ 0.38	1.00 $\pm$ 0.00
	WC3	2481 $\pm$ 872	3872 $\pm$ 1036	6.90 $\pm$ 0.53	0.99 $\pm$ 0.01
	WC4	1508 $\pm$ 390	2784 $\pm$ 508	6.43 $\pm$ 0.66	0.98 $\pm$ 0.00
	WC5	1897 $\pm$ 448	3315 $\pm$ 618	6.86 $\pm$ 0.36	1.00 $\pm$ 0.00

Table C6

Summary of fungal α -diversity indices for each depth (0–30 cm, 30–60 cm, 60–90 cm) and each site (WC1–WC5). Legend: means $\pm$ s.d. (standard deviations) are shown; (a) n = 10, (b) n = 6.

(a)	Depth (cm)	ASV	Chao1	Shannon	Simpson
	0–30	638 $\pm$ 124	899 $\pm$ 112	3.54 $\pm$ 0.70	0.85 $\pm$ 0.01
	30–60	693 $\pm$ 164	935 $\pm$ 161	3.75 $\pm$ 0.69	0.87 $\pm$ 0.01
	60–90	476 $\pm$ 133	640 $\pm$ 179	3.32 $\pm$ 0.85	0.85 $\pm$ 0.10

(b)	Site	ASV	Chao1	Shannon	Simpson
	WC1	659 $\pm$ 147	859 $\pm$ 176	4.52 $\pm$ 0.19	0.95 $\pm$ 0.01
	WC2	704 $\pm$ 146	890 $\pm$ 179	3.79 $\pm$ 0.20	0.91 $\pm$ 0.00
	WC3	574 $\pm$ 223	816 $\pm$ 277	3.25 $\pm$ 0.72	0.85 $\pm$ 0.01
	WC4	527 $\pm$ 145	760 $\pm$ 186	3.25 $\pm$ 0.50	0.81 $\pm$ 0.08
	WC5	547 $\pm$ 132	797 $\pm$ 209	2.87 $\pm$ 0.66	0.76 $\pm$ 0.01

Table C7

Analysis of variance (ANOVA) of α -diversity indices as a function of depth and site for prokaryotic communities. Legend: NA = not assessed, ns = not significant.

Prokaryotic communities					
Measure	Factors	Df	F value	P.unadj	Significance
Observed	Depth	2	0.340	0.717	ns
	Site	4	2.74	0.067	ns
	Depth:Site	8	1.18	0.370	ns
	Residuals	15	NA	NA	NA
Chao1	Depth	2	0.358	0.705	ns
	Site	4	2.13	0.127	ns
	Depth:Site	8	1.18	0.372	ns
	Residuals	15	NA	NA	NA
Shannon	Depth	2	0.767	0.482	ns
	Site	4	0.466	0.759	ns
	Depth:Site	8	0.975	0.490	ns
	Residuals	15	NA	NA	NA
Simpson	Depth	2	0.931	0.415	ns
	Site	4	0.869	0.505	ns
	Depth:Site	8	1.01	0.470	ns
	Residuals	15	NA	NA	NA

Table C8

Analysis of variance (ANOVA) of α -diversity indices as a function of depth and site for fungal communities. Legend: NA = not assessed, ns = not significant, * p-value < 0.05, ** p-value < 0.01, * p-value < 0.001.**

Fungal communities					
Measure	Factors	Df	Fvalue	P.unadj	Significance
Observed	Depth	2	6.99	4.04e-03	**
	Site	1	5.24	3.12e-02	*
	Depth:Site	2	0.157	8.56e-01	ns
	Residuals	24	NA	NA	NA
Chao1	Depth	2	10.5	5.18e-04	***
	Site	1	1.57	2.22e-01	ns
	Depth:Site	2	0.104	9.02e-01	ns
	Residuals	24	NA	NA	NA
Shannon	Depth	2	1.81	1.86e-01	ns
	Site	1	33.1	6.22e-06	***
	Depth:Site	2	0.012	9.88e-01	ns
	Residuals	24	NA	NA	NA
Simpson	Depth	2	0.210	8.12e-01	ns
	Site	1	28.6	1.74e-05	***
	Depth:Site	2	0.194	8.25e-01	ns
	Residuals	24	NA	NA	NA

Table C9

Mean proportions of sequence reads assigned to prokaryotic genera (or higher taxa if identification on the genus level was not possible) involved in S, Fe and As biogeochemical transformations in the Wood-Cadillac biofilter.

Genus	Mean relative abundance (%)
1. S oxidizers:	1.104 (sum)
<i>Thiobacillus</i>	0.900
<i>Sulfurisoma</i>	0.063
<i>Sulfuricella</i>	0.045
<i>Sulfuriferula</i>	0.042
<i>Thiohalobacter</i>	0.016
<i>Sulfuritalea</i>	0.013
<i>Thiogranum</i>	0.006
<i>Thiopfundum</i>	0.006
<i>Sulfuricurvum</i>	0.005
<i>Thiothrix</i>	0.004
<i>Acidiphilium</i>	0.004
2. Sulfate reducers:	3.216 (sum)
<i>Desulfatirhabdium</i>	1.226
<i>Desulfomonile</i>	0.590
<i>Desulfosporosinus</i>	0.219
<i>Desulfacinum</i>	0.166
<i>Desulfocapsa</i>	0.102
<i>Desulfovirga</i>	0.062
<i>Desulfatitalea</i>	0.041
<i>Desulfobulbus</i>	0.039
<i>Desulforhabdus</i>	0.016
<i>Desulfopila</i>	0.013
<i>Desulfitobacterium</i>	0.011
<i>Desulfatiglans</i>	0.008
<i>Desulfosarcina</i>	0.008
<i>Desulfonatronobacter</i>	0.007
<i>Desulfoprimum</i>	0.006
<i>Desulfobacca</i>	0.004
<i>Desulfofaba</i>	0.003
(<i>Desulfobacteracea</i>)	0.653
(<i>Desulfobulbaceae</i>)	0.041

Table C9

Mean proportions of sequence reads assigned to prokaryotic genera (or higher taxa if identification on the genus level was not possible) involved in S, Fe and As biogeochemical transformations in the Wood-Cadillac biofilter. (continued)

Genus	Mean relative abundance (%)
3. Fe(II) oxidizers:	0.430 (sum)
<i>Sideroxydans</i>	0.384
<i>Leptothrix</i>	0.029
<i>Ferrovibrio</i>	0.011
<i>Gallionella</i>	0.00056
<i>Ferriphaseelus</i>	0.00023
4. Fe(III) reducers:	0.024 (sum)
<i>Pseudomonas</i>	0.008
<i>Ferrimicrobium</i>	0.007
<i>Thiohalocapsa</i>	0.005
<i>Ferribacterium</i>	0.005
5. As metabolizers:	1.191 (sum)
<i>Geobacter</i>	0.469
<i>Desulfosporosinus</i>	0.219
<i>Bacillus</i>	0.177
<i>Rhodobacter</i>	0.131
<i>Acidovorax</i>	0.113
<i>Leptothrix</i>	0.029
<i>Desulfitobacterium</i>	0.011
<i>Pseudomonas</i>	0.009
<i>Rhizobium</i>	0.008
<i>Hydrogenophaga</i>	0.007
<i>Azospira</i>	0.005
<i>Acinetobacter</i>	0.004
<i>Limnobacter</i>	0.003
<i>Burkholderia</i>	0.003
<i>Polaromonas</i>	0.002
<i>Dechloromonas</i>	0.001
<i>Herminiimonas</i>	0.001

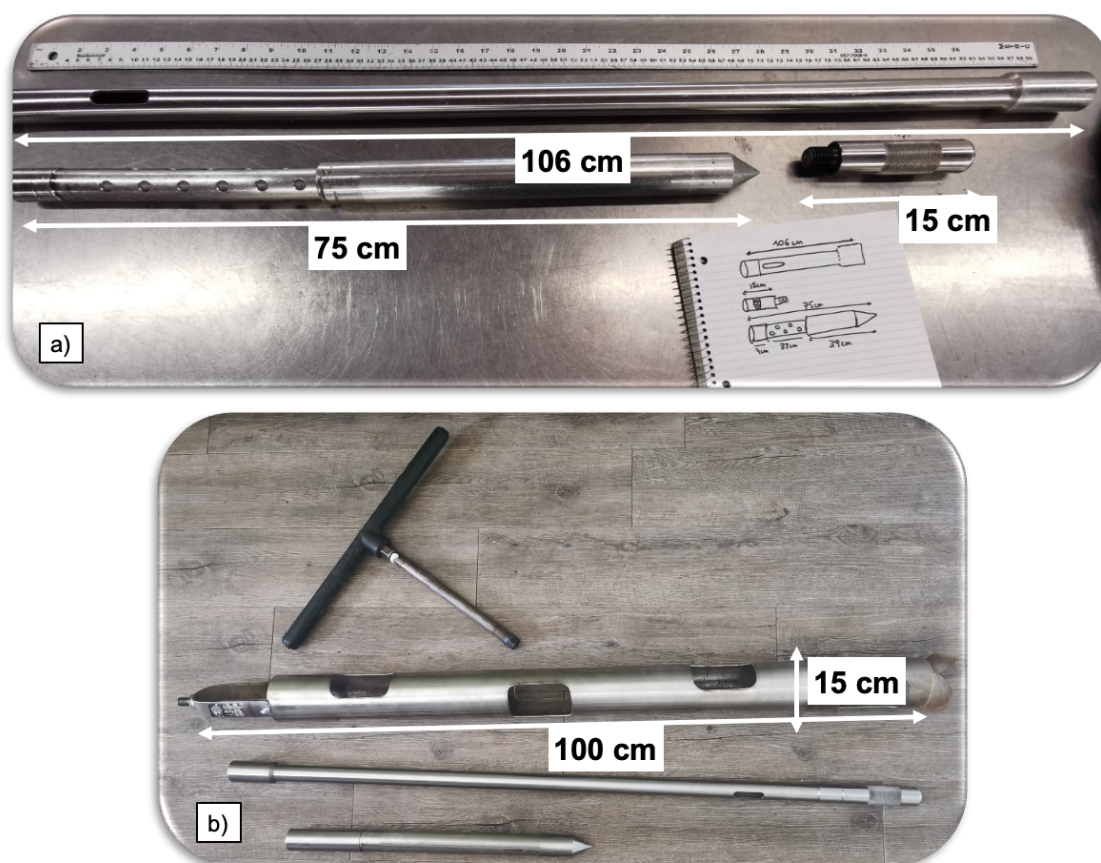


Figure C1

Photos of (a) piezometer (designed to hold the screen), and (b) custom-designed manual core drill, both used for sampling the Wood-Cadillac biofilter.

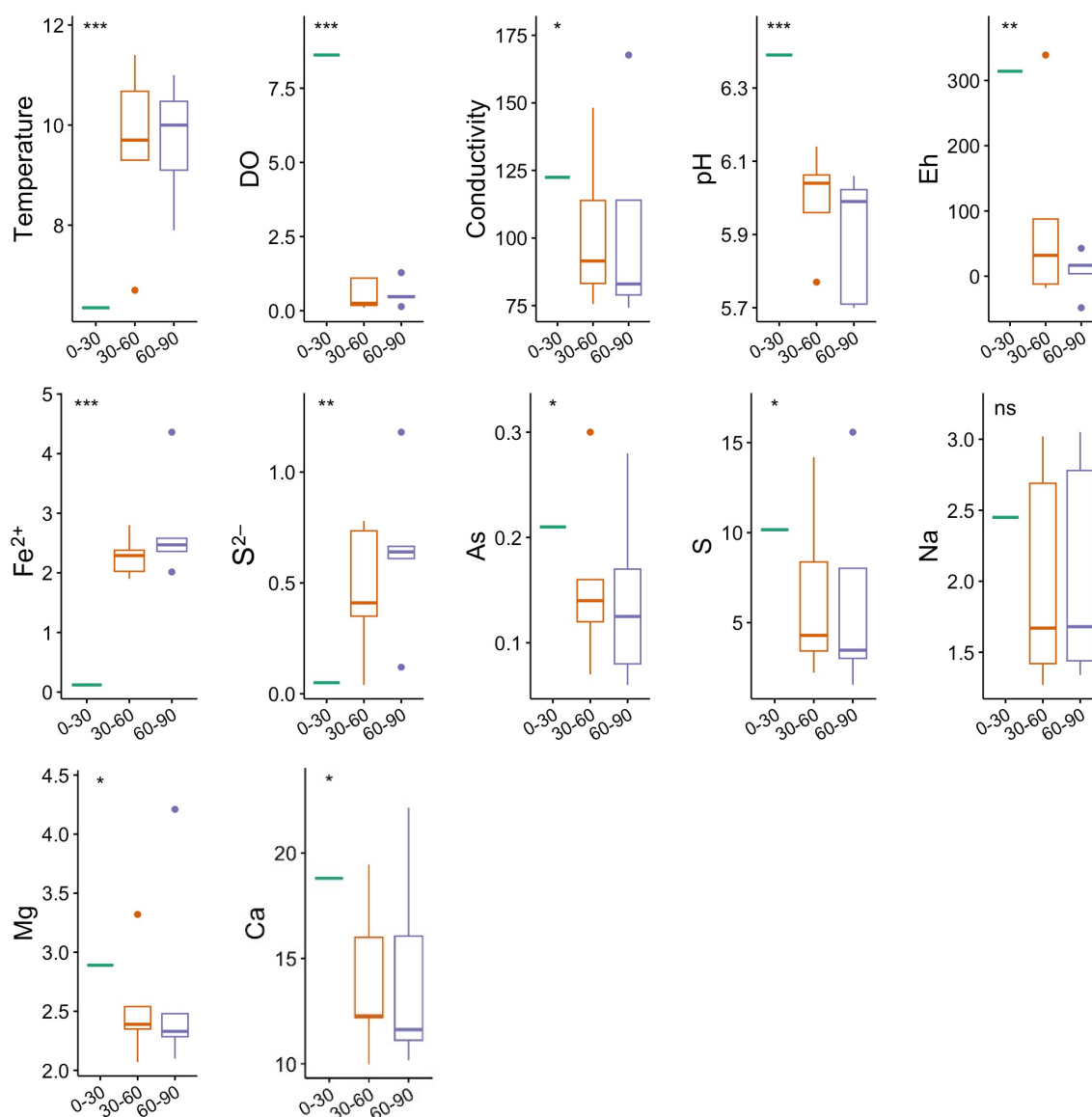


Figure C2

Comparison of physicochemical parameters in samples collected from different depths (0–30, 30–60, and 60–90 cm) of the field-scale biofilter, with statistical comparisons using Kruskal-Wallis test and post hoc Dunn's test (* p-value < 0.05, ** p-value < 0.01, *** p-value < 0.001).

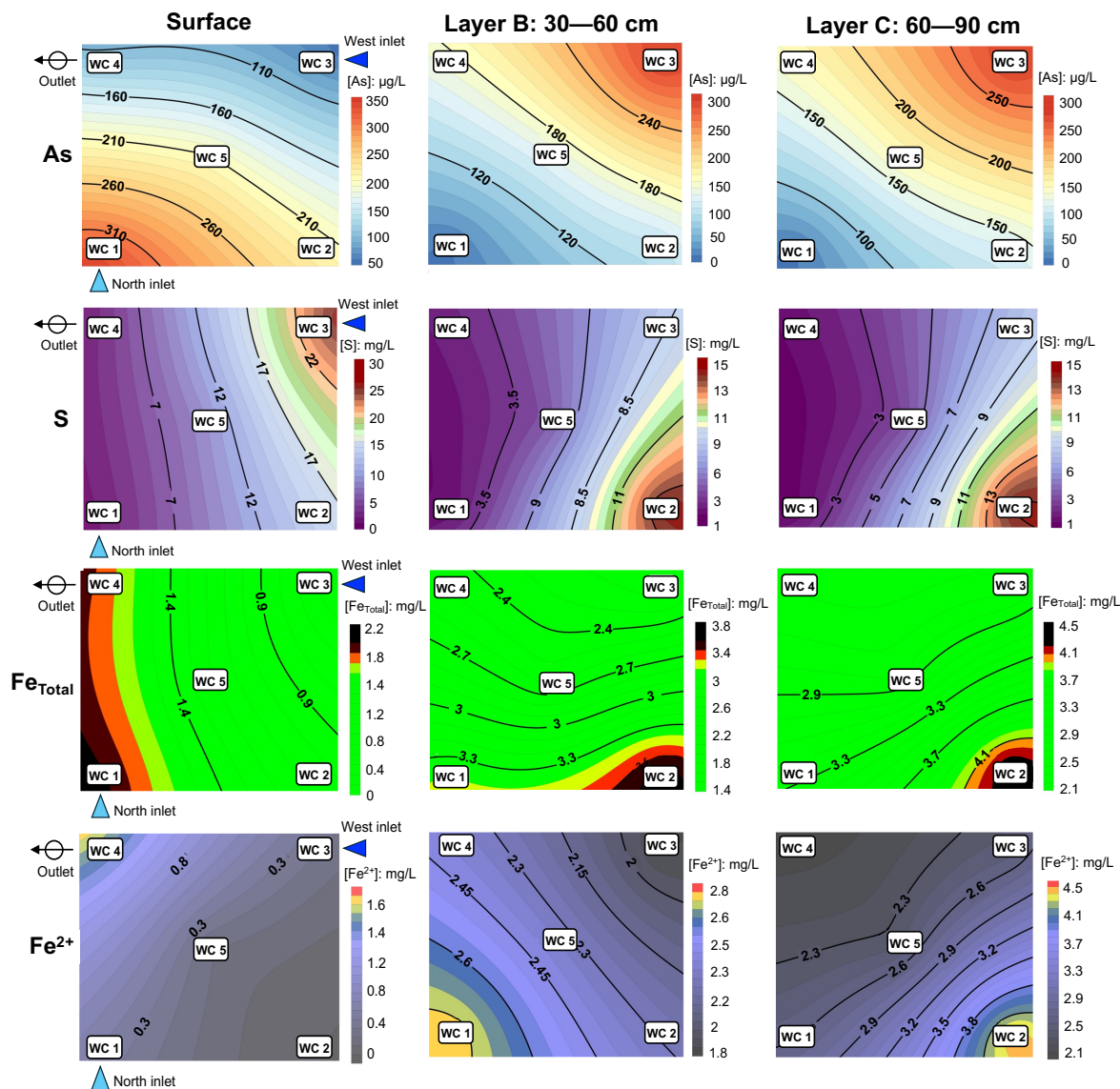


Figure C3

Spatial distribution of As, S, Fe_{total}, and Fe²⁺ in pore water samples collected at different depths (surface, B: 30–60 cm, C: 60–90 cm) of the vertical profile of the field-scale biofilter, generated using Surfer 11.

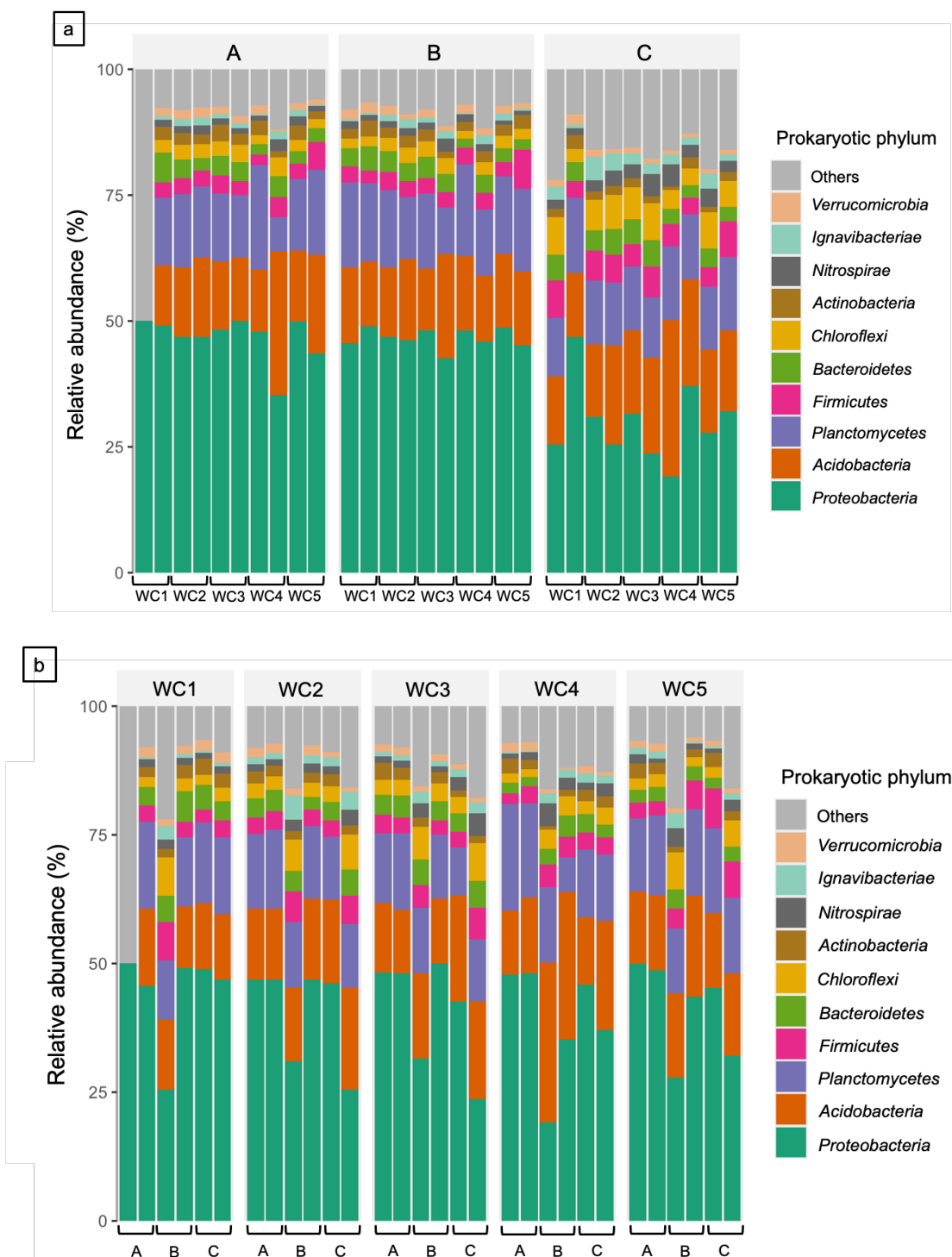


Figure C4

The relative proportions of the 10 most abundant prokaryotic phyla in the field-scale biofilter, compared among: (a) 3 depths (A: 0–30 cm, B: 30–60 cm, and C: 60–90 cm), (b) 5 sampling locations (WC1–WC5).

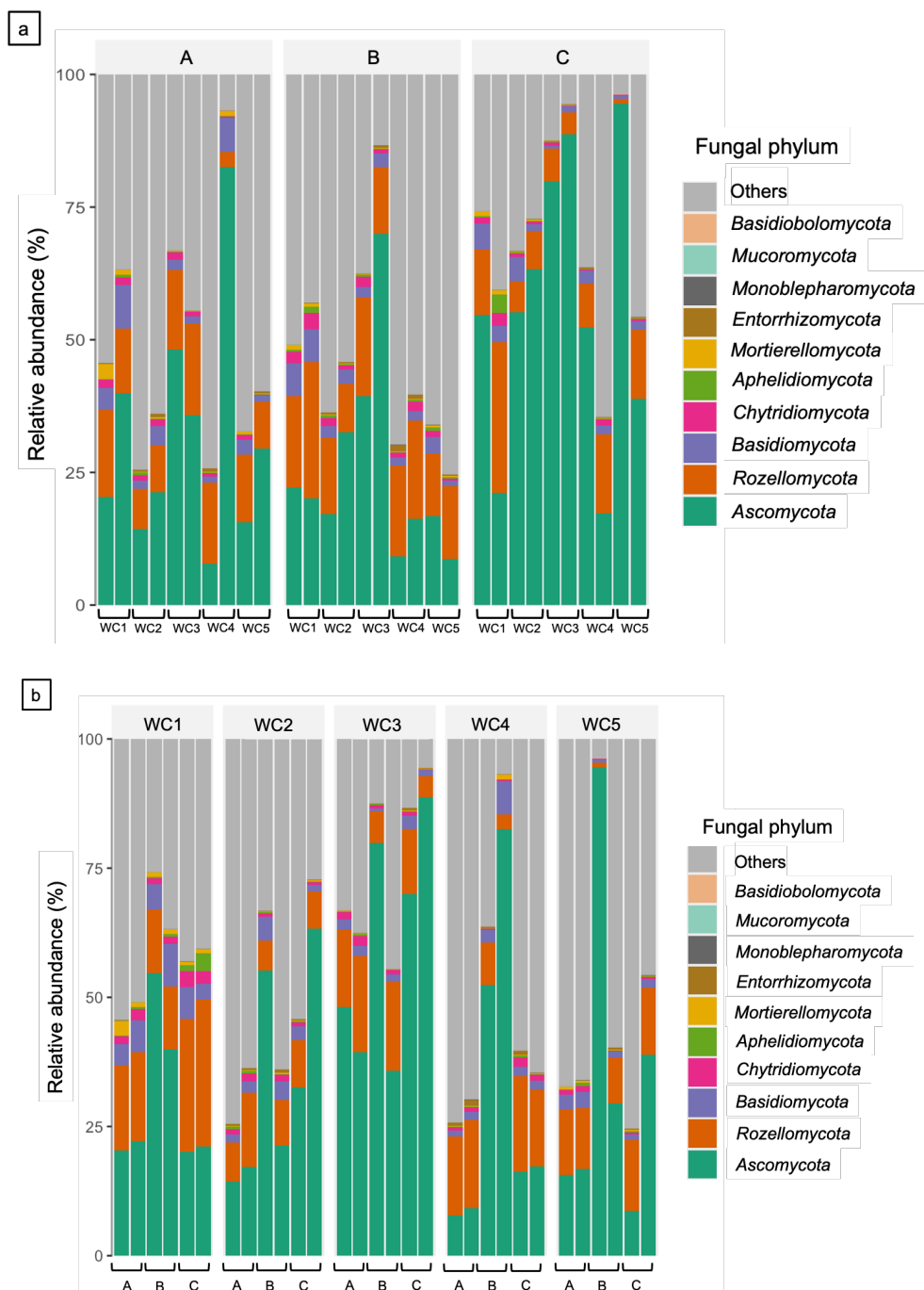


Figure C5
The relative proportions of the 10 most abundant fungal phyla in the field-scale biofilter, compared among: (a) 3 depths (A: 0–30, B: 30–60, and C: 60–90 cm), and (b) 5 sampling locations (WC1–WC5).

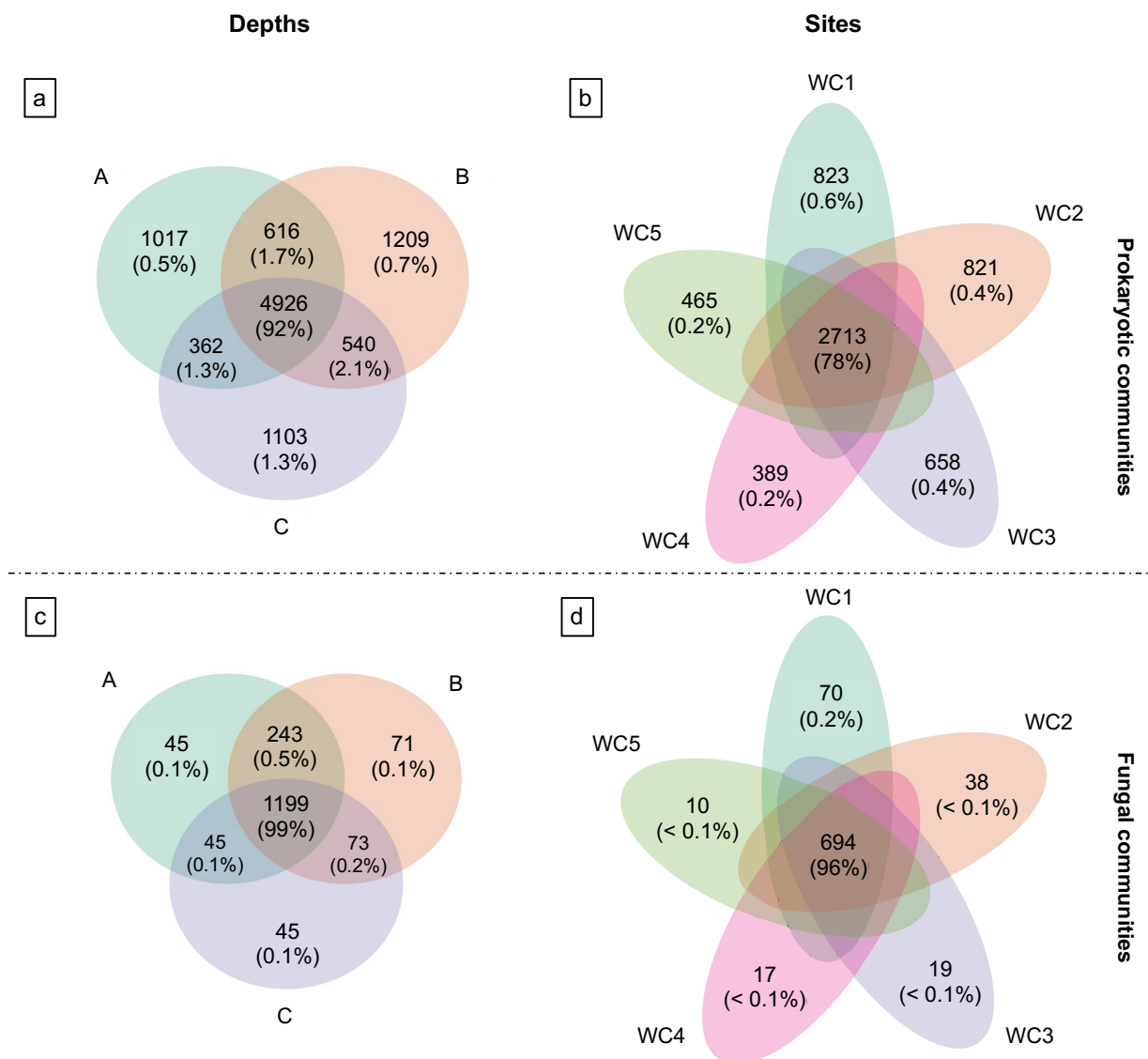


Figure C6

Venn diagrams representing co-occurrence of prokaryotic and fungal ASVs in the field-scale biofilter samples collected from different depths (A: 0–30, B: 30–60, and C: 60–90 cm) and sites (WC1–WC5). The values represent the numbers of shared ASVs, while the numbers in brackets indicate the proportions of numbers of reads.

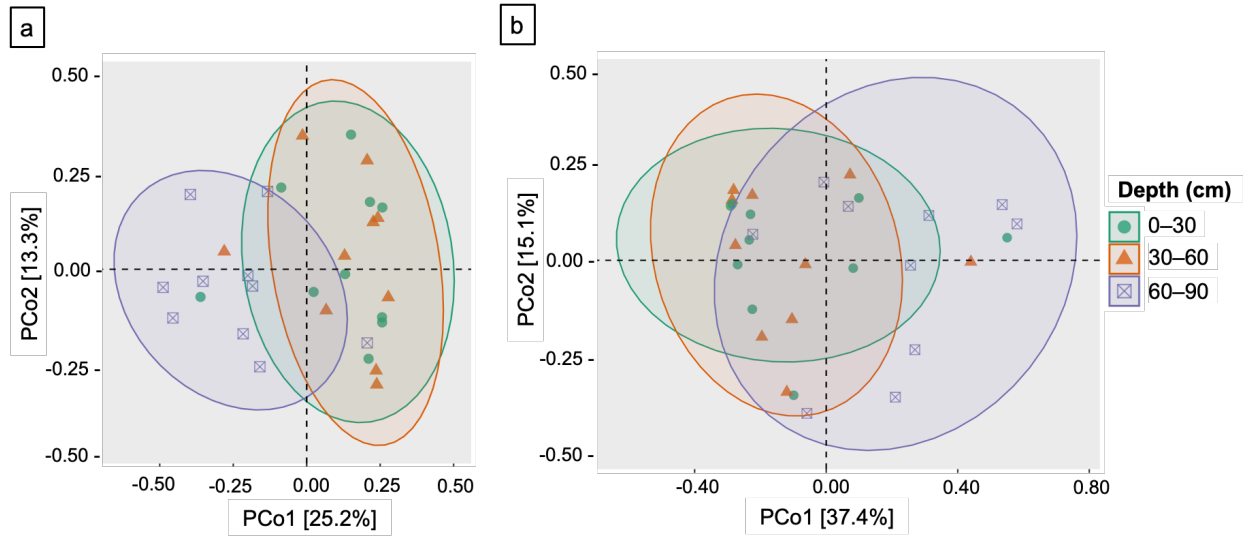


Figure C7

Principal coordinates analysis (PCoA) based on Bray–Curtis distances, illustrating depth-related variation in (a) prokaryotic and (b) fungal β -diversity within the field-scale biofilter. Partial clustering by depth reflects compositional turnover along the vertical profile. The shaded ellipses represent 95% confidence intervals.

ANNEXE D – ARTICLE 4**PASSIVE TREATMENT OF AS-RICH
NEUTRAL MINE DRAINAGE USING NATURAL ORGANIC
AND RESIDUAL INORGANIC MATERIALS IN COLD CLIMATE**

Xavier Marc Thevenot¹, Carmen Mihaela Neculita^{1*}, Lucie Coudert¹, and Eric Rosa^{1,2}

¹Research Institute on Mines and the Environment (RIME), University of Québec in
Abitibi-Témiscamingue (UQAT), Rouyn-Noranda, QC, Canada, J9X 5E4

²Groundwater Research Group, UQAT, Amos, QC, Canada, J9T 2L8

*Corresponding author email: Carmen Mihaela Neculita

Cet article a été publié le 16 septembre 2024
dans les comptes-rendus de la conférence *ICARD 2024*.

¹Thevenot, X.M., Neculita, C.M., Coudert, L., Rosa, E., 2025. Passive treatment of As-rich neutral mine drainage using natural organic and residual inorganic materials in cold climate. In: Proc. of the *13th International Conference on Acid Rock Drainage - ICARD*, Halifax, Nova Scotia, Canada, Sept. 16–20.

D.1 Abstract

Passive treatment of As-rich neutral drainage is less documented relative to acid mine drainage (AMD). In passive biofilters, sorption is the main mechanism of contaminant removal for neutral mine drainage (NMD), whereas precipitation is dominant for AMD. Regardless of the type of mine drainage to be treated, passive treatment systems show a deterioration in efficiency in cold climates and non-iced waters. The objective of the study is to evaluate the mechanisms of As removal from NMD-As and to propose design criteria using underutilized organic (peat) and Fe-rich inorganic materials (AMD active treatment sludge) for a full-scale passive biofilter. The efficiency of peat and AMD treatment sludge, alone or in mixtures, was evaluated in batch (150 cm^3) and in a laboratory-scale pilot biofilter (80 dm^3), under continuous flow. Based on historical monitoring data, batch tests were conducted at 22°C vs 5°C , using synthetic NMD-As (2 mg/L As , $\text{pH } 7$) to determine the maximum sorption capacity of solids. A preliminary laboratory-scale pilot experiment was further set-up and operated for 1 month at 22°C to optimize the hydraulic retention time (HRT) as a critical design parameter. Batch test results showed that As removal efficiency was higher than 83%, while As leaching was better at 22°C , at the onset of the tests. Laboratory-scale pilot results also revealed that final As and Fe concentrations of $\sim 1.67\text{ mg/L}$ and $\sim 4.40\text{ mg/L}$, respectively, can be reached at 1-day of HRT. The findings could improve the knowledge of underutilized materials in NMD-As treatment in passive biofilters. This study is also expected to provide additional information on design criteria for the long-term efficiency of passive biofilters for NMD-As treatment in cold climates and unfrozen waters.

Key Words: NMD-As, passive biofilter, cold climate, peat, AMD treatment sludge

D.2 Introduction

Arsenic (As) is the topic of extensive research due to its widespread occurrence and related health and environment risks. Although As can occur naturally in water, the highest concentrations are often caused by human activities, such as historical and modern gold mining (Ganie et al. 2024). As an example, over 100 closed/abandoned metal mines are inventoried in Quebec's Province of Canada (QMNRF, 2023; 2024). Most of these sites require appropriate intervention to prevent the generation or to treat As-rich neutral mine drainage (NMD-As). The NMD-As is characterized by neutral pH (6–9) and As concentrations exceeding criteria of Canadian Federal regulation (0.3 mg/L, MDMER) (Minister of Justice, 2023). To be noted, at neutral pH, As is mostly present in its anionic states (H_3AsO_3^0 , H_2AsO_4^- , and HAsO_4^{2-}).

Passive treatment systems are among the most adapted options for mine drainage polishing in closed and abandoned mine sites (Neculita et al. 2021). Considerable effort has been invested in improving passive treatment systems for AMD over the past 35 years (Skousen et al. 2017). Knowledge on the passive treatment of NMD, such as NMD-As is, however, less documented and cannot be extrapolated from AMD treatment. This is because As removal mechanisms at low concentrations and neutral pH differ (sorption for NMD vs (co-)precipitation for AMD). Passive biofilters showed satisfactory efficiency in NMD treatment at laboratory-scale pilot (Aguilar-Garrido et al. 2022), pilot-scale (Heiderscheidt et al. 2022), and full-scale field systems (Jacob et al. 2022). The sorption onto the surface of the reactive materials was proposed as the main removal mechanism of contaminants (Hu et al. 2015).

The sorption of As in As-rich mine effluents is a complex process regulated by solid surface characteristics, temperature, pH, As concentrations and speciation, and the presence of competing ions (Coudert et al. 2020). In a sub-Arctic lakes with organic sediments influenced by mining operations, As(III) and As(V) in the near-surface sediment were found to show similar affinities towards Fe-oxyhydroxides, suggesting As association through sorption mechanisms (Miller et al. 2022). Under such circumstances, Fe-rich materials could represent a valuable option for mitigating the impacts of As-contaminated waters (Kawazoe et al. 2023). However, the use of modified materials, such as Fe-rich biochar, can contribute up to 92-95% of treatment costs (Calugaru, 2019). As a result, the use of Fe-rich, underutilized inorganic materials (AMD activated sludge from geotube dewatered mines) is emerging as an

economically viable option. Peat moss, an organic material often available in Quebec, has a binding affinity for As and humic compounds in near-neutral conditions, leading to a high potential for metal(loid) removal via surface complexation ([Heiderscheidt et al. 2022](#)). The use of organic materials can also contribute to the biotransformation of metallic elements into less harmful organometallic compounds ([Palmer et al. 2015](#)). The use of a reactive mixture of peat combined with AMD active treatment sludge (AMD-S) thus emerges as a low-cost approach to address environmental issues while integrating circular economy strategies ([Rakotonimaro et al. 2019](#)). Using AMD-S also reduces geotechnical risks and the frequency of tailings dam failures by reducing the volume of tailings storage facilities ([Garcia et al. 2024](#)). Nevertheless, the effectiveness of passive treatment can be negatively impacted by low temperatures, posing challenges for mine drainage treatment in cold climates and non-iced waters. During the winter months, boreal peatlands are threatened by climate change. Although temperatures can drop below 0°C, the water in deep peatlands may not be completely frozen ([Smerdon and Mendoza, 2010](#); [Heiderscheidt et al. 2020](#)). Additionally, at high latitudes, the cold environment hinders the bioretention system design and requires treatment adaptation strategies due to slower kinetics of geochemical processes ([Ben Ali et al. 2020](#)). In addition, in northern regions, it is necessary to adapt the biofilter design to cold environmental conditions. Surface soil freezing may have a significant impact on the ability of biofilters to retain metals and As ([Heiderscheidt et al. 2022](#)) and can drastically alter flow paths and reduce hydraulic retention time.

Within the context of integrated restoration, the objective of the present study is to design an effective biofilter made from underused materials for the treatment of NMD-As at an operating gold mine in northern Québec, Canada. To do so, the development of a passive treatment system based on locally available, small footprint and low-cost materials for the treatment of NMD-As was considered. An innovative aspect of the present work is the special emphasis given to the design of the system (small to medium size) and the use of underutilized materials as well as peat and AMD-S to develop the most efficient mixture for the treatment of NMD-As in cold climates and non-iced waters. By integrating these elements, the study aims not only to improve the efficiency of As treatment in cold environments but also to propose a solution that minimizes environmental impact and can be easily adopted by mining companies operating in northern regions.

D.3 Materials and methods

D.3.1 Materials sampling and conservation

Peat and residual AMD active treatment sludge (AMD-S) were manually collected in September 2022 from the Newmont Eleonore Mine in Quebec, Canada. Samples of peat were obtained from the peat pile (composite sample of catotelm and acrotelm) excavated from the expansion of the tailing's storage facility, whereas AMD-S was collected from a recently opened geotube. Prior to analysis, all residues were packed in sealed containers and kept at 4°C in the dark.

D.3.2 Physiochemical characterization of the solid

The physicochemical characteristics of peat and AMD-S are presented in **Table D.1**. Peat and AMD-S were initially individually homogenized. The paste pH of the solids was determined in triplicate using a solid/liquid ratio of 1:10 and measuring the pH of the pulp with a double junction Orion GD9156BNWP electrode paired with a VWR SympHony SB90M5 multimeter (relative accuracy ± 0.01 pH unit) ([ASTM International, 1995](#)). The point of zero charge (pH_{PZC}) was performed in duplicate and determined from the pH difference plot ([Bakatula et al. 2018](#)).

Water content was determined in triplicate by oven-drying fresh samples at 60°C ([ASTM International, 2010](#)). Before chemical characterization, samples were oven-dried (60°C) and pulverized (150 μm). The cation exchange capacity was determined using the sodium acetate method. The specific surface area (m^2/g) was measured in triplicate on dry samples using a Micromeritics Gemini III 2375 surface analyzer. Total metal(loid) concentrations were analyzed in duplicate using an ICP-AES after a microwave acid assisted digestion ([USEPA, 2007](#)). The contents (%) of total organic carbon (TOC), total carbon (TC), total nitrogen (TN) and total sulfur (TS) were determined in duplicate using an Elementar Vario El Cube Analyzer.

D.3.3 As(V) sorption experiments (batch tests – 150 cm^3)

Two series of sorption tests were conducted to evaluate the sorption capacity of As(V) (removal - %) onto peat and AMD-S (**Figure D.1**). Based on historical monitoring data, the first series was conducted at room temperature (22°C) to identify the most efficient material or mixture (peat alone, AMD-S alone, peat and AMD-S combined in different proportions), while

the second batch was tested at 22°C vs 5°C with the previously selected mixture to evaluate the temperature effect. With low flow during the winter months (December to February 2021), the average temperature value of the cold water flowing from the tailings storage facilities was around 5°C (n = 13). To maintain a solid/liquid ratio of 1:10, 15 g (wet weight) of solid material/mixture were introduced in 250 mL Erlenmeyer flasks containing 150 mL of synthetic NMD-As at 250 rpm rotation. Synthetic NMD-As was prepared by mixing deionized water with disodium hydrogen arsenate heptahydrate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; Sigma-Aldrich) at 2 mg/L and pH 7.

Table D.1
Mean and standard deviation (sd) of initial physicochemical properties of peat and AMD-S.

Physicochemical properties	Peat	sd	AMD-S	sd
Paste pH	4.13	0.07	8.11	0.29
pH _{PZC}	3.50	0.01	7.13	0.18
Water content (%)	84.0	0.78	81.0	0.58
Cation exchange capacity (cmol(+)/kg)*	95.0		46.0	
Specific surface area (m ² /g)	1.71	0.16	65.1	2.51
Chemical composition (%)				
Al	0.1	0.00	1.5	0.01
As	0.0	0.00	1.1	0.02
Ca	0.2	0.00	3.1	0.02
Fe	0.2	0.00	17.3	0.03
P	0.0	0.00	0.8	0.00
S	0.1	0.00	0.9	0.02
TOC	43.7	0.43	4.2	0.04
TC	46.4	0.14	5.3	0.00
TS	0.2	0.09	0.9	0.01
TN	0.8	0.01	0.9	0.00

* Results from Rakotonimaro et al. (2019)

For each contact time (h) between synthetic NMD-As and materials/mixtures (0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48), leachates were collected, and the batch was sacrificed to ensure constant experimental conditions during tests. The residual As concentration (non-sorbed As) and metals in the leachate were determined by ICP-AES. The first series of As sorption experiments were conducted with different mixture compositions: peat (100%), AMD-S (100%) and mixtures of both components (0 to 100%), with various wet solid proportions. For example, a mixture

composed of equal proportions of peat and AMD-S is identified as follows: P50/AMD-S50 (**Figure D.1**). The materials had a similar water content and a high water-holding capacity (**Table D.1**). The second series of test were performed with the most effective mixture (as identified from previous tests) at 22 and 5°C. For experiments performed at 5°C, the sorbate and sorbent were previously incubated for one day to initiate acclimation.

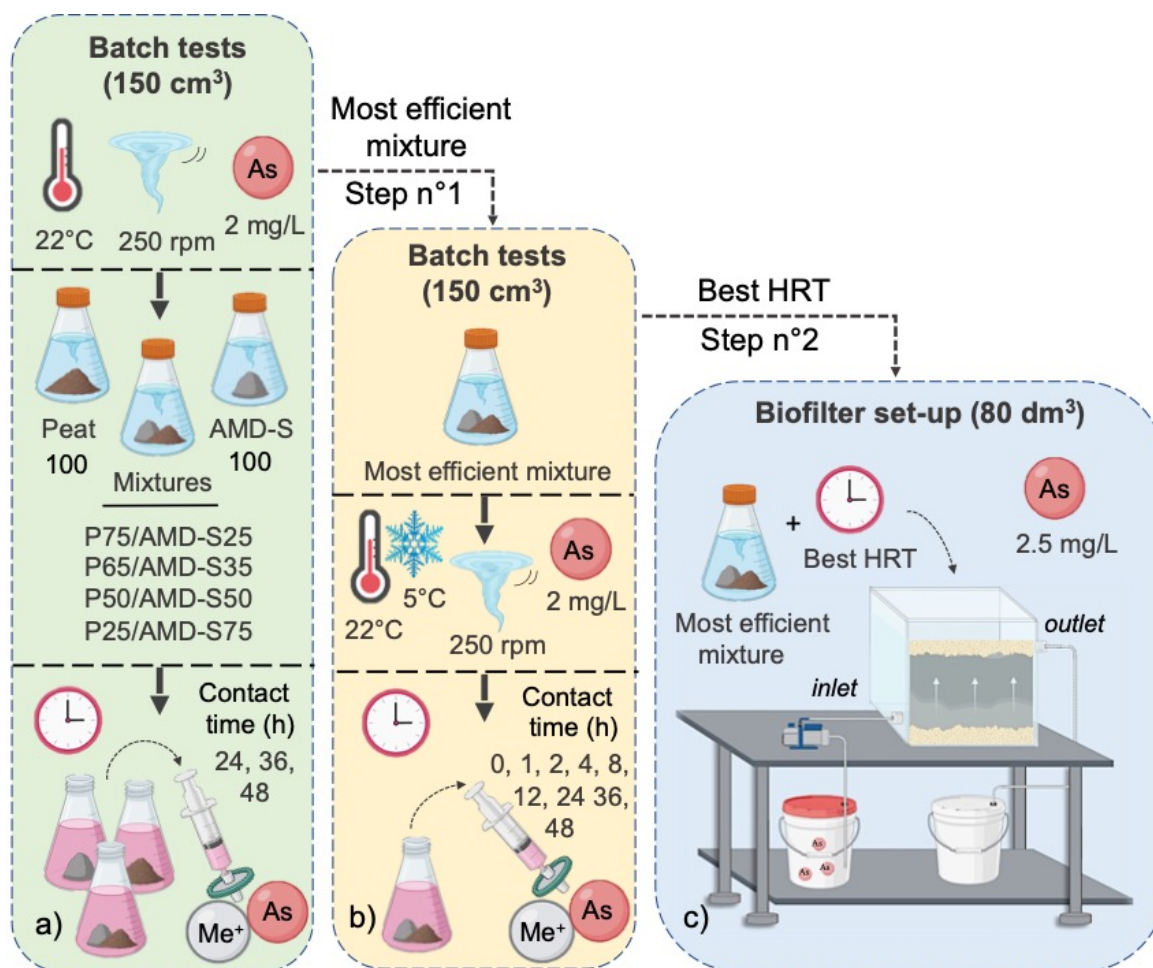


Figure D.1

Design approach used for developing a passive treatment system for NMD-As: a) first series of sorption tests at different P/AMD-S ratios and contact times at 22°C; b) second series of sorption tests with the most efficient mixture at two temperatures (22°C vs 5°C) and different contact times; and c) biofilter setup with the optimal parameters

The calculation of As removal (R, %) and As sorption capacity (mg/g) at equilibrium (q_e) and at any time t (q_t) is based on the difference in the As concentration before and after equilibrium using Equations (D.1) and (D.2), respectively:

$$R (\%) = [C_i - C_e] \times 100 / C_i \quad (D.1)$$

$$q_e \text{ (or } q_t) = [C_i - C_e \text{ (or } C_t)] \times V / m \quad (D.2)$$

where C_i , C_e , C_t , V , and m are the concentrations of metalloid in solution (mg/L) for the initial condition, the equilibrium condition, and at any time t . Total volume of solution (L), and the amount of dry material used for the testing (g).

D.4 Biofilter set-up and monitoring (laboratory-scale pilot – 80 dm³)

Based on the findings of the batch testing, a larger-scale experiment was designed to investigate the scaling effect using a HRT of one day at room temperature (**Equation D.3**). A 87 dm³ device made from high-density polyethylene (length 48 cm × width 41 cm × length 55 cm) was set up in the laboratory and alimented with NMD-As for one month with vertical flow (**Figure D.1**). The flow rate is calculated as:

$$Q = (V_t \times n_{eff}) / HRT \quad (D.3)$$

where V_t is the total volume of the biofilter mixture (dm³), n_{eff} is the effective porosity (interconnected voids), and Q is the effluent flow rate (dm³/j) (HRT, in j).

A pump delivered a synthetic NMD-As (2.5 mg/L) effluent to the system at a constant rate to reach the targeted 1-day HRT. The As concentration was chosen based on the highest concentration measured on the mine site (based on $n=16$ samplings performed between May 2021 and September 2023).

The biofilter was designed to operate with an upward flow to prevent the accumulation of fine particles at the base of the system. The most efficient mixture (with a volume of 35 dm³), as identified from previous experiments, was placed between two layers of silica sand (these layers had volumes of 15 dm³). The silica sand layers were used to promote uniform flow and help limiting suffusion. The effective porosity (n_{eff}) of the most efficient mixture was determined in triplicate by placing substrates in a 1 L beaker and measuring the water volume required to fill the pore space. Non-reactive river gravel (with a grain size of 1 cm) was added to the most

efficient mixture (50% v/v) to prevent clogging and increase the hydraulic conductivity (K_{sat}) of the media. The K_{sat} of the most efficient mixture with added gravel was more than order of magnitude greater than that of the media without gravel (1.24×10^{-4} vs 1.86×10^{-3}).

The biofilter included a bottom inlet and top outlet to allow for a uniform flow of the synthetic NMD-As. For safety, the biofilter outlet was placed few cm below the maximum height of the system. The outlet is fitted with a pipe that enables sampling for the characterization of the effluent. The discharged outlet effluent was released in the recovery barrel. A fine-mesh screen was placed at the outlet and inlet to prevent the loss of materials. Effluent samples were collected each week, and As and Fe concentrations were determined. Physicochemical parameters (pH, electrical conductivity (EC), oxidation reduction potential (ORP), temperature, dissolved oxygen (DO)) and dissolved/total organic carbon (DOC/TOC)) were measured 3 times a week.

D.5 Physicochemical analysis of leachates

Leachates from batch tests and laboratory-scale pilot experiments were collected for physicochemical analysis. Water pH was determined using a B30PCI electrode connected to a VWR Symphony benchtop meter. The ORP was determined with a Orbisint CPS12-OPA2GSA potentiometer coupled with an internal Pt/Ag/AgCl electrode (± 0.10 mV) and the Eh was calculated vs the standard hydrogen electrode potential (+204 mV). The EC was measured with a HACH Sension 1 electrode. Samples for TOC and DOC were acidified (with 0.1% v/v HCl) and analyzed at 680°C using an infrared TOC analyzer (SHIMAZU, Model TOCVcph) (CEAEQ, 2016). Total metal concentrations were determined using a PerkinElmer 3000 DV ICP-AES on filtered (0.45 μm) and acidified (with 2% v/v HNO_3) samples and Fe^{2+} concentrations were determined using a Hach DR900 portable spectrometer (Method 8146: 1,10-Phenanthroline). The As detection limit of the ICP-AES was 0.03 mg/L.

D.4 Results and discussion

D.4.1 First series of kinetic tests (batch tests – 150 cm^3)

As sorption experiments were performed at 24, 36 and 48 h in batch at 22°C with varying wet solid fractions (**Figure D.2**). These tests showed that As removal increased with contact time. Sorption efficiency revealed that the proportion of AMD-S in the mixture positively impacted

As removal from NMD-As. Lowering the P/AMD-S ratio led to increase As removal. Only the mixtures containing more than 50% of AMD-S (P50/AMD-S50, P25/AMD-S75 and AMD-S100) showed high As sorption capacities, reaching almost 10 times the initial NMD-As concentrations (2 mg/L), below to regulatory limit (0.3 mg/L). However, the sorption of As was inefficient in the P100 sample, a finding inconsistent with previous studies reporting high As removal for peat media (~60%) (Aguilar-Guarrido et al. 2022; Heiderscheidt et al. 2022). The abovementioned studies were conducted at low inlet As concentrations ($\mu\text{g/L}$) (Aguilar-Guarrido et al. 2022; Heiderscheidt et al. 2022), whereas in the present study high As concentrations (mg/L) were tested.

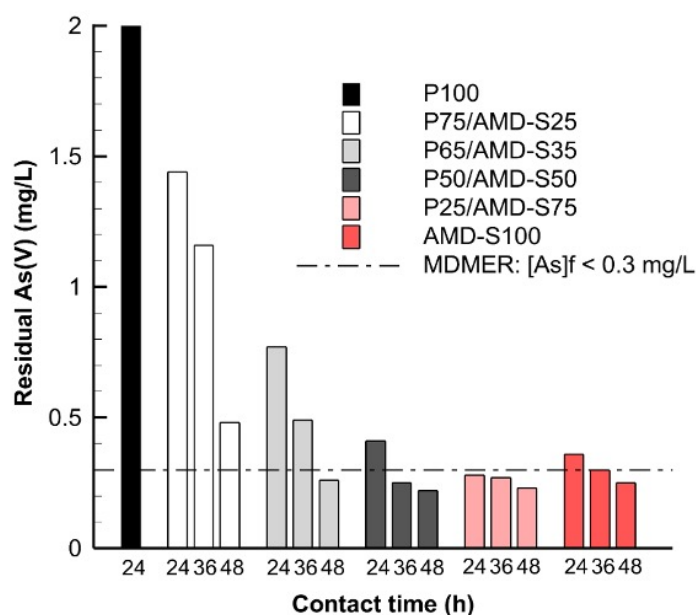


Figure D.2

Sorption tests at 24, 36, and 48 h, sole material or mixtures performed at 22°C with a solid/liquid ratio of 1/10. The initial As(V) concentration was 2 mg/L. Removal of the target contaminant ($[\text{As}]_f < 0.3 \text{ mg/L}$), MDMER: Metal and Diamond Mining Effluent regulations.

The limited capacity of P100 for As removal can be attributed to its low pH_{PZC} due to functional groups such as carboxyl, hydroxyl, and amino groups, which negatively charged limiting the As sorption on the peat surface (Bakatula et al. 2018). The results showed that the final pH leachates with the P100 sample were higher than the pH_{PZC} ($3.9 > 3.5$), suggesting that the sorbent surface

may be negatively charged, thus preventing oxyanions immobilization (including As oxyanions). The P75/AMD-S25 mixture was more efficient for As removal but contains too much peat to reach removal targets. The As sorption capacity tended to increase likely due to the higher concentrations of Fe (173 g/kg) and Al (15.3 g/kg) when decreasing the P/AMD-S ratio (**Figure D.2; Table D.1**). These results are consistent with a previous study where a mixture of peat and Fe-rich material created an efficient sorbent capable of simultaneously sorbing cationic contaminants (Al, Fe, and Zn) and anionic metalloids such as As ([Xiao et al. 2023](#)). The specific surface areas and cation exchange capacities for P100 and AMD-S100 were 1.70 m²/g, 95 cmol(+)/kg, and 65.1 m²/g, and 46 cmol(+)/kg, respectively (**Table D.1**).

The pH measured in leachates showed contrasting values depending on the mixture used. Leachates from mixtures and AMD-S remained stable and within the range defined by the Canadian Federal's discharge criteria ([Minister of Justice, 2023](#)) (pH 6.0-9.5) when the proportion of AMD-S was greater than 35%. In contrast, the leachate pH was 3.9 for P100 and 6.2 for P75/AMD-S25. The presence of residual neutralizing agents in AMD-S, such as lime and carbonate, could explain these findings ([Rakotonimaro et al. 2019](#)) (**Table D.1**). The P50/AMD-S50, P25/AMD-S75, and AMD-S-100 showed similar As removal efficiencies. The P50/AMD-S50 was selected as a low-cost material, while reducing the environmental risks associated with AMD-S composition such as As. The mixture will require characterization to assess its long-term stability and identify post-treatment management strategies ([Mehdaoui et al. 2023](#)).

D.4.2 Second series of tests with the most efficient mixture at 22°C vs 5°C (batch tests – 150 cm³)

Determining the equilibrium conditions is a fundamental aspect of sorption kinetic tests. Equilibrium stands as a critical factor in the design of an efficient sorption biofilter, directly impacting the costs related to its construction, operation, and maintenance ([Neculita et al. 2021](#)). The evolution of As(V) concentrations from synthetic NMD-As in batch studies at 22°C vs 5°C were similar (**Figure D.3, Table D.2**). At 5°C, the P50/AMD-S50 combination saturated 50% of its entire capacity in ~4 h, while at 22°C, it was reached in ~3 h. The As removal increased rapidly and then remained steady, ranging from 75.5% to 83.0% at 22°C and 5°C, respectively (**Figure D.3, Table D.2**).

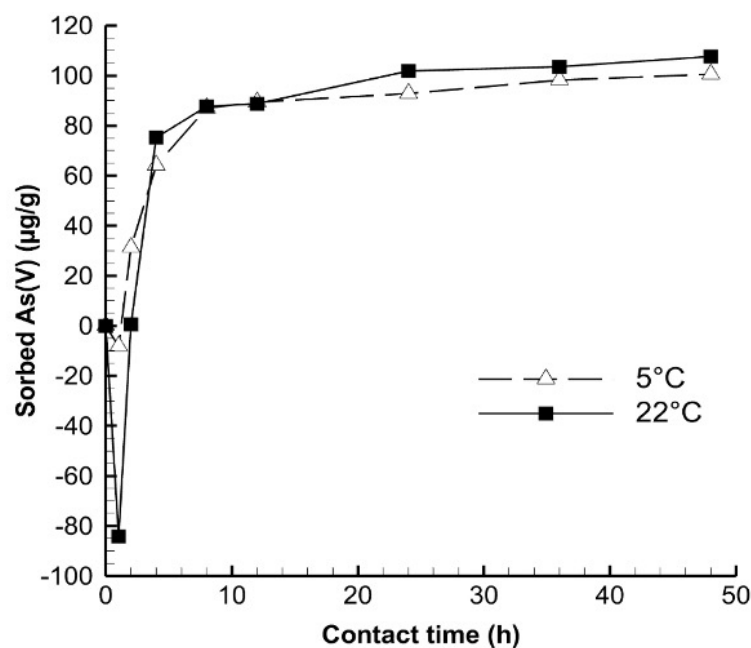


Figure D.3

As sorption experiments conducted with the most efficient mixture (P50/AMD-S50) at 22°C vs 5°C with a solid/liquid ratio of 1/10. The initial As(V) concentration was 2 mg/L and the contact times associated with measurements were 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, and 48 h.

At equilibrium (24 h) for both temperatures, the amount of As adsorbed per unit mass of P50/AMD-S50 was 110 µg/g (**Figure D.3**). The maximum As(V) sorption capacity of P50/AMD-S50 was similar to or greater than sorption capacities reported in previous studies focusing on Fe-rich materials ([Calugaru et al. 2019](#)). The Fe oxy-hydroxides, with or without organic matter, are efficient compounds for immobilizing As. The immobilization likely occurs due to sorption onto primary minerals or co-precipitation with secondary minerals ([Hu et al. 2015](#)). Iron hydroxide particles on the surface of biochar may also play an important role in As sorption, predominantly via chemisorption ([Hu et al. 2015](#)). However, negatively charged surfaces may cause electrostatic repulsions limiting the sorption of As. In addition, high-Ca materials were found to efficiently immobilize As(V) through the precipitation of minerals such as calcium arsenate ([Zhu et al. 2006](#)) and act as a buffering agent, raising the pH and reducing the solubility of As ([Aguilar-Guarrido et al. 2021](#)). Using Fe- and Ca-rich AMD sludge is a well-documented alternative amendment, especially when combined with peat ([Rakotonimaro et al. 2017](#)).

In kinetic tests, the initial sorption rate is generally high in the first few hours (reaching 50% of capacity), followed by slower sorption between 24 h and 48 h. In the present study, the second round of tests revealed As leaching during the first hours of treatment. At the onset of experiments (0-1 h), the measured As concentrations are greater than the initial NMD-As concentration (2 mg/L). This was more pronounced at 22°C (3.5 mg/L) than at 5°C (2.2 mg/L) (**Table D.2**). The excess of As in leachates is attributed to the As initially present in the AMD-S (10.7 g/kg) (**Table D.1**). The mobility of As is influenced by various factors including pH, Eh, metal concentrations and the presence of humic substances in the peat ([Rakotonimaro et al. 2019](#)). This effect is likely due to its negatively charged surface, resulting in electrostatic repulsion with As ([Rakotonimaro et al. 2019](#)). Furthermore, the high phosphorus (8.0 g/kg) and TC (46.4%) concentrations in AMD-S and peat may have an impact on the As removal efficiency (**Table D.1**).

Table D.2

Comparative performance of most efficient mixture (P50/AMD-S50) in leachates (Ct, mg/L) at 22°C vs 5°C with synthetic NMD-As (2 mg/L).

Most efficient mixture	Time (h)	As removal (%) (Ct, mg/L)	
		22°C	5°C
P50/AMD-S50	0	-62.0 (3.24)	29.0 (1.42)
	1	-75.0 (3.50)	-10.5 (2.21)
	2	-3.0 (2.06)	23.0 (1.54)
	4	60.5 (0.79)	51.0 (0.98)
	8	71.0 (0.58)	70.5 (0.59)
	12	72.0 (0.56)	72.5 (0.55)
	24	83.0 (0.34)	75.5 (0.49)
	36	84.5 (0.31)	80.0 (0.40)
	48	88.0 (0.24)	82.0 (0.36)

The mobilization of DOC does not appear to be the cause of As leaching within the first two hours. Both tests showed similar rises in carbon concentrations, starting at ~13 mg/L (0 h) and reaching ~26 mg/L (48 h). The average Eh values increased from 252 mV (0 h) to 474 mV (48 h), whereas ferrous iron concentrations in the leachate (~2.5 mg/L) decrease after 3 h (~0.6 mg/L). Fe-oxy-hydroxides could control As removal, and the changes of Fe species from ferrous (Fe^{2+}) to ferric (Fe^{3+}) may have entailed in the desorption of As by altering the binding sites and the Fe speciation.

D.4.3 Preliminary biofilter results (80 dm³ laboratory-scale pilot)

A continuous sorption experiment was carried out to assess NMD-As removal at room temperature. The most effective mixture (P50/AMD-S50) was selected, and the flow rate was adjusted to 10 L/day, leading to a 24 h HRT. Although, maintenance is strongly advised to maintain flow rates and treatment performance (Skousen et al. 2017), no daily maintenance schedule was required during the first month of operation. The pH of leachates collected from the biofilter remained neutral and within the range defined by the Canadian Federal's discharge criteria (6.0-9.5) ([Minister of Justice, 2023](#)), while lower than the pH_{PZC} for AMD-S.

During the initial phase of the experiment (first flush), significant As removal (97%) was and allowed for reaching a concentration of 0.06 mg/L, with low iron concentrations (0.18 mg/L). After one month, As removal decreased from 67% (0.81 mg/L) to 34% (1.67 mg/L), whereas Fe concentration in the leachate increased to 4.40 mg/L. The DOC and TOC remained unchanged, with average concentrations of 15.2 mg/L and 16.9 mg/L, respectively, suggesting an efficient design to limit the migration of peat and AMD-S particles out of the system. These results suggest that effective As removal may be associated with the formation of stable tridentate As-Fe-organic matter ternary complexes ([Xiao et al. 2023](#)). Despite a decline in performance over time, the biofilter showed As removal efficiencies greater than other passive treatment systems. For instance, a pilot-scale treatment with a cost-effective Fe-based sorbent achieved successful removal of up to 84% for As, decreasing concentrations from 175 to 24 µg/L ([Sekula et al. 2018](#)). However, further investigations are required to confirm the initial findings presented here. The long-term efficiency monitoring of the vertical flow biofilter will help evaluating and optimizing the efficiency of this promising design for reducing NMD-As contamination in passive biofilters.

D.5 Conclusion

This study aimed to develop the most efficient mixture for As removal from NMD-As and to propose new design criteria for a pilot scale passive biofilter, using underused organic (peat) and Fe-rich inorganic materials (AMD-S). The removal efficiency of As was mainly influenced by reactive mixture composition (peat, AMD-S, and mixtures) and kinetic test duration (0 to 48 h). The key factors were sorption efficiency, as well as the environmental risks

associated with excess of sludge that initially contained As. The most effective mixture, consisting of 50% peat and 50% AMD-S, was used for removal efficiencies at 22°C vs 5°C. The batch test findings revealed an As removal efficiency > 83%, with As leaching being higher at 22°C after 2 h of testing. After 24 h, little to no differences in maximum removal efficiencies were observed. Batch tests with real NMD-As are recommended. In addition, the duration before reaching sorption equilibrium did not vary with temperature (22°C vs 5°C), suggesting that 1-day of HRT would be enough for the laboratory-scale pilot biofilter. Furthermore, an HRT shorter than (2 to 3 h) would negatively impact the lab-scale biofilter efficiency and result in higher As and Fe concentrations at the system outlet. Biofilter sizing must consider seasonal flow variations, such as snowmelt, so that a minimum HRT of 1-day should be maintained to prevent the release of more contaminants into the environment when the flowrate of contaminated mine water increased. The study provides new knowledge on the processes involved in NMD-As passive treatment. The results provide further insights to support the design of biofilters in cold climates and non-iced waters, with a focus on reducing treatment costs and environmental impacts.

Acknowledgements: This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), Canada Research Chairs Program, Mitacs and RIME UQAT-Polytechnique industrial partners, including Agnico Eagle, Canadian Malartic Mine, Iamgold, Raglan Mine–Glencore, and Rio Tinto. The authors would like to thank Newmont and the Newmont staff for their support. We would also like to thank the URSTM team, in particular Dr. E. Belanger, for his expertise and advice.

LISTE DE RÉFÉRENCES

- Agrafioti, E., Kalderis, D., Diamadopoulos, E., 2014. Arsenic and chromium removal from water using biochars derived from rice husk, organic solid wastes and sewage sludge. *J. Environ. Manag.* 133, 309–314. [10.1016/j.jenvman.2013.12.007](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.12.007).
- Aguilar-Garrido, A., García-Carmona, M., Sierra-Aragón, M., Martín-Peinado, F.J., Martínez Garzón, F.J., 2022. Carbonated waste valorisation from a peat bog exploitation in the treatment of arsenic-polluted waters. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 19(5), 3457–3468. [10.1007/s13762-021-03445-5](https://doi.org/10.1007/s13762-021-03445-5).
- Aoyagi, T., Hamai, T., Hori, T., Sato, Y., Kobayashi, M., Sato, Y., Inaba, T., Ogata, A., Habe, H., Sakata, T., 2017. Hydraulic retention time and pH affect the performance and microbial communities of passive bioreactors for treatment of acid mine drainage. *AMB Express* 7(1), 142. [10.1186/s13568-017-0440-z](https://doi.org/10.1186/s13568-017-0440-z).
- APHA, 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, 22nd edition, Washington, DC, USA, 40 p.
- APHA., 2012. Alkalinity titration. Standard methods for the examination of water and wastewater, twenty-second ed. APHA, Washington, DC, 6p.
- Aryal, M., Ziajova, M., Liakopoulou-Kyriakides, M., 2010. Study on arsenic biosorption using Fe(III)-treated biomass of *Staphylococcus xylosus*. *Chem. Eng. J.* 162(1), 178–185. [10.1016/j.cej.2010.05.026](https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.05.026).
- Asta, M. P., Nordstrom, D.K., McCleskey, B., 2012. Simultaneous oxidation of arsenic and antimony at low and circumneutral pH, with and without microbial catalysis. *Appl. Geochem.* 27, 281–291. [10.1016/j.apgeochem.2011.09.002](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2011.09.002).
- ASTM International, 2008. UOP851-84: Density of powders and solids by helium displacement. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA, USA, 4 p.
- ASTM International, 2014. D2974-13: Standard test methods for moisture, ash, and organic matter of peat and other organic soils. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA, USA, 4 p.

- ASTM International, 2018. D7263-09: Standard test methods for laboratory determination of density (unit weight) of soil. West Conshohocken, PA, USA, 7 p.
- ASTM International, 2019. D4972-19: Standard test method for pH of soils. West Conshohocken, PA, USA, 6 p.
- ASTM International, 2024. D5856-15: Standard test method for measurement of hydraulic conductivity of porous material using a rigid-wall, compaction-mold permeameter. West Conshohocken, PA USA, 9 p.
- ASTM International., 1995. D4972-95a: Standard test method for pH of soils. West Conshohocken, PA.
- ASTM International., 2010. D2216-19: Standard test methods for laboratory determination of water (moisture) content of soil and rock by mass. West Conshohocken, PA.
- Bahram, M., Hildebrand, F., Forslund, S.K., et al. 2018. Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature* 560, 233–237. [10.1038/s41586-018-0386-6](https://doi.org/10.1038/s41586-018-0386-6).
- Bakatula, E.N., Richard, D., Neculita, C.M., Zagury, G.J., 2018. Determination of point of zero charge of natural organic materials. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25(8), 7823–7833. [10.1007/s11356-017-1115-7](https://doi.org/10.1007/s11356-017-1115-7).
- Barago, N., Pavoni, E., Floreani, F., Crosera, M., Adami, G., Lenaz, D., Covelli, S., 2023. Hydrogeochemistry of thallium and other potentially toxic elements in neutral mine drainage at the decommissioned Pb-Zn Raibl mine (Eastern Alps, Italy). *J. Geochem. Explor.* 245, 107129. [10.1016/j.gexplo.2022.107129](https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2022.107129).
- Battaglia-Brunet, F., Crouzet, C., Burnol, A., Coulon, S., Morin, D., Joulian, C., 2012. Precipitation of arsenic sulphide from acidic water in a fixed-film bioreactor. *Water Res.* 46(13), 3923–3933. [10.1016/j.watres.2012.04.031](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.031).
- Beattie, R.E., Henke, W., Campa, M.F., Hazen, T.C., McAliley, L.R., Campbell, J.H., 2018. Variation in microbial community structure correlates with heavy-metal contamination in soils decades after mining ceased. *Soil Biol. Biochem.* 126, 57–63. [10.1016/j.soilbio.2018.08.011](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.08.011).

- Beaudoin, A., Trudel, P., 1989. Gouvernement du Québec, MB 88–25. Géologie des mines New Alger, Wood Cadillac, Central Cadillac, Pandora, Lapa Cadillac et Mic Mac. IREM, MERI et École Polytechnique de Montréal, 201p.
- Beining, B.A., Otte, M.L., 1997. Retention of metals and longevity of a wetland receiving mine leachate. Proc. Natl. Meet. Am. Soc. Surf. Min. Reclam. (ASMR), Austin, Texas, May. 43–48. [10.21000/JASMR98010043](https://doi.org/10.21000/JASMR98010043).
- Ben Ali, H.E., Neculita, C.M., Molson, J.W., Maqsoud, A., Zagury, G.J., 2019. Efficiency of batch biochemical reactors for mine drainage treatment at low temperature and high salinity. Appl. Geochem. 103, 40–49. [10.1016/j.apgeochem.2019.01.014](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.01.014).
- Ben Ali, H.E., Neculita, C.M., Molson, J.W., Maqsoud, A., Zagury, G.J., 2020. Salinity and low temperature effects on the performance of column biochemical reactors for the treatment of acidic and neutral mine drainage. Chemosphere. 243, 125303. [10.1016/j.chemosphere.2019.125303](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125303).
- Besold, J., Biswas, A., Suess, E., Scheinost, A.C., Rossberg, A., Mikutta, C., Planer-Friedrich, B., 2018. Monothioarsenate transformation kinetics determining arsenic sequestration by sulfhydryl groups of peat. Environ. Sci. Technol. 52(13), 7317–7326. [10.1021/acs.est.8b01542](https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01542).
- Besold, J., Eberle, A., Noël, V., Kujala, K., Kumar, N., Scheinost, A.C., Pacheco, J.L., Fendorf, S., Planer-Friedrich, B., 2019. Antimonite binding to natural organic matter: Spectroscopic evidence from a mine water impacted peatland. Environ. Sci. Technol. (18), 10792–10802. [10.1021/acs.est.9b03924](https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03924).
- Bhatia, S.K., 2023. Cleaning water bodies using geotextile tubes: New challenges and opportunities. Indian Geotech. J. 54, 63–84. [10.1007/s40098-023-00759-8](https://doi.org/10.1007/s40098-023-00759-8).
- Blanchard, G., Maunaye, M., Martin, G., 1984. Removal of heavy metals from waters by means of natural zeolites. Water Res. 18(12), 1501–1507. [10.1016/0043-1354\(84\)90124-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(84)90124-6).
- Blodau, C., Mayer, B., Peiffer, S., Moore, T.R., 2007. Support for an anaerobic sulfur cycle in two Canadian peatland soils. J. Geophys. Res. Biogeosci. 112(G2). [10.1029/2006JG000364](https://doi.org/10.1029/2006JG000364).

- Boelter, D.H., 1969. Physical properties of peats as related to degree of decomposition. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 33(4), 606–609. [10.2136/sssaj1969.03615995003300040033x](https://doi.org/10.2136/sssaj1969.03615995003300040033x).
- Bondu, R., Casiot, C., Pistre, S., Batiot-Guilhe, C., 2023. Impact of past mining activities on water quality in a karst area in the Cévennes region, Southern France. *Sci. Total Environ.* 873, 162274. [10.1016/j.scitotenv.2023.162274](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162274).
- Bondu, R., Cloutier, V., Benzaazoua, M., Rosa, E., Bouzahzah, H., 2017. The role of sulfide minerals in the genesis of groundwater with elevated geogenic arsenic in bedrock aquifers from western Quebec, Canada. *Chem. Geol.* 474, 33–44. [10.1016/j.chemgeo.2017.10.021](https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2017.10.021).
- Bondu, R., Cloutier, V., Rosa, E., Roy, M., 2020. An exploratory data analysis approach for assessing the sources and distribution of naturally occurring contaminants (F, Ba, Mn, As) in groundwater from southern Quebec (Canada). *Appl. Geochem.* 114, 104500. [10.1016/j.apgeochem.2019.104500](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.104500).
- Bouskill, N.J., Barker-Finkel, J., Galloway, T.S., Handy, R.D., Ford, T.E., 2010. Temporal bacterial diversity associated with metal-contaminated river sediments. *Ecotoxicology.* 19(2), 317–328. [10.1007/s10646-009-0414-2](https://doi.org/10.1007/s10646-009-0414-2).
- Brabec, M.Y., Lyons, T.W., Mandernack, K.W., 2012. Oxygen and sulfur isotope fractionation during sulfide oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 83, 234–251. [10.1016/j.gca.2011.12.005](https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.12.005).
- Braghiroli, F.L., Calugaru, I.L., Gonzalez-Merchan, C., Neculita, C.M., Bouafif, H., Koubaa, A., 2020. Efficiency of eight modified materials for As(V) removal from synthetic and real mine effluents. *Miner. Eng.* 151, 106310. [10.1016/j.mineng.2020.106310](https://doi.org/10.1016/j.mineng.2020.106310).
- Brown, P., Gill, S., Allen, S., 2000. Metal removal from wastewater using peat. *Water Res.* 34(16), 3907–3916. [10.1016/S0043-1354\(00\)00152-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00152-4).
- Buschmann, J., Kappeler, A., Lindauer, U., Kistler, D., Berg, M., Sigg, L., 2006. Arsenite and arsenate binding to dissolved humic acids: Influence of pH, type of humic acid, and aluminum. *Environ. Sci. Technol.* 40(19), 6015–6020. [10.1021/es0606969](https://doi.org/10.1021/es0606969).

- Bussière, B., Aubertin, M., Zagury, G.J., Potvin, R., Benzaazoua, M., 2005. Principaux défis et pistes de solution pour la restauration des aires d'entreposage de rejets miniers abandonnées. In: Proceedings of the symposium 2005 sur l'environnement et les mines, 1–29.
- Byambaa, E., Seon, J., Kim, T.H., Kim, S.D., Ji, W.H., Hwang, Y., 2020. Arsenic(V) removal by an adsorbent material derived from acid mine drainage sludge. *Appl. Sci.* 11(1), 47. [10.3390/app11010047](https://doi.org/10.3390/app11010047).
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods* 13(7), 581–583. [10.1038/nmeth.3869](https://doi.org/10.1038/nmeth.3869).
- Calugaru, I.L., Genty, T., Neculita, C.M., 2021. Treatment of manganese, in the presence or absence of iron, in acid and neutral mine drainage using raw vs half-calcined dolomite. *Miner. Eng.* 160, 106666. [10.1016/j.mineng.2020.106666](https://doi.org/10.1016/j.mineng.2020.106666).
- Calugaru, I.L., Neculita, C.M., Genty, T., Zagury, G.J., 2019. Removal efficiency of As(V) and Sb(III) in contaminated neutral drainage by Fe-loaded biochar. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26(9), 9322–9332. [10.1007/s11356-019-04381-1](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04381-1).
- Calugaru, L., 2019. Amélioration de l'efficacité du traitement du drainage minier par des matériaux naturels et résiduels modifiés. PhD thesis, UQAT. Viewed 16 02 2023, <https://depositum.uqat.ca/id/eprint/812>.
- Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME)., 2001. Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life: Arsenic. Canadian environmental quality guidelines. Winnipeg.
- Canadian Minister of Justice, 2024. Metal and diamond mining effluent regulations (MDMER). Fisheries act, SOR/2002-222. Viewed 07 07 2025. <https://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/SOR-2002-222.pdf>.
- Canfield, D.E., 2001. Isotope fractionation by natural populations of sulfate-reducing bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 65(7), 1117–1124. [10.1016/S0016-7037\(00\)00584-6](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(00)00584-6).

- Cao, J., Guo, Z., Ran, H., Xu, R., Anaman, R., Liang, H., 2023. Risk source identification and diffusion trends of metal(loid)s in stream sediments from an abandoned arsenic-containing mine. *Environ. Pollut.* 329, 121713. [10.1016/j.envpol.2023.121713](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121713).
- Caron, F., Tessier, A., Kramer, J.R., Schwarcz, H.P., Rees, C.E. 1986. Sulfur and oxygen isotopes of sulfate in precipitation and lakewater, Quebec, Canada. *Appl. Geochem.* 1(5), 601-606. [10.1016/0883-2927\(86\)90067-3](https://doi.org/10.1016/0883-2927(86)90067-3).
- Catrouillet, C., Davranche, M., Dia, A., Bouhnik-Le Coz, M., Demangeat, E., Gruau, G., 2016. Does As(III) interact with Fe(II), Fe(III) and organic matter through ternary complexes? *J. Colloid Interface Sci.* 470, 153–161. [10.1016/j.jcis.2016.02.047](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.02.047).
- Catrouillet, C., Davranche, M., Dia, A., Bouhnik-Le Coz, M., Pédrot, M., Marsac, R., Gruau, G., 2015. Thiol groups controls on arsenite binding by organic matter: New experimental and modeling evidence. *J. Colloid Interface Sci.* 460, 310–320. [10.1016/j.jcis.2015.08.045](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.08.045).
- CEAEQ (Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec), 2013. Détermination du carbone et du soufre : méthode par combustion et dosage par spectrophotométrie infrarouge, MA. 310 – CS 1.0, Rév. 3, Ministère du Développement Durable, de l'Environnement, et des Parcs du Québec, Québec, Canada, 10 p.
- CEAEQ., 2016. Détermination du carbone inorganique dissous, du carbone organique dissous et du carbone organique total : méthode par détection infrarouge, MA. 300 – C 1.0, Rév. 6, Ministère du Développement Durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec, Québec, Canada, 10 p.
- Charland, A., Perron, M., Rispoli, A., Bussi eres, M., Bergeron, S., 2018. Goldcorp, Éléonore operations Quebec, Canada. Technical report NI 43–101, 205 p.
- Chen, S., Zhang, C., Qiu, L., Li, Q., Zhang, K., Luo, H., 2022. Biogeochemical transformation of sulfur and its effects on arsenic mobility in paddy fields polluted by acid mine drainage. *Chemosphere.* 293, 133605. [10.1016/j.chemosphere.2022.133605](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133605).
- Coplen, T.B., 2002. Compilation of minimum and maximum isotope ratios of selected elements in naturally occurring terrestrial materials and reagents. U.S. Geological Survey Water-Resources Investigations Report. 01-4222. [10.3133/wri014222](https://doi.org/10.3133/wri014222).

- Coudert, L., Bondu, R., Rakotonimaro, T.V., Rosa, E., Guittonny, M., Neculita, C.M., 2020. Treatment of As-rich mine effluents and produced residues stability: Current knowledge and research priorities for gold mining. *J. Hazard. Mater.* 386, 121920. [10.1016/j.jhazmat.2019.121920](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121920).
- Courchesne, B., Schindler, M., Mykytczuk, N.C., 2021. Relationships between the microbial composition and the geochemistry and mineralogy of the cobalt-bearing legacy mine tailings in Northeastern Ontario. *Front. Microbiol.* 12, 660190. [10.3389/fmicb.2021.660190](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.660190).
- Cravotta, C. A., 2008. Dissolved metals and associated constituents in abandoned coal-mine discharges, Pennsylvania, USA. Part 2: Geochemical controls on constituent concentrations. *Applied Geochemistry*, 23(2), 203–226. [10.1016/j.apgeochem.2007.10.003](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2007.10.003).
- Crist, R.H., Martin, J. R., Chonko, J., Crist, D.R., 1996. Uptake of metals on peat moss: An ion-exchange process. *Environ. Sci. Technol.* 30(8), 2456-2461. [10.1021/es950569d](https://doi.org/10.1021/es950569d).
- Dabrowska, M., Debiec-Andrzejewska, K., Andrunik, M., Bajda, T., Drewniak, L., 2021. The biotransformation of arsenic by spent mushroom compost – An effective bioremediation agent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 213, 112054. [10.1016/j.ecoenv.2021.112054](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112054).
- Dasgupta, S., Siegel, D. I., Zhu, C., Chanton, J.P., Glaser, P.H., 2015. Geochemical mixing in peatland waters: The role of organic acids. *Wetlands*, 35(3), 567–575. [10.1007/s13157-015-0646-2](https://doi.org/10.1007/s13157-015-0646-2).
- Dean, D.M., Fricke, J.R., Riese, A.C., 2022. Passive treatment of circumneutral mine drainage from the St. Louis mine tunnel, Rico CO: Part 2. Vertical biotreatment train pilot study. *Mine Water Environ.* 41(4), 871-885. [10.1007/s10230-022-00857-8](https://doi.org/10.1007/s10230-022-00857-8).
- Deboucha, S., Hashim, R., Alwi, A., 2008. Engineering properties of stabilized tropical peat soils. *Electron. J. Geotech. Eng.* 13, 1–9.
- Detmers, J., Bruechert, V., Habicht, K.S., Kuever, J., 2001. Diversity of sulfur isotope fractionations by sulfate-reducing prokaryotes. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(2), 888–894. [10.1128/AEM.67.2.888-894.2001](https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.888-894.2001).

- Dey, S., 2022. Indigenous microbial populations of abandoned mining sites and their role in natural attenuation. *Arch. Microbiol.* 204(5), 1–18. [10.1007/s00203-022-03003](https://doi.org/10.1007/s00203-022-03003).
- Diaz-Vanegas, C., Casiot, C., Lin, L., De Windt, L., Hery, M., Desoeuvre, A., Jacob, J., 2022. Performance of semi-passive systems for the biological treatment of high-As acid mine drainage: Results from a year of monitoring at the Carnoulès Mine (Southern France). *Mine Water Environ.* 1–16. [10.1007/s10230-022-00853-5](https://doi.org/10.1007/s10230-022-00853-5).
- Dumaresq, C., 1993. The occurrence of arsenic and heavy metal contamination from natural and anthropogenic sources in the Cobalt area of Ontario (Master's thesis). Carleton University, Ottawa, Canada, 355 p.
- Duncan, W., 2010. Long term operation of engineered anaerobic bioreactors and wetland cells treating zinc, arsenic and cadmium in seepage, results, longevity, cost and design issues (Doctoral dissertation). University of Victoria, British Columbia, Canada, 249 p.
- Eberle, A., Besold, J., Ninin, J.M.L., Kerl, C.F., Kujala, K., Planer-Friedrich, B., 2021. Potential of high pH and reduced sulfur for arsenic mobilization—insights from a Finnish peatland treating mining waste water. *Sci. Total Environ.* 758, 143689. [10.1016/j.scitotenv.2020.143689](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143689).
- El Kilani, M.A., Jouini, M., Rakotonimaro, T.V., Neculita, C.M., Molson, J.W., Courcelles, B., Dufour, G., 2021. In-situ pilot-scale passive biochemical reactors for Ni removal from saline mine drainage under subarctic climate conditions. *J. Water Process Eng.* 41, 102062. [10.1016/j.jwpe.2021.102062](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102062).
- Elberling, B., 2005. Temperature and oxygen control on pyrite oxidation in frozen mine tailings. *Cold Reg. Sci. Technol.* 41(2), 121–133. [10.1016/j.coldregions.2004.09.004](https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2004.09.004).
- Environment and Climate Change Canada., 2024. Canadian climate normals 1991–2020. https://climate.weather.gc.ca/climate_normals/.
- Epelde, L., Lanzen, A., Blanco, F., Urich, T., Garbisu, C., 2015. Adaptation of soil microbial community structure and function to chronic metal contamination at an abandoned Pb-Zn mine. *FEMS Microbiol. Ecol.* 91(1), 1–11. [10.1093/femsec/fiu100](https://doi.org/10.1093/femsec/fiu100).

- Evans, L.K. and Nishioka, J., 2018. Quantitative analysis of Fe, Mn and Cd from sea ice and seawater in the Chukchi Sea, Arctic Ocean. *Polar Science*, Vol. 17, 50-58. [10.1016/j.polar.2018.07.002](https://doi.org/10.1016/j.polar.2018.07.002).
- Febrianto, J., Kosasih, A.N., Sunarso, J., Ju, Y.-H., Indraswati, N., Ismadji, S., 2009. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies. *J. Hazard. Mater.* 162, 616–645. [10.1016/j.jhazmat.2008.06.042](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.042).
- Feng, Q., Li, T., Qian, B., Zhou, L., Gao, B., Yuan, T., 2014. Chemical characteristics and utilization of coal mine drainage in China. *Mine Water Environ.* 33, 276–286. [10.1007/s10230-014-0292-2](https://doi.org/10.1007/s10230-014-0292-2).
- Fernandes, C.C., Kishi, L.T., Lopes, E.M., Omori, W.P., Souza, J.A.M.D., Alves, L.M. C., Lemos, E.G.D.M., 2018. Bacterial communities in mining soils and surrounding areas under regeneration process in a former ore mine. *Braz. J. Microbiol.* 49(3), 489–502. [10.1016/j.bjm.2017.12.006](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.12.006).
- Fischer, S., Jarsjö, J., Rosqvist, G., Mörtz, C.M., 2022. Catchment-scale microbial sulfate reduction (MSR) of acid mine drainage (AMD) revealed by sulfur isotopes. *Environ. Pollut.* 292, 118478. [10.1016/j.envpol.2021.118478](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118478).
- Flakova, R., Ženišová, Z., Krčmář, D., Ondřejkova, I., Sracek, O., 2017. Occurrence of antimony and arsenic at mining sites in Slovakia: Implications for their mobility. *Carpath. J. Earth Environ. Sci.* 12(1), 41–48.
- Fontaine, A., 2019. Géologie des minéralisations aurifères de la mine Éléonore, Eeyou Istchee Baie-James, Province du Supérieur, Québec, Canada (Doctoral dissertation). Institut National de la Recherche Scientifique, Canada, 338 p.
- Freundlich, H., 1906. Over the adsorption in solution. *J. Phys. Chem.* 57, 1100–1107.
- Ganie, S.Y., Javaid, D., Hajam, Y.A., Reshi, M.S., 2024. Arsenic toxicity: Sources, pathophysiology and mechanism. *Toxicol. Res.* 13(1), tfad111. [10.1093/toxres/tfad111](https://doi.org/10.1093/toxres/tfad111).

- Garcia, F. F., Camilo Cotrim, C. F., Caramori, S. S., Bailão, E. F. L. C., Nabout, J. C., de Farias Neves Gitirana Junior, G., Almeida, L. M., 2024. Mine tailings dams' failures: serious environmental impacts, remote solutions. *Environment, Development and Sustainability*, 1-23. [10.1007/s10668-024-04628-z](https://doi.org/10.1007/s10668-024-04628-z).
- Genty, T., 2012. Comportement hydro-bio-géochimique des systèmes passifs de traitement du drainage minier acide fortement contaminé en fer (Thèse de doctorat). UQAT, Québec, Canada, 270 p.
- Germain, D., Cyr, J., 2003. Evaluation of biofilter performance to remove dissolved arsenic: Wood Cadillac. In: *Proc. of Mining and the Environment*, Mai 25–28, 2003, Sudbury, Canada.
- Glodowska, M., Stopelli, E., Schneider, M., Rath, B., Straub, D., Lightfoot, A., Kappler, A., 2020. Arsenic mobilization by anaerobic iron-dependent methane oxidation. *Commun. Earth Environ.* 1(1), 1–7. [10.1038/s43247-020-00007-1](https://doi.org/10.1038/s43247-020-00007-1).
- Gogoi, H., Leiviskä, T., Heiderscheidt, E., Postila, H., Tanskanen, J., 2018. The effectiveness of metal and metalloid sorption from mining influenced waters by natural and modified peat. *Mine Water Environ.* 37(4), 734–743. [10.1007/s10230-018-0525-1](https://doi.org/10.1007/s10230-018-0525-1).
- Gong, Z., Lu, X., Ma, M., Watt, C., Le, X.C., 2002) Arsenic speciation analysis. *Talanta*. 58(1), 77–96. [10.1016/S0039-9140\(02\)00263-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00263-0).
- Gorb, L., Shukla, M.K., 2017. Can Fe^{3+} and Al^{3+} ions serve as cationic bridges to facilitate the adsorption of anionic As(V) species on humic acids? A density functional theory study. *J. Mol. Model.* 23(3), 81. [10.1007/s00894-017-3271-0](https://doi.org/10.1007/s00894-017-3271-0).
- Grządziel, J., Gałazka, A., 2019. Fungal biodiversity of the most common types of polish soils in a long-term microplot experiment. *Front. Microbiol.* 10, 6. [10.3389/fmicb.2019.00006](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00006).
- Gusek, J.J., 2002. Sulfate-reducing bioreactor design and operating issues: Is this the passive treatment technology for your mine drainage. *Natl. Assoc. Abandoned Mine Land Programs*. 15.
- Habicht, K.S., Canfield, D.E., 1997. Sulfur isotope fractionation during bacterial sulfate reduction in organic-rich sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 61(24), 5351–5361.

- Hamani, A., 2020. Évaluation des mécanismes de traitement du drainage neutre contaminé (nickel, manganèse, zinc) en réacteur passif biochimique (Thèse de doctorat). Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue, Québec, Canada, 301 p.
- Hedin, B.C., Capo, R.C., Stewart, B.W., Hedin, R.S., Lopano, C.L., Stuckman, M.Y., 2019. The evaluation of critical rare earth element (REE) enriched treatment solids from coal mine drainage passive treatment systems. *Int. J. Coal Geol.* 208, 54–64. [10.1016/j.coal.2019.04.005](https://doi.org/10.1016/j.coal.2019.04.005)[geology.pitt.edu](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167636919300055).
- Heiderscheidt, E., Khan, U.A., Kujala, K., Ronkanen, A., Postila, H., 2020a. Design, construction and monitoring of pilot systems to evaluate the effect of freeze-thaw cycles on pollutant retention in wetlands. *Sci. Total Environ.* 703, 134713. [10.1016/j.scitotenv.2019.134713](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134713).
- Heiderscheidt, E., Leiviskä, T., Campos Lopez, F., Tesfamariam, A., Postila, H., 2020b. Suitability of natural and chemically modified peat as a sorbent material for mining water purification in small-scale pilot systems. *Environ. Technol.* 43(7), 971–982. [10.1080/09593330.2020.1812007](https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1812007).
- Helz, G.R., Tossell, J.A., 2008. Thermodynamic model for arsenic speciation in sulfidic waters: A novel use of ab initio computations. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 72(18), 4457–4468. [10.1016/j.gca.2008.06.026](https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.06.026).
- Hengen, T.J., Squillace, M.K., O’Sullivan, A.D., Stone, J.J., 2014. Life cycle assessment analysis of active and passive acid mine drainage treatment technologies. *Resour. Conserv. Recycl.* 86, 160–167. [10.1016/j.resconrec.2014.01.003](https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.01.003).
- Henke, K., 2009. Arsenic: Environmental chemistry, health threats and waste treatment. John Wiley & Sons, 575 p.
- Herlambang, A., Guo, Y., Takashima, Y., Narisawa, K., Ohta, H., Nishizawa, T., 2022. Whole-genome sequence of *Entomortierella parvispora* E1425, a mucoromycotan fungus associated with Burkholderiaceae-related endosymbiotic bacteria. *Microbiol. Resour. Announc.* 11(1), e01101-21. [10.1128/mra.01101-21](https://doi.org/10.1128/mra.01101-21).
- Ho, Y.S., McKay, G., 2000. The kinetics of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat. *Water Res.* 34(3), 735–742. [10.1016/S0043-1354\(99\)00232-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00232-8).

- Ho, Y.S., Ng, J.C.Y., McKay, G., 2000. Kinetics of pollutant sorption by biosorbents. *Sep. Purif. Rev.* 29(2), 189–232. [10.1081/SPM-100100009](https://doi.org/10.1081/SPM-100100009).
- Hoefs, J., 2009. *Stable isotope geochemistry* (6th ed.). Springer. [10.1007/978-3-540-70708-0](https://doi.org/10.1007/978-3-540-70708-0).
- Hoffmann, M., Mikutta, C., Kretzschmar, R., 2012. Bisulfide reaction with natural organic matter enhances arsenite sorption: Insights from X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 46(21), 11788–11797. [10.1021/es302590x](https://doi.org/10.1021/es302590x).
- Hong, C., Si, Y., Xing, Y., Li, Y., 2015. Illumina MiSeq sequencing investigation on the contrasting soil bacterial community structures in different iron mining areas. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22(14), 10788–10799. [10.1007/s11356-015-4186-3](https://doi.org/10.1007/s11356-015-4186-3).
- Hou, Y., Zhao, Y., Lu, J., Wei, Q., Zang, L., Zhao, X., 2023. Environmental contamination and health risk assessment of potentially toxic trace metal elements in soils near gold mines—a global meta-analysis. *Environ. Pollut.* 330, 121803. [10.1016/j.envpol.2023.121803](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121803).
- Hovasse, A., Bruneel, O., Casiot, C., Desoeuvre, A., Farasin, J., Hery, M., Dorselaer, A.V., Carapito, C., Arsene-Ploetze, F., 2016. Spatio-temporal detection of the *Thiomonas* population and the *Thiomonas* arsenite oxidase involved in natural arsenite attenuation processes in the Carnoulès acid mine drainage. *Front. Cell. Dev. Biol.* 4, 3. [10.3389/fcell.2016.00003](https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00003).
- Hu, X., Ding, Z., Zimmerman, A.R., Wang, S., Gao, B., 2015. Batch and column sorption of arsenic onto iron-impregnated biochar synthesized through hydrolysis. *Water Res.* 68, 206–216. [10.1016/j.watres.2014.10.009](https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.009).
- Huang, J.H., 2014. Impact of microorganisms on arsenic biogeochemistry: A review. *Water Air Soil Pollut.* 225(2), 1848. [10.1007/s11270-013-1848-y](https://doi.org/10.1007/s11270-013-1848-y).
- Huang, X., Liu, X., Liu, J., Chen, H., 2021. Iron-bound organic carbon and their determinants in peatlands of China. *Geoderma*. 391, 114974. [10.1016/j.geoderma.2021.114974](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.114974).
- Huat, B.B., Kazemian, S., Prasad, A., Barghchi, M., 2011. State of an art review of peat: General perspective. *Int. J. Phys. Sci.* 6(8), 1988–1996. [10.5897/IJPS11.192](https://doi.org/10.5897/IJPS11.192).
- Hudson-Edwards, K.A., Santini, J.M., 2013. Arsenic-microbe-mineral interactions in mining-affected environments. *Minerals* 3, 337–351. [10.3390/min3040337](https://doi.org/10.3390/min3040337).

- Jacob, J., Jouliau, C., Battaglia-Brunet, F., 2022. Start-up and performance of a full-scale passive system including biofilters for the treatment of Fe, As and Mn in a neutral mine drainage. *Water* 14(12), 1963. [10.3390/w14121963](https://doi.org/10.3390/w14121963).
- Jarvis, A.P., Gandy, C.J., Webb, J.A., 2023. Controls on the generation and geochemistry of neutral mine drainage: Evidence from force crag mine, Cumbria, UK. *Minerals*. 13(5), 592. [10.3390/min13050592](https://doi.org/10.3390/min13050592).
- Ji, H., Zhang, Y., Bararunyeretse, P., Li, H., 2018. Characterization of microbial communities of soils from gold mine tailings and identification of mercury-resistant strain. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 165, 182–193. [10.1016/j.ecoenv.2018.09.084](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.084).
- Jouini, M., Neculita, C.M., Genty, T., Benzaazoua, M., 2020. Freezing/thawing effects on geochemical behavior of residues from acid mine drainage passive treatment systems. *J. Water Process Eng.* 33, 101087. [10.1016/j.jwpe.2019.101087](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.101087).
- Jurkovič, Ľ., Majzlan, J., Hiller, E., Klimko, T., Voleková-Lalinská, B., Méres, Š., Steininger, R., 2019. Natural attenuation of antimony and arsenic in soils at the abandoned Sb-deposit Poproč, Slovakia. *Environ. Earth Sci.* 78(24), 1–13. [10.1007/s12665-019-8670](https://doi.org/10.1007/s12665-019-8670).
- Kasiulienė, A., Carabante, I., Bhattacharya, P., Kumpiene, J., 2019. Treatment of metal(loid) contaminated solutions using iron-peat as sorbent: Is landfilling a suitable management option for the spent sorbent? *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26(21), 21425–21436. [10.1007/s11356-019-05609-x](https://doi.org/10.1007/s11356-019-05609-x).
- Kawazoe, Y., Kimura, K., Masaki, Y., Horiuchi, K., Hamai, T., Okibe, N., 2023. Re-use of passive treatment Fe-sludge for remediation of As-contaminated waters. *Hydrometallurgy*. 221, 106123. [10.1016/j.hydromet.2023.106123](https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2023.106123).
- Khan, S.A., Imteaz, M.A., 2021. Experimental studies on arsenic removal efficiencies through adsorption using different natural adsorbents. *Water Air Soil Pollut.* 232(1), 16. [10.1007/s11270-020-04977-1](https://doi.org/10.1007/s11270-020-04977-1).
- Khan, U.A., Kujala, K., Nieminen, S. P., Räisänen, M.L., Ronkanen, A.K., 2019. Arsenic, antimony, and nickel leaching from northern peatlands treating mining influenced water in cold climate. *Sci. Total Environ.* 657, 1161–1172. [10.1016/j.scitotenv.2018.11.455](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.455).

- Kim, D., Ren, Y., Cui, M., Lee, Y., Kim, J., Kwon, O., Khim, J., 2021. Arsenic adsorption on two types of powdered and beaded coal mine drainage sludge adsorbent. *Chemosphere*. 272, 129560. [10.1016/j.chemosphere.2021.129560](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129560).
- Kim, D.M., Lim, W.L., Im, D.G., Seo, E.Y., 2020. Source and pathway determination of mine seepages using sulfate and Pb isotopes at the Daema and Okdong mines, South Korea. *Appl. Geochem.* 118, 104642. [10.1016/j.apgeochem.2020.104642](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104642).
- Kim, M.J., Nriagu, J., 2000. Oxidation of arsenite in groundwater using ozone and oxygen. *Sci. Total Environ.* 247(1), 71–79. [10.1016/S0048-9697\(99\)00470-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00470-2).
- Kisková, J., Perháčová, Z., Vlčko, L., Sedláková, J., Kvasnová, S., Pristaš, P., 2018. The bacterial population of neutral mine drainage water of Elizabeth's Shaft (Slovinky, Slovakia). *Curr. Microbiol.* 75(8), 988–996. [10.1007/s00284-018-1486-1](https://doi.org/10.1007/s00284-018-1486-1).
- Kratochvil, D., Volesky, B., 1998. Advances in the biosorption of heavy metals. *Trends Biotechnol.* 16, 291–300. [10.1016/S0167-7799\(98\)01218-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01218-9).
- Kuhry, P., Vitt, D.H., 1996. Fossil carbon/nitrogen ratios as a measure of peat decomposition. *Ecol.* 77(1), 271–275. [10.2307/2265676](https://doi.org/10.2307/2265676).
- Kujala, K., Besold, J., Mikkonen, A., Tirola, M., Planer-Friedrich, B., 2020. Abundant and diverse arsenic-metabolizing microorganisms in peatlands treating arsenic-contaminated mining wastewaters. *Environ. Microbiol.* 22(4), 1572–1587. [10.1111/1462-2920.14922](https://doi.org/10.1111/1462-2920.14922).
- Kujala, K., Laamanen, T., Khan, U.A., Besold, J., Planer-Friedrich, B., 2022. Kinetics of arsenic and antimony reduction and oxidation in peatlands treating mining-affected waters: Effects of microbes, temperature, and carbon substrate. *Soil Biol. Biochem.* 167, 108598. [10.1016/j.soilbio.2022.108598](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108598).
- Kujala, K., Mikkonen, A., Saravesi, K., Ronkanen, A., Tirola, M., 2018. Microbial diversity along a gradient in peatlands treating mining-affected waters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94(10), fiy145. [10.1093/femsec/fiy145](https://doi.org/10.1093/femsec/fiy145).
- Kujala, K., Postila, H., Heiderscheidt, E., Maljanen, M., Tirola, M., 2024. Year-round activity of microbial communities in cold-climate peatlands treating mining-affected waters. *Soil Biol. Biochem.* 189, 109258. [10.1016/j.soilbio.2023.109258](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.109258).

- Kumar, R., Jing, C., Yan, L., 2024. A critical review on arsenic and antimony adsorption and transformation on mineral facets. *J. Environ. Sci.* 153, 56–75. [10.1016/j.jes.2024.01.016](https://doi.org/10.1016/j.jes.2024.01.016).
- Lagergren, S., 1898. About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *K. Sven. Vetenskapsakad. Handl.* 24(4), 1–39.
- Langmuir, I., 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J. Am. Chem. Soc.* 40, 1361–1403. [10.1021/ja02242a004](https://doi.org/10.1021/ja02242a004).
- Largitte, L., Pasquier, R., 2016. A review of the kinetics adsorption models and their application to the adsorption of lead by an activated carbon. *Chem. Eng. Res. Des.* 109, 495–504. [10.1016/j.cherd.2016.02.006](https://doi.org/10.1016/j.cherd.2016.02.006).
- Lauzier, M., Fortin, D., Lemire, A., Pépin, G., Magny, P., Painchaud, J.F., 2022. Newmont Éléonore: PAR-PCD-PAR-MAN, operation, maintenance and monitoring manual for the tailings facility. Internal Report, version 4. 113 p.
- Li, X., Pan, G., Zhou, A., Fang, L., He, N., 2022. Stable sulfur and oxygen isotopes of sulfate as tracers of antimony and arsenic pollution sources related to antimony mine activities in an impacted river. *Appl. Geochem.* 142, 105351. [10.1016/j.apgeochem.2022.105351](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2022.105351).
- Libero, C., 2007. Étude écotoxicologique au site minier Wood-Cadillac avant et après bio-traitement passif. Mémoire de maîtrise, Université de Montréal, 161 p.
- Limoge, B., 2019. Plan de compensation des milieux humides – version finale. Rapport préparé pour Newmont-Goldcorp – Mine Éléonore, 99 p.
- Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B., 2000. Stability studies of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in water, urine, fish and soil extracts using HPLC/ICP-MS. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 368, 214–220. [10.1007/s002160000427](https://doi.org/10.1007/s002160000427).
- Liu, C., Cui, Y., Li, X., Yao, M., 2021. Microeco: An R package for data mining in microbial community ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.* 97(2), fiae255. [10.1093/femsec/fiae255](https://doi.org/10.1093/femsec/fiae255).
- Liu, J., Pei, R., Liu, R., Jing, C., Liu, W., 2025. Arsenic methylation and microbial communities in paddy soils under alternating anoxic and oxic conditions. *J. Environ. Sci.* 148, 468–475. [10.1016/j.jes.2023.10.030](https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.10.030).

- Louca, S., Parfrey, L.W., Doebeli, M., 2016. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science* 353(6305), 1272–1277. [10.1126/science.aaf4507](https://doi.org/10.1126/science.aaf4507).
- Ludwig, R., Smyth, D., Blowes, D., Spink, L., Wilkin, R., Jewett, D., Weisener, C., 2009. Treatment of arsenic, heavy metals, and acidity using a mixed ZVI-compost PRB. *Environ. Sci. Technol.* 43(6), 1970–1976. [10.1021/es801320k](https://doi.org/10.1021/es801320k).
- Macías, F., Caraballo, M., Nieto, J., Rötting, T., Ayora, C., 2012. Natural pretreatment and passive remediation of highly polluted acid mine drainage. *J. Environ. Manag.* 104, 93–100. [10.1016/j.jenvman.2012.03.027](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.03.027).
- Macur, R.E., Langner, H.W., Kocar, B.D., Inskeep, W.P., 2004. Linking geochemical processes with microbial community analysis: successional dynamics in an arsenic-rich, acid-sulphate-chloride geothermal spring. *Geobiology* 2(3), 163–177. [10.1111/j.1472-4677.2004.00032.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-4677.2004.00032.x).
- Madore, L., 2021. Mines en chiffres. Institut de la statistique du Québec, 13 p.
- Marshall, B., 2021. Faits et chiffres 2020. La situation de l'industrie minière au Canada. Association minière du Canada, 106 p.
- Martinez, N.M., Basallote, M.D., Meyer, A., Cánovas, C.R., Macías, F., Schneider, P., 2019. Life cycle assessment of a passive remediation system for acid mine drainage: Towards more sustainable mining activity. *J. Clean. Prod.* 211, 1100–1111. [10.1016/j.jclepro.2018.11.250](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.250).
- McCarter, C.P.R., Rezanezhad, F., Quinton, W.L., Gharedaghlou, B., Lennartz, B., Price, J., Van Cappellen, P., 2020. Pore-scale controls on hydrological and geochemical processes in peat: Implications on interacting processes. *Earth Sci. Rev.* 207, 103227. [10.1016/j.earscirev.2020.103227](https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103227).
- McCleskey, R.B., Nordstrom, D.K., Maest, A.S., 2004. Preservation of water samples for arsenic (III/V) determinations: An evaluation of the literature and new analytical results. *Appl. Geochem.* 19(7), 995–1009. [10.1016/j.apgeochem.2004.02.001](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2004.02.001).

- McNeil, B.J., Pakostova, E., Bain, J.G., Gould, D.W., Amos, R.T., Wilson, G.W., Ptacek, C.J., Blowes, D.W., 2020. Microbial community structure within a weathered waste-rock pile overlain by a monolayer soil cover. *Appl. Geochem.* 114, 104531. [10.1016/j.apgeochem.2020.104531](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104531).
- Mehdaoui, H.Y., Guesmi, Y., Jouini, M., Neculita, C.M., Pabst, T., Benzaazoua, M., 2023. Passive treatment residues of mine drainage: Mineralogical and environmental assessment, and management avenues. *Minerals Engineering*, Vol. 204, 108362. [10.1016/j.mineng.2023.108362](https://doi.org/10.1016/j.mineng.2023.108362).
- Mehdaoui, H.Y., Jouini, M., Lefebvre, J., Neculita, C.M., Pabst, T., Benzaazoua, M., 2025b. Stability of as-rich residues from pilot biofilters for passive treatment of neutral mine drainage: Laboratory vs field testing. *J. Environ. Manage.* 394, 127216. [10.1016/j.jenvman.2025.127216](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2025.127216).
- Mehdaoui, H.Y., Jouini, M., Lefebvre, J., Neculita, C.M., Pabst, T., Benzaazoua, M., 2025a. Geochemical stability of As-rich residues from a 20-year-old passive field biofilter used for neutral mine drainage treatment. *Ecol. Eng.* 216, 107618. [10.1016/j.ecoleng.2025.107618](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2025.107618).
- MELCC (Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre le Changement Climatique)., 2020. PR6 – Minerais de Fer Québec : Résumé de l'étude d'impact sur l'environnement, 150 p.
- MELCCFP (Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les Changements Climatiques, de la Faune et des Parcs)., 2025. Directive 019 sur l'industrie minière. Consulté le 15 mai 2025. https://www.environnement.gouv.qc.ca/milieu_ind/directive019/.
- MELCCFP, 2012. Directive 019 sur l'industrie minière. Quebec's Ministry of the Environment, Quebec, QC, Canada. Viewed 07 08 2024. https://www.environnement.gouv.qc.ca/milieu_ind/directive019/.
- Mikutta, C., Rothwell, J.J., 2016. Peat bogs as hotspots for organoarsenical formation and persistence. *Environ. Sci. Technol.* 50(8), 4314–4323. [10.1021/acs.est.5b05306](https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05306).

- Miller, C.B., Parsons, M.B., Jamieson, H.E., Ardakani, O.H., Patterson, R.T., Galloway, J.M., 2022. Mediation of arsenic mobility by organic matter in mining-impacted sediment from sub-Arctic lakes: Implications for environmental monitoring in a warming climate. *Environ. Earth Sci.* 81(4), 137. [10.1007/s12665-022-10213-2](https://doi.org/10.1007/s12665-022-10213-2).
- Minister of Justice., 2023. Metal and Diamond Mining Effluent regulations (MDMER). Fisheries act, SOR/2002-222. Viewed 10 02 2023, <http://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/SOR-2002-222.pdf>.
- Mook, W.G., 2001. Isotopes de l'environnement dans le cycle hydrologique. Volume I, Chapitre 8. Paris: UNESCO, 193 p.
- Mouzourakis, E., Georgiou, Y., Louloudi, M., Konstantinou, I., Deligiannakis, Y., 2017. Recycled-tire pyrolytic carbon made functional: A high-arsenite [As(III)] uptake material PyrC 350®. *J. Hazard. Mater.* 326, 177–186. [10.1016/j.jhazmat.2016.12.027](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.12.027).
- MRNF (Ministère des Ressources Naturelles et des Forêts)., 2024. Plan de travail 2024–2025, restauration des sites miniers abandonnés. Gouvernement du Québec, 18 p.
- Murali, A., Bhargava, A., Wright, E.S., 2018. IDTAXA: A novel approach for accurate taxonomic classification of microbiome sequences. *Microbiome* 6(1), 140. [10.1186/s40168-018-0521-5](https://doi.org/10.1186/s40168-018-0521-5).
- Nairn, R., LaBar, J., Oxenford, L., Shepherd, N., Holzbauer-Schweitzer, B., Arango, J., Knox, R., 2020. Toward sustainability of passive treatment in legacy mining watersheds: Operational performance and system maintenance. *IMWA 2020, Mine Water Solutions*. 123–129.
- Nang-Htay, Y.I.N., Louvat, P., Thibault-De-Chanvalon, A., Sebilo, M., Amouroux, D., 2023. Iron isotopic fractionation driven by low-temperature biogeochemical processes. *Chemosphere*. 316, 137802. [10.1016/j.chemosphere.2023.137802](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137802).
- Navarro, A., Font, X., Viladevall, M., 2015. Metal mobilization and zinc-rich circumneutral mine drainage from the abandoned mining area of Osor (Girona, NE Spain). *Mine Water Environ.* 34(3), 329–342. [10.1007/s10230-015-0327-7](https://doi.org/10.1007/s10230-015-0327-7).

- Navas, M., Pérez-Esteban, J., Torres, M.A., Hontoria, C., Moliner, A., 2021. Taxonomic and functional analysis of soil microbial communities in a mining site across a metal(loid) contamination gradient. *Eur. J. Soil Sci.* 72(3), 1190–1205. [10.1111/ejss.13023](https://doi.org/10.1111/ejss.13023).
- Neculita, C., Coudert, L., Rosa, E., Mulligan, C., 2020. Future prospects for treating contaminants of emerging concern in water and soils/sediments. *Nano-bio Technol. Water Soil Treat.* 589–605, Elsevier. [10.1007/978-3-030-29840-1_29](https://doi.org/10.1007/978-3-030-29840-1_29).
- Neculita, C., Zagury, G., Bussière, B., 2008. Effectiveness of sulfate-reducing passive bioreactors for treating highly contaminated acid mine drainage: Effect of hydraulic retention time. *Appl. Geochem.* 23(12), 3442–3451. [10.1016/j.apgeochem.2008.06.013](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2008.06.013).
- Neculita, C.M., Zagury, G.J., 2008. Biological treatment of highly contaminated acid mine drainage in batch reactors: Long-term treatment and reactive mixture characterization. *J. Hazard. Mater.* 157(2–3), 35–366. [10.1016/j.jhazmat.2008.01.002](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.01.002).
- Neculita, C.M., Zagury, G.J., Bussière, B., 2007. Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate-reducing bacteria: Critical review and research needs. *J. Environ. Qual.* 36(1), 1–16. [10.2134/jeq2006.0066](https://doi.org/10.2134/jeq2006.0066).
- Neculita, C.M., Zagury, G.J., Bussière, B., 2021. Passive treatment of acid mine drainage at the reclamation stage. In: *Hard Rock Mine Reclamation: From Prediction to Management of Acid Mine Drainage*. Bussière, B., Guittonny, M. (Eds.), CRC Press, pp. 271–296.
- Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Kennedy, P.G., 2016. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 20, 241–248. [10.1016/j.funeco.2015.06.006](https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.006).
- Nielsen, G., Hatam, I., Abuan, K.A., Janin, A., Coudert, L., Blais, J.F., Baldwin, S.A., 2018. Semi-passive in-situ pilot scale bioreactor successfully removed sulfate and metals from mine impacted water under subarctic climatic conditions. *Water Res.* 140, 268–279. [10.1016/j.watres.2018.04.035](https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.035).
- Nkongolo, K., Narendrula-Kotha, R., 2023. Dynamic changes of microbial community composition and diversity in metal contaminated and reclaimed lands assessed by Illumina MiSeq sequencing. *Ecol. Genet. Genomics.* 100163. [10.1016/j.egg.2023.100163](https://doi.org/10.1016/j.egg.2023.100163).

- Nordstrom, D.K., Archer, D.G., 2003. Arsenic thermodynamic data and environmental geochemistry: An evaluation of thermodynamic data for modeling the aqueous environmental geochemistry of arsenic. In: Welch, A.H., Stollenwerk, K.G., Arsenic in ground water, Springer US, 1–25. [10.1007/0-306-47956-7_1](https://doi.org/10.1007/0-306-47956-7_1).
- Nordstrom, D.K., Blowes, D.W., Ptacek, C.J., 2015. Hydrogeochemistry and microbiology of mine drainage: An update. *Appl. Geochem.* 57, 3–16. [10.1016/j.apgeochem.2015.02.008](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2015.02.008).
- Nordwick, S., Zaluski, M., Park, B., Bless, D., 2006. Advances in development of bioreactors applicable to the treatment of ARD. In Proceedings 7th International conference of acid rock drainage, St. Louis, 1410–1420.
- Northrup, K., Capooci, M., Seyfferth, A.L., 2018. Effects of extreme events on arsenic cycling in salt marshes. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 123(3), 1086–1100. [10.1002/2017JG004259](https://doi.org/10.1002/2017JG004259).
- Ondrejková, I., Ženíšová, Z., Fláková, R., Krčmář, D., Sracek, O., 2013. The distribution of antimony and arsenic in waters of the Dúbrava abandoned mine site, Slovak Republic. *Mine Water Environ.* 32(3), 207–221. [10.1007/s10230-013-0231-9](https://doi.org/10.1007/s10230-013-0231-9).
- Paikaray, S., 2015. Arsenic geochemistry of acid mine drainage. *Mine Water Environ.* 34(2), 181–196. [10.1007/s10230-014-0286-4](https://doi.org/10.1007/s10230-014-0286-4).
- Pakostova, E., Hilger, D.M., Blowes, D.W., Ptacek, C.J., 2023. Microbial processes with the potential to mobilize As from a circumneutral-pH mixture of flotation and roaster tailings. *Sci. Reports* 13(1), 23048. [10.1038/s41598-023-50435-3](https://doi.org/10.1038/s41598-023-50435-3).
- Pakostova, E., Johnson, D.B., Bao, Z., MacKenzie, P.M., Ptacek, C. J., Blowes, D.W., 2020. Bacterial and archaeal diversity in sulfide-bearing waste rock at Faro Mine Complex, Yukon Territory, Canada. *Geomicrobiol. J.* 37(6), 511–519. [10.1080/01490451.2020.1731020](https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1731020).
- Pakostova, E., McAlary, M., Marshall, S., McGarry, S., Ptacek, C.J., Blowes, D.W., 2022. Microbiology of a multi-layer biosolid/desulfurized tailings cover on a mill tailings impoundment. *J. Environ. Manag.* 302, 114030. [10.1016/j.jenvman.2021.114030](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114030).

- Paktunc, D., Majzlan, J., Huang, A., Thibault, Y., Johnson, M. B., White, M. A., 2015. Synthesis, characterization, and thermodynamics of arsenates forming in the Ca-Fe(III)-As(V)-NO₃ system: Implications for the stability of Ca-Fe arsenates. *Am. Mineral.* 100(8-9), 1803-1820. [10.2138/am-2015-5199](https://doi.org/10.2138/am-2015-5199).
- Palmer, K., Ronkanen, A.K., Kløve, B., 2015. Efficient removal of arsenic, antimony and nickel from mine wastewaters in northern treatment peatlands and potential risks in their long-term use. *Ecol. Eng.* 75, 350–364. [10.1016/j.ecoleng.2014.11.045](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.11.045).
- Parkhurst, D.L., Appelo, C.A.J., 2013. Description of input and examples for PHREEQC version 3 – A computer program for speciation, batch-reaction, one-dimensional transport, and inverse geochemical calculations. Geological survey techniques and methods, US book 6, chapter. A43, 497. <http://pubs.usgs.gov/tm/06/a43/>.
- Pathak, P., Ghosh, P., Swaraj, A., Yu, T.L., Shen, C.C., 2022. Role of carbon and sulfur biogeochemical cycles on the seasonal arsenic mobilization process in the shallow groundwater of the Bengal aquifer. *Appl. Geochem.* 141, 105322. [10.1016/j.apgeochem.2022.105322](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2022.105322).
- Pellerin, A., Antler, G., Holm, S.A., Findlay, A.J., Crockford, P.W., Turchyn, A.V., Finster, K., 2019. Large sulfur isotope fractionation by bacterial sulfide oxidation. *Sci. Adv.* 5(7), eaaw1480. [10.1126/sciadv.aaw1480](https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw1480).
- Pereira, L.B., Vicentini, R., Ottoboni, L.M., 2015. Characterization of the core microbiota of the drainage and surrounding soil of a Brazilian copper mine. *Genet. Mol. Biol.* 38, 484–489. [10.1590/S1415-475738420140264](https://doi.org/10.1590/S1415-475738420140264).
- Pereira, L.B., Vicentini, R., Ottoboni, L.M.M., 2014. Changes in the bacterial community of soil from a neutral mine drainage channel. *PLoS One.* 9(5), e96605. [10.1371/journal.pone.0096605](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096605).
- Pester, M., Knorr, K.H., Friedrich, M.W., Wagner, M., Loy, A., 2012. Sulfate-reducing microorganisms in wetlands—fameless actors in carbon cycling and climate change. *Front. Microbiol.* 3, 72. [10.3389/fmicb.2012.00072](https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00072).

- Pisapia, C., Chaussidon, M., Mustin, C., Humbert, B., 2007. O and S isotopic composition of dissolved and attached oxidation products of pyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans*: Comparison with abiotic oxidations. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 71(10), 2474–2490. [10.1016/j.gca.2007.02.015](https://doi.org/10.1016/j.gca.2007.02.015).
- Poser, A., Vogt, C., Knöller, K., Ahlheim, J., Weiss, H., Kleinstüber, S., Richnow, H.H., 2014. Stable sulfur and oxygen isotope fractionation of anoxic sulfide oxidation by two different enzymatic pathways. *Environ. Sci. Technol.* 48(16), 9094–9102. [10.1021/es5011329](https://doi.org/10.1021/es5011329).
- Price, F.T., Shieh, Y.N., 1979. Fractionation of sulfur isotopes during laboratory synthesis of pyrite at low temperatures. *Chem. Geol.* 27(3), 245–253. [10.1016/0009-2541\(79\)90052](https://doi.org/10.1016/0009-2541(79)90052).
- Proust, N., Picot, A., 2019. Toxicologie de l'arsenic et de ses composés : Importance de la spéciation. *Act. Chim.* (6), 3–11.
- Qian, Y., Hu, L., Wang, Y., Xu, K., 2023. Arsenic methylation behavior and microbial regulation mechanisms in landfill leachate saturated zones. *Environ. Pollut.* 320, 121064. [10.1016/j.envpol.2023.121064](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121064).
- QMNR (Quebec's Ministry of Natural Resources and Forests), 2023. Liste des sites miniers abandonnés en responsabilité réelle au passif au titre des sites contaminés. Gouvernement du Québec, 6 p.
- QMNR, 2024. The mining industry creates jobs and wealth for the regions of Québec. Viewed 06 02 2024, <https://mrnf.gouv.qc.ca/en/mines/mining-industry/>.
- Rahman, M. A., Hassler, C., 2014. Is arsenic biotransformation a detoxification mechanism for microorganisms? *Aquat. Toxicol.* 146, 212–219. [10.1016/j.aquatox.2013.11.009](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.009).
- Rakotonimaro, T.V., Guittonny, M., Neculita, C.M., 2021. Compaction of peat cover over desulfurized gold mine tailings changes: Arsenic speciation and mobility. *Appl. Geochem.* 128, 104923. [10.1016/j.apgeochem.2021.104923](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2021.104923).
- Rakotonimaro, T.V., Guittonny, M., Neculita, C.M., Trépanier, F., Pépin, G., 2019. Evaluation of arsenic leaching potential in gold mine tailings amended with peat and mine drainage treatment sludge. *J. Environ. Qual.* 48(3), 735–745. [10.2134/jeq2018.11.0392](https://doi.org/10.2134/jeq2018.11.0392).

- Rakotonimaro, T.V., Neculita, C.M., Bussière, B., Benzaazoua, M., Zagury, G.J., 2017. Recovery and reuse of sludge from active and passive treatment of mine drainage-impacted waters: A review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24(1), 73–91. [10.1007/s11356-016-7733-7](https://doi.org/10.1007/s11356-016-7733-7).
- Ray, S., Dey, K., 2020. Coal mine water drainage: the current status and challenges. *J. Inst. Eng. India Ser.* 01(2), 165–172. [10.1007/s40033-020-00222-5](https://doi.org/10.1007/s40033-020-00222-5).
- Rechberger, M.V., Kloss, S., Wang, S.L., Lehmann, J., Rennhofer, H., Ottner, F., Zehetner, F., 2019. Enhanced Cu and Cd sorption after soil aging of woodchip-derived biochar: What were the driving factors? *Chemosphere.* 216, 463–471. [10.1016/j.chemosphere.2018.10.094](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.094).
- Reis, M.P., Barbosa, F.A., Chartone-Souza, E., Nascimento, A.M., 2013. The prokaryotic community of a historically mining-impacted tropical stream sediment is as diverse as that from a pristine stream sediment. *Extremophiles.* 17(2), 301–309. [10.1007/s00792-013-0517-9](https://doi.org/10.1007/s00792-013-0517-9).
- REMMMD (Règlement sur les effluents des mines de métaux et des mines de diamants), 2025. DORS/2002-222 (dernières modifications le 06/03/2025). <https://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/dors-2002-222/index.html>.
- Rezanezhad, F., Price, J.S., Quinton, W.L., Lennartz, B., Milojevic, T., Van Cappellen, P., 2016. Structure of peat soils and implications for water storage, flow and solute transport: A review update for geochemists. *Chem. Geol.* 429, 75–84. [10.1016/j.chemgeo.2016.03.010](https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.03.010).
- Rhine, E.D., Ni Chadhain, S.M., Zylstra, G.J., Young, L.Y., 2007. The arsenite oxidase genes (aroAB) in novel chemoautotrophic arsenite oxidizers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 354, 662–667. [10.1016/j.bbrc.2007.01.004](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.01.004).
- Rice, A.V., Currah, R.S., 2005. *Oidiodendron*: A survey of the named species and related anamorphs of *Myxotrichum*. *Stud. Mycol.* 53, 83–120. [10.3114/sim.53.1.83](https://doi.org/10.3114/sim.53.1.83).
- Richard, D., Mucci, A., Neculita, C.M., Zagury, G.J., 2020. Comparison of organic materials for the passive treatment of synthetic neutral mine drainage contaminated by nickel:

- Adsorption and desorption kinetics and isotherms. *Water Air Soil Pollut.* 231(12), 556. [10.1007/s11270-020-04917-z](https://doi.org/10.1007/s11270-020-04917-z).
- Rosa, E., Larocque, M., 2008. Investigating peat hydrological properties using field and laboratory methods: Application to the Lanoraie peatland complex (southern Quebec, Canada). *Hydrol. Process.* 22(12), 1866–1875. [10.1002/hyp.6771](https://doi.org/10.1002/hyp.6771).
- Rötting, T.S., Thomas, R.C., Ayora, C., Carrera, J., 2008. Passive treatment of acid mine drainage with high metal concentrations using dispersed alkaline substrate. *J. Environ. Qual.* 37(5), 1741–1751. [10.2134/jeq2007.0517](https://doi.org/10.2134/jeq2007.0517).
- Ryskie, S., Neculita, C.M., Rosa, E., Coudert, L., Couture, P., 2021. Active treatment of contaminants of emerging concern in cold mine water using advanced oxidation and membrane-related processes: A review. *Minerals.* 11(3), 259. [10.3390/min11030259](https://doi.org/10.3390/min11030259).
- Sato, Y., Hamai, T., Masaki, Y., 2025. Comparaison des conditions opératoires et des compositions microbiennes dans un bioréacteur sulfato-réducteur alimenté à l'éthanol pour le traitement du drainage minier acide. *Mine Water Environ.* [10.1007/s10230-025-01025-4](https://doi.org/10.1007/s10230-025-01025-4).
- Sekula, P., Hiller, E., Šottník, P., Jurkovič, L., Klimko, T., Vozár, J., 2018. Removal of antimony and arsenic from circum-neutral mine drainage in Poproč, Slovakia: A field treatment system using low-cost iron-based material. *Environ. Earth Sci.* 77, 1–14. [10.1007/s12665-018-7700-3](https://doi.org/10.1007/s12665-018-7700-3).
- Sharp, Z., 2017. Principles of stable isotope geochemistry (2nd ed.). University of New Mexico. [10.25844/h9q1](https://doi.org/10.25844/h9q1).
- Shi, W., Song, W., Zheng, J., Luo, Y., Qile, G., Lü, S., He, J., 2021. Factors and pathways regulating the release and transformation of arsenic mediated by reduction processes of dissimilated iron and sulfate. *Sci. Total Environ.* 768, 144697. [10.1016/j.scitotenv.2020.144697](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144697).
- Shotyk, W., 1988. Review of the inorganic geochemistry of peats and peatland waters. *Earth-Sci. Rev.* 25(2), 95–176. [10.1016/0012-8252\(88\)90067-0](https://doi.org/10.1016/0012-8252(88)90067-0).

- Shotyk, W., Nesbitt, H.W., Fyfe, W.S., 1992. Natural and anthropogenic enrichments of trace metals in peat profiles. *Int. J. Coal Geol.* 20(2), 49–84. [10.1016/0166-5162\(92\)90004G](https://doi.org/10.1016/0166-5162(92)90004G).
- Siegel, D.I., Glaser, P.H., So, J., Janecky, D.R., 2006. The dynamic balance between organic acids and circumneutral groundwater in a large boreal peat basin. *J. Hydrol.* 320(3–4), 421–431. [10.1016/j.jhydrol.2005.07.046](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2005.07.046).
- Skousen, J.G., Zipper, C.E., Rose, A., Ziemkiewicz, P.F., Nairn, R., McDonald, L.M., Kleinmann, R.L., 2017. Review of passive systems for acid mine drainage treatment. *Mine Water Environ.* 36(1), 133–153. [10.1007/s10230-016-0417-1](https://doi.org/10.1007/s10230-016-0417-1).
- Smedley, P.L., Kinniburgh, D.G., 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.* 17(5), 517–568. [10.1016/S0883-2927\(02\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00018-5).
- Smerdon, B.D., Mendoza, C.A., 2010. Hysteretic freezing characteristics of riparian peatlands in the Western Boreal Forest of Canada. *Hydrological Processes: An International Journal*, Vol. 24(8), 1027–1038. [10.1002/hyp.7544](https://doi.org/10.1002/hyp.7544).
- Smieja-Król, B., Pawlyta, M., Kądziołka-Gaweł, M., Fiałkiewicz-Kozieł, B., 2022. Formation of Zn and Pb sulfides in a redox-sensitive modern system due to high atmospheric fallout. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 318, 126–143. [10.1016/j.gca.2021.11.018](https://doi.org/10.1016/j.gca.2021.11.018).
- SNC-Lavalin., 2019. Suivi et surveillance environnemental du site minier Éléonore en vertu du Certificat d'autorisation Global. Les mines Opinaca Ltée. Environnement et géosciences, Rapport final, 757 p.
- Sobolewski, A.B., Riese, A.C., Moore, T.J., Brown, A.R., 2022. Passive treatment of circumneutral mine drainage from the St. Louis mine tunnel, Rico CO: Part 3 – Horizontal wetlands treatment train pilot study. *Mine Water Environ.* 41(4), 886–905. [10.1007/s10230-022-00856-9](https://doi.org/10.1007/s10230-022-00856-9).
- Soda, S., Nguyễn, T.T., 2023. Classification of mine drainages in Japan based on water quality: Consideration for constructed wetland treatments. *Water.* 15(7), 1258. [10.3390/w15071258](https://doi.org/10.3390/w15071258).

- Sprague, D.D., Vermaire, J.C., 2018. Legacy arsenic pollution of lakes near Cobalt, Ontario, Canada: Arsenic in lake water and sediment remains elevated nearly a century after mining activity has ceased. *Water Air Soil Pollut.* 229, 1–16. [10.1007/s11270-018-3741-1](https://doi.org/10.1007/s11270-018-3741-1).
- Stantec., 2004. Review of water quality issues in neutral pH drainage: Examples and emerging priorities for the mining industry in Canada. MEND report 10.1, 58 p.
- Stosiek, N., Terebieniec, A., Ząbek, A., Młynarz, P., Cieśliński, H., Klimek-Ochab, M., 2019. N-phosphonomethylglycine utilization by the psychrotolerant yeast *Solicoocozyma terricola* M 3.1. 4. *Bioorg. Chem.* 93, 102866. [10.1016/j.bioorg.2019.03.040](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.03.040).
- Takeno, N., 2005. Atlas of Eh-pH diagrams. Geological survey of Japan open file report, 419(102), 285 p.
- Tan, K.L., Hameed, B.H., 2017. Insight into the adsorption kinetics models for the removal of contaminants from aqueous solutions. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 74, 25–48. [10.1016/j.jtice.2017.01.024](https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.01.024).
- Tassé, N., Isabel, D., Fontaine, R., 2002. Wood Cadillac mine tailings: Design of a biofilter for arsenic control. In *Mining and the Environment III*, 10 p.
- Thevenot, X.M., Roy, T., Pakostova, E., Rosa, E., Coudert, L., Neculita, CM., 2025a. Performance of field-pilot passive biofilters using peat and Fe-rich sludge to remove arsenic from neutral mine drainage under a subarctic climate. *Sci. Total Environ.* 993, 179984. [10.1016/j.scitotenv.2025.179984](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.179984).
- Thevenot, X.M., Roy, T., Pakostova, E., Rosa, E., Coudert, L., Neculita, CM., 2025b. Effect of temperature and mixture composition on arsenic removal from neutral mine drainage in passive biofilters using iron-rich sludge and peat. *Ecol. Eng.* 219, 107697. [10.1016/j.ecoleng.2025.107697](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2025.107697).
- Tsai, S.L., Singh, S., Chen, W., 2009. Arsenic metabolism by microbes in nature and the impact on arsenic remediation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20(6), 659–667. [10.1016/j.copbio.2009.09.013](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.09.013).
- Tum, S., Toda, K., Matsui, T., Kikuchi, R., Kong, S., Meas, P., Sato, T., 2022. Seasonal effects of natural attenuation on drainage contamination from artisanal gold mining, Cambodia:

- Implication for passive treatment. *Sci. Total Environ.* 806, 150398. [10.1016/j.scitotenv.2021.150398](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150398).
- Turcotte, S., Trépanier, S., Bussière, B., 2021. Restauration des sites miniers abandonnés au Québec : Un état de la situation et revue des solutions appliquées. In *Proc., Symposium 2021 sur l'environnement et les mines*, Rouyn-Noranda, Québec, 14–16 juin.
- URS, 2003. Passive and semi-active treatment of acid rock drainage from metal mines-state of the practice. Report prepared for U.S. army corps of engineers, Concord, Massachusetts, by United Research Services URS corporation, Portland, ME, USA, 20–186.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency)., 1992. Method 1311: Toxicity characteristic leaching procedure. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, 35 p.
- USEPA., 1994. Method 1312: Synthetic precipitation leaching procedure. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, 30 p.
- USEPA., 2007. Method 3051A. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, and oils. Washington, DC, USA, 1-30.
- USEPA., 2014. USEPA's office of superfund remediation and technology innovation reference guide to treatment technologies for mining-influenced water (EPA 542-R-14-001).
- Valkanas, M.M., Rosso, T., Packard, J. E., Trun, N.J., 2021. Limited carbon sources prevent sulfate remediation in circumneutral abandoned mine drainage. *FEMS Microbiol. Ecol.* 97(2), fiae262. [10.1093/femsec/fiae262](https://doi.org/10.1093/femsec/fiae262).
- Van Stempvoort, D.R., Reardon, E.J., Fritz, P., 1990. Fractionation of sulfur and oxygen isotopes in sulfate by soil sorption. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 54(10), 2817–2826. [10.1016/0016-7037\(90\)90016-E](https://doi.org/10.1016/0016-7037(90)90016-E).
- Vasquez, Y., Escobar, M.C., Saenz, J.S., Quiceno-Vallejo, M.F., Neculita, C.M., Arbeli, Z., Roldan, F., 2018. Effect of hydraulic retention time on microbial community in biochemical passive reactors during treatment of acid mine drainage. *Bioresour. Technol.* 247, 624–632. [10.1016/j.biortech.2017.09.148](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.148).

- Verbuyst, B.R., Pakostova, E., Paktunc, D., Bain, J.G., Finfrock, Y.Z., Saurette, E.M., Blowes, D.W., 2024. Microbiological and geochemical characterization of As-bearing tailings and underlying sediments. *J. Hazard. Mater.* 466, 133554. [10.1016/j.jhazmat.2024.133554](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.133554).
- Viacava, K., Meibom, K.L., Ortega, D., Dyer, S., Gelb, A., Falquet, L., Bernier-Latmani, R., 2020. Variability in arsenic methylation efficiency across aerobic and anaerobic microorganisms. *Environ. Sci. Technol.* 54(22), 14343–14351. [10.1021/acs.est.0c03908](https://doi.org/10.1021/acs.est.0c03908).
- Vitòria, L., Otero, N., Soler, A., Canals, A., 2004. Fertilizer characterization: Isotopic data (N, S, O, C, and Sr). *Environ. Sci. Technol.* 38(12), 3254–3262. [10.1021/es0348187](https://doi.org/10.1021/es0348187).
- Vymazal, J., 2011. Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow: A review. *Hydrobiologia*. 674(1), 133–156. [10.1007/s10750-011-0738-0](https://doi.org/10.1007/s10750-011-0738-0).
- Wainwright, M., 1984. Sulfur oxidation in soils. *Adv. Agron.* 37, 349–396.
- Wang, H., Zhang, Q., 2019. Research advances in identifying sulfate contamination sources of water environment by using stable isotopes. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 16, 1914. [10.3390/ijerph16111914](https://doi.org/10.3390/ijerph16111914).
- Wang, S., Mulligan, C.N., 2006. Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior and distribution. *Sci. Total Environ.* 366(2), 701–721. [10.1016/j.scitotenv.2005.09.005](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.005).
- Wang, S., Mulligan, C.N., 2009. Enhanced mobilization of arsenic and heavy metals from mine tailings by humic acid. *Chemosphere*. 74(2), 274–279. [10.1016/j.chemosphere.2008.09.040](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.040).
- Wang, S., Sun, W., Huang, J., Zhai, S., 2023. S, Pb, and Fe isotope compositions of sulfides in middle and southern Okinawa Trough: Implying the complicated hydrothermal systems in back-arc spreading centers. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 104006. [10.1016/j.dsr.2023.104006](https://doi.org/10.1016/j.dsr.2023.104006).

- Wang, Y., Le Pape, P., Morin, G., Asta, M.P., King, G., Bártová, B., Bernier-Latmani, R., 2018. Arsenic speciation in Mekong Delta sediments depends on their depositional environment. *Environ. Sci. Technol.* 52(6), 3431–3439. [10.1021/acs.est.7b05412](https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05412).
- Wang, Y., Pleasant, S., Jain, P., Powell, J., Townsend, T., 2016. Calcium carbonate-based permeable reactive barriers for iron and manganese groundwater remediation at landfills. *Waste Manag.* 53, 128–135. [10.1016/j.wasman.2016.04.019](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.04.019).
- Wang, Y., Wang, H., He, J.S., Feng, X., 2017. Iron-mediated soil carbon response to water-table decline in an alpine wetland. *Nat. Commun.* 8, 15972. [10.1038/ncomms15972](https://doi.org/10.1038/ncomms15972).
- Wang, Z., Gui, H., Luo, Z., Zhen, Z., Yan, C., Xing, B., 2019. Dissolved organic phosphorus enhances arsenate bioaccumulation and biotransformation in *Microcystis aeruginosa*. *Environ. Pollut.* 252, 1755–1763. [10.1016/j.envpol.2019.06.102](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.102).
- Warrender, R., Pearce, N.J.G., Perkins, W.T., Florence, K.M., Brown, A.R., Sapsford, D.J., Dey, M., 2011. Field trials of low-cost reactive media for the passive treatment of circum-neutral metal mine drainage in Mid-Wales, UK. *Mine Water Environ.* 30(2), 82–89. [10.1007/s10230-011-0145-3](https://doi.org/10.1007/s10230-011-0145-3).
- Watts, M.J., O'Reilly, J., Marcilla, A.L., Shaw, R.A., Ward, N.I., 2010. Field-based speciation of arsenic in UK and Argentinean water samples. *Environ. Geochem. Health.* 32, 479–490. [10.1007/s10653-010-9321-y](https://doi.org/10.1007/s10653-010-9321-y).
- Wolkersdorfer, C., 2022. Mine water treatment: Active and passive methods. Springer. [10.1007/978-3-662-65770-6](https://doi.org/10.1007/978-3-662-65770-6).
- Xiao, Z., Xie, X., Pi, K., Gong, J., Wang, Y., 2023. Effects of arsenic–iron–dissolved organic matter interactions on arsenic mobilization: insight from column experiments. *Journal of Hydrology*, Vol. 616, 128837. [10.1016/j.jhydrol.2022.128837](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2022.128837).
- Yang, C., Li, S., Liu, R., Sun, P., Liu, K., 2015. Effect of reductive dissolution of iron (hydr)oxides on arsenic behavior in a water–sediment system: First release, then adsorption. *Ecol. Eng.* 83, 176–183. [10.1016/j.ecoleng.2015.06.018](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.06.018).

- Yim, G., Ji, S., Cheong, Y., Neculita, C.M., Song, H., 2015. The influences of the amount of organic substrate on the performance of pilot-scale passive bioreactors for acid mine drainage treatment. *Environ. Earth Sci.* 73, 4717–4727. [10.1007/s12665-014-3721-6](https://doi.org/10.1007/s12665-014-3721-6).
- Yin, S., Zhang, X., Yin, H., Zhang, X., 2022. Current knowledge on molecular mechanisms of microorganism-mediated bioremediation for arsenic contamination: A review. *Microbiol. Res.* 126990. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.126990>.
- Yin, X., Fenton, N. J., Nagati, M., Jean, M., Morency, M. J., Gagné, P., Martineau, C., 2024. Characterizing gold mining offsite effects on soil physicochemical properties and microbial diversity in boreal forest. SSRN 4884780.
- Zhang, M., Wang, H., 2014. Organic wastes as carbon sources to promote sulfate reducing bacterial activity for biological remediation of acid mine drainage. *Miner. Eng.* 69, 81–90. [10.1016/j.mineng.2014.07.003](https://doi.org/10.1016/j.mineng.2014.07.003)
- Zhu, Y.N., Zhang, X.H., Xie, Q.L., Wang, D.Q. Cheng, G.W., 2006. Solubility and stability of calcium arsenates at 25°C. *Water, Air, and Soil Pollution*, Vol. 169, 221–238. [10.1007/s11270-006-2099-y](https://doi.org/10.1007/s11270-006-2099-y).