



FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA EN MEDIOAMBIENTE  
INGENIERÍA AMBIENTAL

**PROPUESTA TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN  
FÚNGICA DE SUELOS CONTAMINADOS POR  
METALES PESADOS EN LA REGIÓN DE ATACAMA.**

TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
INGENIERA AMBIENTAL

PROFESOR GUÍA DR. HERNÁN GAETE OLIVARES

PROFESOR GUÍA DR. HUGO DÍAZ MURILLO

AUTORA DANIELA FERNANDA PAZ PAZ

**VALPARAÍSO, 2022**

---

## RESUMEN

Atacama es una de las regiones de Chile con más alta actividad minera, lo que ha condicionado el territorio a las actividades que se gestan en la zona, la cual se ve afectada en gran parte por los relaves circundantes a la población.

El objetivo general es generar una propuesta técnica para la biorremediación de suelos afectados por metales pesados en algunos sectores de la Región de Atacama, mediante el empleo de hongos basidiomicetos, para ello se realizó una caracterización fisicoquímica de los suelos en la zona de estudio, se seleccionó la técnica y se realizó un estudio exploratorio de biorremediación que permitió determinar la capacidad de captación de cobre y hierro de hongos, esto con el fin de proponer un diseño técnico de biorremediación de suelos afectados por metales pesados en determinados sectores de la Región de Atacama empleando los hongos basidiomicetos seleccionados y finalmente se determinan los costos. Los resultados son los siguientes, los suelos se caracterizan por tener una temperatura de 28,7°C, una humedad de 0,6-8,3% de humedad, 7,55-7,18 de pH. La técnica seleccionada es una adaptación del método de Coello (2012), los hongos que mayor acumulación tuvieron fue el *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete sórdida* para el cobre, y *P. ostreatus* y *Trametes versicolor* para el hierro. El suelo con mayor cantidad de metal presentó la mayor concentración de cobre en la biomasa que lo trataba. Los costos de proceso de la biorremediación más conveniente para 100 m<sup>2</sup> es \$47.955.121,6 de manera in situ.

---

## ÍNDICE GENERAL

|   |      |
|---|------|
| RESUMEN .....                                 | i    |
| ÍNDICE GENERAL .....                          | ii   |
| ÍNDICE DE TABLAS .....                        | v    |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....                       | vii  |
| GLOSARIO.....                                 | viii |
| ACRÓNIMOS.....                                | x    |
| 1 INTRODUCCIÓN .....                          | 1    |
| 1.1 PROBLEMA HUMANO-INDUSTRIA.....            | 1    |
| 1.2 GENERACIÓN DE IMPACTOS DE LA MINERÍA..... | 4    |
| 1.3 AGENTES DE DISPERSIÓN .....               | 9    |
| 1.3.1 Dirección y velocidad del viento .....  | 10   |
| 1.4 SUELOS .....                              | 11   |
| 1.4.1 Textura .....                           | 14   |
| 1.5 METALES PESADOS.....                      | 14   |
| 1.6 LEGISLACIÓN Y NORMATIVAS.....             | 15   |
| 1.7 REMEDIACIÓN .....                         | 18   |
| 1.8 HONGOS.....                               | 21   |
| 2 PROBLEMA .....                              | 26   |
| 3 OBJETIVOS.....                              | 27   |
| 3.1 OBJETIVO GENERAL.....                     | 27   |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....               | 27   |
| 4 MATERIALES Y MÉTODOS.....                   | 27   |
| 4.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUELO .....           | 28   |
| 4.1.1 Caracterización general del área .....  | 29   |

---

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 4.1.2 | Parámetros físicos .....                                    | 29 |
| 4.1.3 | Parámetros químicos .....                                   | 31 |
| 4.2   | SELECCIONAR LA TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN .....             | 32 |
| 4.2.1 | Selección de la técnica de biorremediación .....            | 32 |
| 4.2.2 | Comparación de organismos basidiomicetos competentes .....  | 34 |
| 4.2.3 | Requerimientos de la seta .....                             | 34 |
| 4.2.4 | Obtención de cepas .....                                    | 35 |
| 4.2.5 | Aislamiento y mantenimiento de las cepas .....              | 36 |
| 4.2.6 | Ensayo determinación de la biomasa .....                    | 37 |
| 4.2.7 | Ensayo biorremediación .....                                | 38 |
| 4.2.8 | Contenido de metales pesados en la biomasa .....            | 40 |
| 4.3   | DISEÑAR PROCEDIMIENTO DE BIORREMEDIACIÓN .....              | 41 |
| 4.3.1 | Diseño de la propuesta .....                                | 43 |
| 4.3.2 | Plan de seguimiento .....                                   | 47 |
| 4.4   | DETERMINACIÓN DE COSTOS .....                               | 47 |
| 4.4.1 | Insumos .....   | 47 |
| 4.4.2 | Requerimientos energéticos .....                            | 47 |
| 4.4.3 | Requerimientos hídricos .....                               | 48 |
| 4.4.4 | Requerimientos humanos .....                                | 48 |
| 5     | RESULTADOS .....  | 48 |
| 5.1   | OBJETIVO 1. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO .....                 | 48 |
| 5.1.1 | Caracterización general del área .....                      | 48 |
| 5.1.2 | Parámetros físicos .....                                    | 50 |
| 5.1.3 | Parámetros químicos .....                                   | 52 |
| 5.2   | OBJETIVO 2. SELECCIONAR LA TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN ..... | 55 |

---

|       |  |     |
|-------|--|-----|
| 5.2.1 | Selección de la técnica de biorremediación.....            | 55  |
| 5.2.2 | Comparación de organismos basidiomicetos competentes ..... | 57  |
| 5.2.3 | Requerimientos de la seta .....                            | 59  |
| 5.2.4 | Ensayo determinación de la biomasa .....                   | 60  |
| 5.2.5 | Ensayo biorremediación .....                               | 61  |
| 5.2.6 | Contenido de metales pesados en la biomasa.....            | 74  |
| 5.3   | OBJETIVO 3. DISEÑAR PROCEDIMIENTO DE BIORREMEDIACIÓN ..... | 79  |
| 5.3.1 | Diseño de la propuesta .....                               | 79  |
| 5.3.2 | Plan de seguimiento .....                                  | 90  |
| 5.4   | OBJETIVO 4. DETERMINACIÓN DE COSTOS .....                  | 93  |
| 5.4.1 | Insumos .....  | 93  |
| 5.4.2 | Requerimientos energéticos.....                            | 95  |
| 5.4.3 | Requerimientos hídricos.....                               | 96  |
| 5.4.4 | Requerimientos recursos humanos .....                      | 96  |
| 5.4.5 | Costos totales .....                                       | 97  |
| 6     | DISCUSIÓN.....   | 97  |
| 7     | CONCLUSIÓN.....  | 102 |
| 8     | BIBLIOGRAFÍA .....   | 103 |
| 9     | ANEXOS.....  | 109 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.1</b> Impacto ambiental de la minería según componente (GRN, 2015).....  | 4  |
| <b>Tabla 1.2</b> Comportamientos de los contaminantes en el aire, agua y suelo (Moriarty, 1990). .....                      | 10 |
| <b>Tabla 1.3</b> Composición química en suelos de la región de Atacama. (Fuente Nazer <i>et al.</i> , 2016)....             | 13 |
| <b>Tabla.1.4</b> Normativa ambiental de Chile y manera en que se aplica. ....   | 16 |
| <b>Tabla 1.5</b> Directivas de Kelley para clasificación de suelos contaminados (SAG, 2005). .....                          | 17 |
| <b>Tabla 1.6</b> Límite máximo de cobre según Ley Federal Alemana (European commission, 2001). .....                        | 17 |
| <b>Tabla 1.7</b> Concentración máxima permitida de cobre en suelos agrícolas en norma de lodos<br>NCh2952c (INN, 2004)..... | 18 |
| <b>Tabla 4.1</b> Clasificación del suelo con respecto al pH de la solución del suelo (MOPT, 1992) .....                     | 30 |
| <b>Tabla 4.2</b> Comparación de criterios y técnicas. ....  | 33 |
| <b>Tabla 4.3</b> Comparación entre los hongos.....  | 34 |
| <b>Tabla 4.4</b> Requerimientos del hongo seleccionado.....   | 35 |
| <b>Tabla 4.5</b> Comparación entre las características del suelo y los requerimientos del hongo. ....                       | 39 |
| <b>Tabla 4.6</b> Ficha para rellenar el diagnóstico de biorremediación.....   | 44 |
| <b>Tabla 5.1</b> Porcentaje de humedad presente en los suelos de estudio. ....  | 51 |
| <b>Tabla 5.2</b> Promedio del pH en las muestras de suelo.....  | 51 |
| <b>Tabla 5.3</b> Clasificación del suelo con respecto al pH de la solución del suelo (MOPT, 1992) .....                     | 52 |
| <b>Tabla 5.4</b> Distribución porcentual química del suelo control, determinado mediante análisis FRX<br>Suelo control..... | 54 |
| <b>Tabla 5.5</b> Distribución porcentual química del suelo control, determinado mediante análisis FRX<br>Suelo 1.....       | 54 |
| <b>Tabla 5.6</b> Distribución porcentual química del suelo control, determinado mediante análisis FRX<br>Suelo 2.....       | 54 |
| <b>Tabla 5.7</b> Documentos preseleccionados para el método de biorremediación .....  | 55 |
| <b>Tabla 5.8</b> Comparación de los documentos y sus técnicas en base a la disponibilidad y al costo....                    | 57 |
| <b>Tabla 5.9</b> Comparación entre los hongos.....  | 57 |
| <b>Tabla 5.10</b> Requerimientos del hongo seleccionado.....  | 60 |
| <b>Tabla 5.11</b> Determinación de la biomasa obtenida en 12 días.....  | 60 |
| <b>Tabla 5.12</b> Pesos húmedos y secos a los 12 días y determinación de la biomasa gramos por días..                       | 60 |
| <b>Tabla 5.13</b> Comparación entre las características del suelo y los requerimientos del hongo. ....                      | 61 |

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 5.14</b> Hoja de diagnóstico de la biorremediación 1. ....                | 79 |
| <b>Tabla 5.15</b> Hoja de diagnóstico de la biorremediación 2. ....                | 81 |
| <b>Tabla 5.16</b> Hoja de producción de la biorremediación 1. ....                 | 83 |
| <b>Tabla 5.17</b> Hoja de producción de la biorremediación 2. ....                 | 86 |
| <b>Tabla 5.18</b> Plan de seguimiento actividades producción de tela .....         | 90 |
| <b>Tabla 5.19</b> Plan de seguimiento actividades biorremediación in situ. ....    | 91 |
| <b>Tabla 5.20</b> Plan de seguimiento actividades biorremediación ex situ. ....    | 92 |
| <b>Tabla 5.21</b> Costos insumos de laboratorio para la producción del hongo. .... | 93 |
| <b>Tabla 5.22</b> Costo de los materiales para la biorremediación in situ. ....    | 94 |
| <b>Tabla 5.23</b> Costo de materiales para biorremediación ex situ. ....           | 95 |
| <b>Tabla 5.24</b> Gasto energético equipos laboratorio. ....                       | 95 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.1</b> "Mapa de proyectos sometidos al SEIA". Localización representativa de los proyectos o actividades mineras sometidos a evaluación ambiental, cuya localización ha sido validada por el Servicio de Evaluación Ambiental (SEA). ..... | 4  |
| <b>Figura 1.2</b> Mapa de distribución de relaves en Copiapó. (SERNAGEOMIN, 2022).....  | 7  |
| <b>Figura 1.3</b> Mapa de distribución de relaves en Tierra Amarilla. (SERNAGEOMIN, 2022) .....   | 8  |
| <b>Figura 1.4</b> Rosa de los vientos de la estación meteorológica del Desierto de Atacama (Dirección Meteorológica de Chile, 2022) .....   | 11 |
| <b>Figura 1.5</b> Diversos tipos de esporas fúngicas o conidios de reproducción asexual (Fuente Alexopoulos, C.et al, 1985).....  | 21 |
| <b>Figura 1.6</b> Fases sucesivas del crecimiento de un ápice hifal, dibujadas en intervalos de media hora de <i>Gelasinospora autosteira</i> . (Fuente Alexopoulos, C.et al, 1985).....  | 22 |
| <b>Figura 1.7</b> Basidiomycetes y su ciclo sexual (Fuente Alexopoulos, C.et al, 1985).....   | 24 |
| <b>Figura 4.1</b> Esquema metrológico realizado en el presente trabajo .....  | 28 |
| <b>Figura 4.2</b> Árbol de decisiones para la selección del documento de referencia.....  | 33 |
| <b>Figura 4.3</b> Esquema del procedimiento de inoculación .....  | 36 |
| <b>Figura 4.4</b> Procedimiento Tratamiento A .....   | 39 |
| <b>Figura 4.5</b> Procedimiento Tratamiento B .....   | 40 |
| <b>Figura 4.6</b> Modelo conceptual diseño de la propuesta de biorremediación fúngica. ....   | 43 |
| <b>Figura 5.1</b> Mapa de la ubicación de las comunas de Tierra Amarilla y Copiapó. ....  | 49 |
| <b>Figura 5.2</b> Ubicación de los puntos de muestreo en la ciudad de Copiapó. ....   | 50 |
| <b>Figura 5.3</b> Promedio y desviación estándar de la concentración de cobre en los suelos de estudio. ....  | 53 |
| <b>Figura 5.4</b> Promedio y desviación estándar de la concentración de hierro en los suelos de estudio .....   | 53 |
| <b>Figura 5.5</b> Crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> en suelo control a 60 días método experimental A en 1X. ....  | 62 |
| <b>Figura 5.6</b> Crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> en suelo 1 a 60 días método experimental A en 1X. ....  | 63 |
| <b>Figura 5.7</b> Crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> en suelo 2 a 60 días método experimental A en 4X. ....  | 64 |

**Figura 5.8** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo control a 60 días método experimental A en 2X. ....65

**Figura 5.9** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 1 a 60 días método experimental A en 1X. ....66

**Figura 5.10** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 1 a 60 días método experimental A en 4X. ....67

**Figura 5.11** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 2 a 60 días método experimental A en 2X. ....68

**Figura 5.12** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 2 a 60 días método experimental A en 4X. ....69

**Figura 5.13** Tratamiento B donde se ve el hongo en tratamiento en conjunto con el suelo. ....70

**Figura 5.14** Tratamiento B a los 10 días de *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete sordida*. ....71

**Figura 5.15** Experimento B a los 10 días de *Phanerochaete chrysosporium* y *Trametes versicolor*. 72

**Figura 5.16** Tratamiento B a los 20 días con todos los hongos y en los distintos suelos. ....73

**Figura 5.17** Concentración de cobre captado por los hongos en función del tiempo, a 10 y 20 días, y en tres suelos distintos .....74

**Figura 5.18** Porcentaje de cobre captado por el hongo en los distintos suelos tratados y en distintos tiempos de análisis. ....75

**Figura 5.19** Porcentaje de hierro captado por el hongo en los distintos suelos tratados y en distintos tiempos de análisis. ....76

**Figura 5.20** Vista aérea del relave de donde se sacó el suelo 1.....80

**Figura 5.21** Distancia desde el Suelo 1 a la ciudad de Copiapó .....81

**Figura 5.22** Vista aérea del relave de donde se sacó el suelo 2.....82

**Figura 5.23** Distancia desde el Suelo 1 a la ciudad de Copiapó .....83

GLOSARIO

|                 |  |
|-----------------|--|
| Metales pesados | Son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad alta.<br>Son en general tóxicos para los seres humanos y entre los más |
|-----------------|--|

|   |   |
|---|---|
|   | susceptibles de presentarse en el agua destacamos mercurio, níquel, cobre, plomo y cromo.   |
| Remediación   | Reducción del riesgo a la salud humana y/o medio ambiente a niveles aceptables. La forma e intensidad de la intervención quedará establecida en función del tipo y detalle de la evaluación de riesgo realizada en el sitio.  |
| Biorremediación   | Técnica para la remediación de carácter biológico, ya que aprovecha el potencial metabólico de los organismos vivos como bacterias y hongos para la descontaminación.<br><br>Los procesos más utilizados en remediación son la sorción, precipitación, lixiviación y volatilización.                        |
| Biosorción  | Utilizado para referirse a la captación de metales que lleva a cabo una biomasa completa (viva o muerta), a través de mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico. Cuando se utiliza biomasa viva, los mecanismos metabólicos de captación también pueden contribuir en el proceso. |
| Himenóforo  | Un himenóforo se refiere a la estructura portadora de himenio de un cuerpo fructífero fúngico. Los himenóforos pueden ser superficies lisas, laminillas, pliegues, tubos o dientes. El término fue acuñado por Robert Hooke en 1665.  |
| Suelos con Presencia de Contaminantes (SPC)                         | Lugar delimitado geográficamente que mediante una evaluación de riesgo ambiental se ha determinado que existe nivel de riesgo relevante para las personas o al medio ambiente.  |
| Suelos con Potencial Presencia de Contaminantes (SPPC)              | Lugar o terreno delimitado geográficamente en el que se desarrollan o han desarrollado actividades potencialmente contaminantes. Incluye a suelos abandonados y activos o en operación.   |
| Suelos Abandonados con Potencial Presencia de Contaminantes (SAPPC) | Lugar o terreno delimitado geográficamente que ha sido impactado ambientalmente por una actividad potencialmente contaminante que ha cesado sin la implementación de una adecuada fase de cierre. (Res. Ex. N° 1.690/2011).   |

|  |  |
|--|--|
| Suelos Abandonados con Presencia de Contaminantes (SAPC) | Lugar o terreno delimitado geográficamente donde, mediante una evaluación de riesgo ambiental se ha determinado que existe un nivel de riesgo relevante comprometiendo el orden público, respecto del cual no es posible hacer efectiva la responsabilidad de quien lo causó. (Res. Ex. Nº 1.690/2011).                    |
| Suelos trumaos   | El Trumao es un suelo muy poroso, con densidades aparentes bajas pero que se va incrementando con la profundidad. En estado seco se comporta de manera muy esponjosa, mientras que, en condiciones húmedas, de forma grasosa y jabonosa. Es característico de estos suelos tener un pH cercano a 5,6 (Ellies et al. 1993). |
| Metodología de Absorción Atómica                         | Técnica instrumental donde los átomos presentes en la llama absorben parte de la radiación, por lo que la señal disminuye y ese dato es lo que mide el detector, el cual es transformado en una concentración final.   |
| Beaker   | Es un vaso de precipitado cilíndrico de vidrio borosilicato fino que se usa en laboratorio para preparar o calentar sustancias, medir o traspasar líquidos.  |

## ACRÓNIMOS

|      |  |
|------|--|
| SEIA | Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental |
| SEA  | Servicio de Evaluación Ambiental           |
| EIA  | Evaluación de Impacto Ambiental            |

|      |   |
|------|---|
| DIA  | Declaración de Impacto Ambiental              |
| SPC  | Suelos con Presencia de Contaminantes         |
| SPPC | Suelos con Posible Presencia de Contaminantes |
| MP   | Material Particulado                          |
| BCN  | Biblioteca del Congreso Nacional              |
| Pe   | - log de la actividad de los electrones       |
| C    | Carbono                                       |
| Cu   | Cobre   |
| O    | Oxígeno                                       |
| H    | Hidrógeno                                     |
| N    | Nitrógeno                                     |
| P    | Fósforo                                       |
| K    | Potasio                                       |
| Mg   | Magnesio                                      |
| S    | Azufre  |
| B    | Boro  |
| Mn   | Manganeso                                     |
| Mo   | Molibdeno                                     |
| Fe   | Hierro  |
| Zn   | Zinc  |
| As   | Arsénico                                      |
| PO   | <i>Pleurotus ostreatus</i>                    |
| PS   | <i>Phanerochaete sórdida</i>                  |
| PC   | <i>Phanerochaete chrysosporium</i>            |
| TV   | <i>Trametes versicolor</i>                    |

## 1 INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la sociedad ha llevado en gran medida a la contaminación del aire, del agua y de los suelos. Minimizar la carga de contaminantes no siempre ha sido prioridad, y en estos tiempos donde el progreso social avanza y la población crece, es inevitable observar un incremento en la contaminación que se genera debido a la necesidad de sustentar las actividades del humano. La escasez de los recursos, y su disponibilidad, es un factor importante para el desarrollo integral de la población y si a esto se le suma la calidad asociada a las actividades antropogénicas presentes en la cuenca, donde existen varios sucesos que no han sido tomados en cuenta, como el correcto cierre de faenas con actividades de remediación. Podemos asumir entonces que no existen las mejores condiciones para vivir en un ambiente libre de contaminación y que vele por la protección del medio ambiente.

La Ley de Cierre de Faenas y Actividades Mineras desde el 2011 regula el cierre de faenas, pero existen muchas industrias y actividades desde antes de la promulgación de la ley que no están siendo reguladas, surgiendo los pasivos ambientales mineros, debido a que antes del 2011 no existen obligaciones por ley de realizar el correcto cierre de faenas (BCN, 2011).

En este contexto, surge la necesidad de llevar a cabo la remediación de los suelos afectados por metales pesados. Existen distintos tipos de remediaciones, ya sea química o biológica, donde lo que busca es volver a un estado menos alterado y llevarlo a sus condiciones óptimas (FUNDACIÓN CHILE, 2015)

En este trabajo se busca tratar un suelo contaminado mediante biorremediación de metales pesados a través de la utilización de hongos basidiomicetos, para llevar a cabo una propuesta técnica que logre remediar los suelos contaminados, considerando los costes económicos implicados.

### 1.1 PROBLEMA HUMANO-INDUSTRIA

Con el desarrollo de las tecnologías para el cultivo y la utilización de fibras animales y vegetales para abrigarse, vestirse y alimentarse, se logró el traslado de las comunidades para asentarse y para buscar materiales para llevar a cabo nuevos productos, utilizando la materia disponible, como los minerales. Los

cuales les permitieron fabricar armas, herramientas y distintos utensilios. Así, el atacameño se hizo minero.

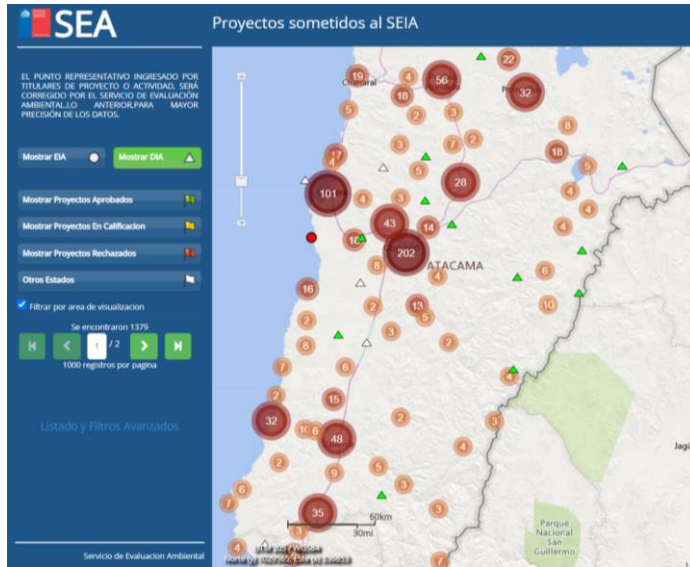
Con la creciente explotación de nuevos yacimientos, se incrementa la demanda de recurso vegetal, del combustible, materiales para construcción, mayor requerimiento de mano de obra, y animales de carga debido al aumento de la distancia por la distribución que dependen de la disponibilidad de forraje. Debido a las sequías y las lluvias intermitentes, casi la totalidad de los suelos con acceso al riego se destinaron a la producción de forraje, teniendo así que importar la mayoría de los alimentos para la población atacameña, situación que al incrementarse las épocas de buena bonanza de la minería irían en desmedro del desarrollo agrícola regional (Sayago 1973).

Carlos Sayago en “Historia de Copiapó” describe el siglo XIX marcado por la independencia, donde fruto de la revolución industrial, la minería entre 1830 y 1920 se caracterizó por una explotación más intensiva que en otros años. Camus (2006) dicta que *“la presión sobre los recursos vegetales del Norte Chico se intensificó aún más durante las primeras décadas del siglo XIX con los descubrimientos de los minerales de la plata de Agua Amarga en 1815, Arqueros en 1825, Chañarcillo en 1932 y Tres Puntas en 1848... Vicuña Mackenna afirmaba que la introducción de los hornos de reverbero de Carlos Lambert permitió la obtención de cobre a través de sulfuros... Pero, por su alta demanda de combustible, el horno de reverbero habría producido la destrucción casi total de los recursos vegetales y paisajísticos del Norte Chico chileno entre 1832 y 1851.”* La explotación minera lleva así a nuevas oportunidades de desarrollo tecnológico y cultural, la construcción del ferrocarril de Copiapó, el alumbrado público, además se realizaron importantes aportes intelectuales a la minería regional desde la fundación de la Escuela de Minas, consolidando su vocación productiva (Camus, 2006).

La alta demanda de los yacimientos del oro, la plata y los filones de cobre explotados en años anteriores fueron agotados en gran cantidad hacia fines del siglo XIX. Existe una gran reserva de cobre, principalmente en la cordillera de la provincia de Chañaral. Donde a inicios del siglo XX llega Andes Copper Mining Co. que es una empresa transnacional interesada en explotar el sector de Potrerillos lo que en 1940 resultó con el agotamiento del mineral de Potrerillos. Luego, proceden a su expansión en busca de

la explotación de nuevos territorios, lo que lo lleva cuatro años más tarde a la explotación del mineral de El Salvador, que durante 50 años descargó entre 30.000 y 35.000 toneladas diarias de residuos de relaves directamente a la bahía de Chañaral, generando la acumulación de cobre y el depósito de sedimentos con arena y metales pesados afectando distintas especies marinas. Donde recién en 1990 un fallo de tribunales determina que la mina debe instalar un tranque de relaves y una planta de tratamiento de aguas residuales. Y este es solo un ejemplo de mineras que han buscado hurgar el territorio hasta agotar el recurso y no satisfechos con ello buscan la exploración de nuevos yacimientos para explotar, lo cual no queda exento de cierta generación de impactos ambientales de carácter negativo sobre el medio ambiente (Campos-Ortega, 2008).

Actualmente existen varios proyectos sometidos al SEIA bajo EIA o DIA, donde la mayoría de estos son provenientes de la actividad minera. Cómo se puede observar en la figura 1.1 existen alrededor de 1379 proyectos o actividades que han ingresado al SEIA como aprobados, en calificación, rechazados o en otro estado. Y la mayor concentración de éstos está en la ciudad de Copiapó, según el SEA. Debido a esto es tan importante tener consideración con la población que circunda este hábitat, debido a que están expuestos a los impactos asociados a las actividades que le rodean, la acumulación de los contaminantes debido a la alta concentración de industrias, y el mal manejo de éstos puede llevar a un deterioro de la calidad de vida de la población. Tema importante, porque si bien es necesario mantener la economía y el sustento de Chile en la minera, también es fundamental velar por el bienestar de los ciudadanos y biodiversidad presente en la zona. Ya que estos son los residentes del lugar y no vale la pena el deterioro de las condiciones ambientales por el beneficio monetario que implica la actividad minera. O si bien van a seguir haciéndose estas actividades extractivas, entonces queda generar un mayor nivel de conciencia al momento de llevar a cabo las actividades y hacer un llamado a no depositar los relaves cerca de la población, para que estas actividades no impacten de manera significativa la calidad de vida de los residentes permanentes de la zona. Según el reporte del mes de enero de 2021 del departamento de gestión de proyectos del Ministerio de Minería, la región con mayor inversión minera que ya cuenta con aprobación ambiental es Atacama, donde existen 39 proyectos en esta fase por un total de US\$7.275 millones. A esta región le sigue Antofagasta, con 30 proyectos por US\$12.228 millones, y Coquimbo, con 8 proyectos por US\$3.291 millones (Sustentable S.a., 2021).



**Figura 1.1** "Mapa de proyectos sometidos al SEIA". Localización representativa de los proyectos o actividades mineras sometidos a evaluación ambiental, cuya localización ha sido validada por el Servicio de Evaluación Ambiental (SEA).

## 1.2 GENERACIÓN DE IMPACTOS DE LA MINERÍA

El impacto ambiental es una modificación que causa una acción humana sobre el ambiente. Cada fase trae consigo distintos impactos ambientales, sobre el suelo, la atmósfera, sobre las aguas, sobre el paisaje, la flora, fauna, fungi e impactos de ruidos y vibraciones. Los cuales se presentan en la siguiente Tabla 1.1.

**Tabla 1.1** Impacto ambiental de la minería según componente (GRN, 2015)

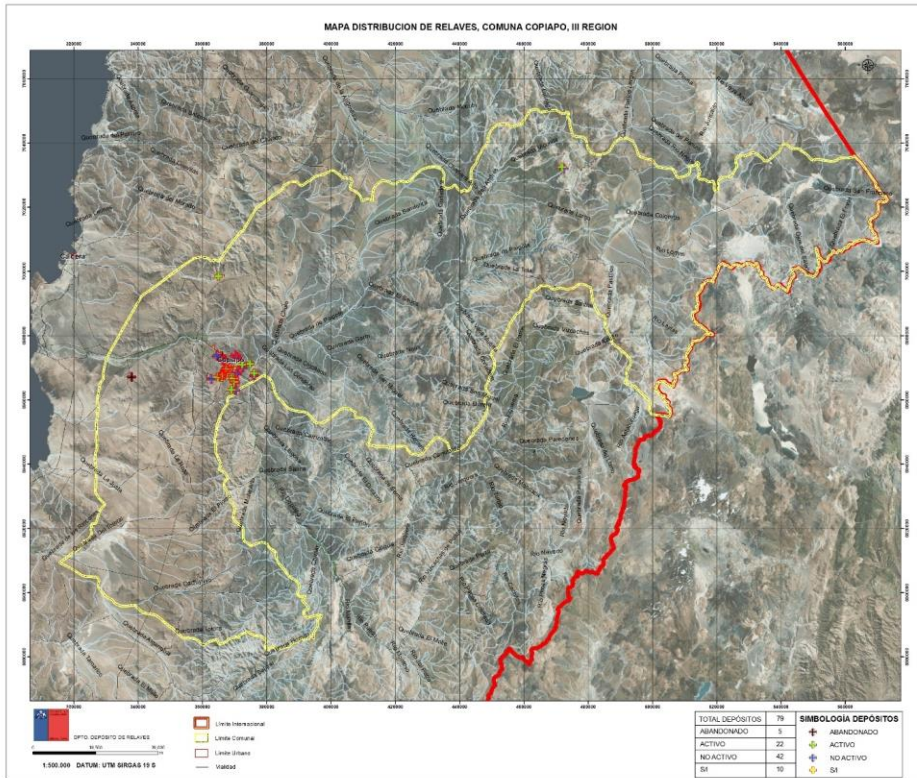
| Componente | Impacto Ambiental   |
|------------|---|
| Suelo      | Pérdida de horizontes edáficos<br>Cambio en la morfología del lugar<br>Pérdida de estabilidad de taludes<br>Erosión |

|                     | Desertificación   |
|---------------------|---|
| Atmósfera           | Emisión de gases a la atmósfera<br>Polvo producto de la maquinaria<br>Perforaciones<br>Tronaduras<br>Transporte<br>Acopio de material                       |
| Aguas               | Alteración del caudal hídrico<br>Transporte de desechos a través de mineraductos<br>Deposición de desechos en quebradas<br>Muros para contención de relaves |
| Paisaje             | Impacto visual<br>Deposición de desechos en pilas o relaves   |
| Biodiversidad       | Disminución de especies de flora, fauna y fungi<br>Utilización de grandes extensiones del territorio para extracción de minerales.                          |
| Ruido y Vibraciones | Actividades de tronadura<br>Excavaciones<br>Operación de máquinas   |

Los proyectos mineros son actividades que tienen distintas fases, entre ellos la exploración del mineral metálico, la operación y termina con el periodo de cierre de faena minera, el cual, si bien ahora tiene una ley aplicable, antes de 2011 no existía regulación al respecto. Esta alteración provocada directa o indirectamente por los proyectos o actividades deberán someterse al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental, el proceso de evaluación del impacto generado está a cargo del Servicio de Evaluación Ambiental, el cual en base a un Estudio de Impacto Ambiental o una Declaración de Impacto Ambiental dependiendo de su magnitud y afectación, es que se determina si el impacto se ajusta a las normas vigentes.

Debido a las actividades presentes en la zona es que las cuencas de los ríos de la Región de Atacama exhiben altos niveles de cobre, arsénico y mercurio. Dentro de la misma ciudad de Copiapó existe la zona

de Viñita Azul, donde la zona que estaba planificada para la futura construcción de urbanizaciones queda en las inmediaciones de plantas de concentración con amalgamación de oro y tranques de relaves, activos y abandonados de Victoria, Papapietro, San Juan, Castellón, en 1998, según un informe entregado al Servicio Nacional de Geología y Minería. El año 2000 la Agencia de Cooperación Japonesa siguió la investigación para rastrear a las faenas abandonadas en todo Chile. En 2005 SERNAGEOMIN publicó un libro que permaneció ignorado hasta 2010, el cual fue solicitado a través de la Ley de Transparencia para un documental, en él se postula que al menos cuatro faenas utilizaron mercurio en sus procesos. Se había alertado que el principal riesgo en Viñita Azul era la eventual presencia de tranques de mercurio, cuya sustancia es altamente tóxica y se asocia a daños neurológicos, cardíacos y en el desarrollo del sistema nervioso de fetos y niños pequeños. Esta mina está ubicada a 100 metros de la población El Palomar, donde vive mi madre. Lo cual presenta un alto riesgo para la vida y la salud de sus habitantes, por el polvo, la contaminación de las aguas que se puede llegar a producir por eventos tal como un aluvión, el riesgo medio de ruptura del muro del tranque de relave y colapso masivo de otros residuos. Hasta ahora no se han hecho estudios en profundidad que analicen el riesgo para la salud de estos relaves. Se adjunta los mapas de depósito de relave en Tierra amarilla y Copiapó, en las figuras 1.2 y 1.3, respectivamente. Actualmente el Centro de Investigación y Desarrollo Sustentable de Atacama (Cridesat) está investigando las matrices ambientales del valle de Copiapó, monitoreando la presencia de cobre, plomo, mercurio y arsénico en el agua, las plantas, el aire y los sedimentos. El investigador Bernardo Sepúlveda H. cuenta que las primeras muestras arrojaron niveles más altos que los esperados en agua y plantas, los que respecto del mercurio y plomo pueden provenir de los relaves y la actividad minera.



**Figura 1.2** Mapa de distribución de relaves en Copiapó. (SERNAGEOMIN, 2022)

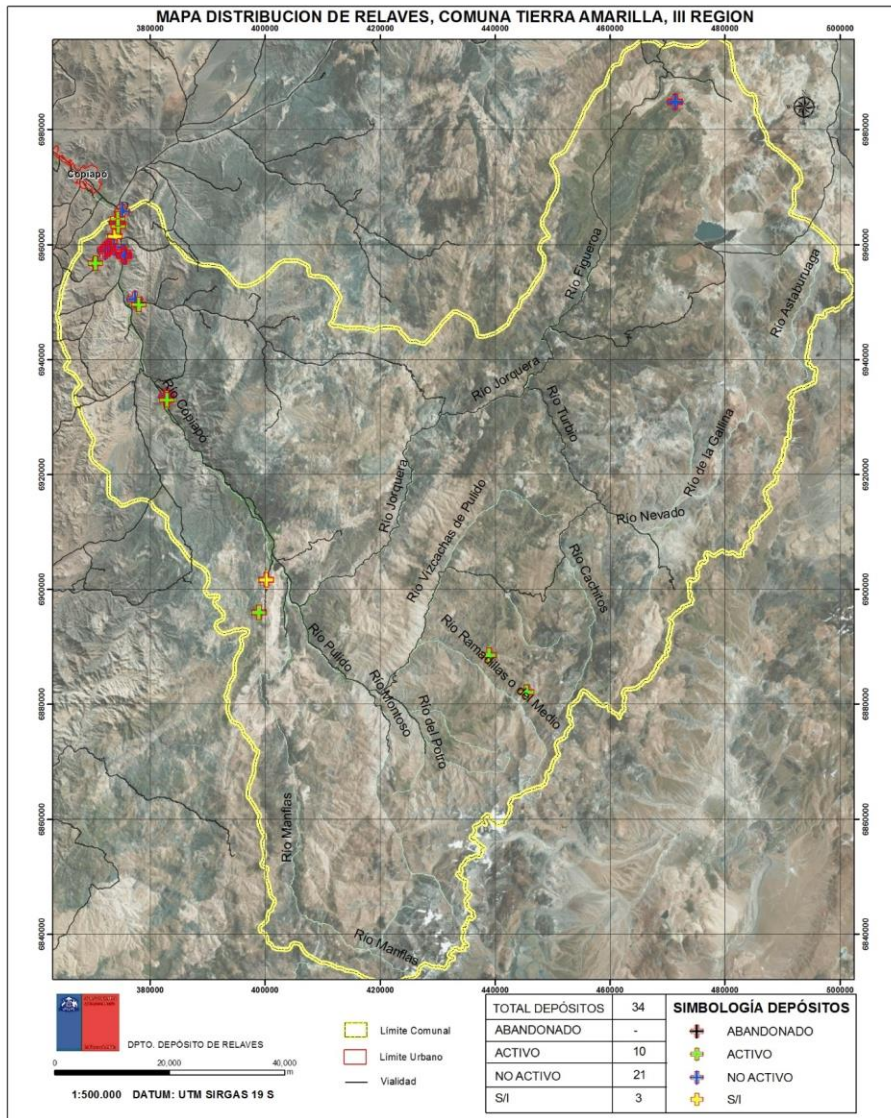


Figura 1.3 Mapa de distribución de relaves en Tierra Amarilla. (SERNAGEOMIN, 2022)

### 1.3 AGENTES DE DISPERSIÓN

La dispersión es el proceso que causa la distribución y la redistribución de elementos por agentes de dispersión que pueden ser el viento, el agua, las corrientes marinas, la gravedad, también los frugívoros, el cuerpo de aves y otros animales. También existen ciertos eventos naturales como la remoción en masa y los aluviones, que, aunque son sucesos de poca periodicidad, pueden llegar a ocurrir y los sistemas de cierre de faenas en general no tienen bien considerado estos eventos físicos. En 2015 hubo un caso de aluvión en el norte de Chile. El desastre ambiental comenzó el 23 de marzo con lluvias intensas en las zonas de la cordillera donde por lo general solo cae nieve. La gran lluvia provocó que el hielo y la nieve se derritiera y junto a la ausencia de vegetación empezó a formarse diferentes aludes de lodo y roca que desbordaron los cauces naturales de los ríos, muchos ya secos, arrasando ciudades, faenas mineras, caminos y puentes, hasta su desembocadura en el mar (CIPERCHILE, 2015).

También, debido a los eventos sísmicos debido a la actividad tectónica, es que se ha producido eventos de remoción en masa que han llevado a la dispersión de los desechos mineros. Los muros que contienen relaves mineros muchas veces no están contruidos para soportar estas eventualidades, lo cual, según la intensidad del suceso, puede provocar el colapso del tranque de relave minero. La contaminación ambiental puede estudiarse para su remediación atendiendo tres elementos principales de los ecosistemas como lo son el agua, el aire y el suelo. Los contaminantes pueden generarse y depositarse en cualquiera de ellos y pueden moverse de un elemento a otro hasta llegar a la biota que es el elemento en el que se ocasionan los daños y por los que ingresan a las redes tróficas. En la Tabla 1.2 se pueden observar los comportamientos de los contaminantes en el aire, agua y suelo (Moriarty, 1990).

En el aire existe bajo tiempo de residencia de los contaminantes debido a la dispersión, de manera general el daño a los organismos se puede clasificar de medio a bajo, con una uniformidad alta de la dispersión del contaminante. En el agua los contaminantes tienen un tiempo de residencia medio, un daño a los organismos considerado alto y una uniformidad de dispersión media. En este elemento resulta fundamental analizar el daño a los organismos, debido a que la mayoría ingiere los contaminantes por esta vía. En el suelo el tiempo de residencia de los contaminantes suele ser alto, y generalmente los

contaminantes acceden mediante la dispersión del aire como del agua que lo rodean. El daño a los organismos suele ser de medio a alto, considerando medio para animales y alto para las plantas. La uniformidad de la dispersión es de baja a muy baja ya que a menudo la contaminación es puntual.

*Tabla 1.2 Comportamientos de los contaminantes en el aire, agua y suelo (Moriarty, 1990).*

| Elemento | Tiempo de residencia | Uniformidad de la dispersión | Daño a organismos |
|----------|----------------------|------------------------------|-------------------|
| Aire     | Bajo                 | Alta                         | Bajo a medio      |
| Agua     | Medio                | Media                        | Alto              |
| Suelo    | Alto                 | Baja                         | Medio a alto      |

### 1.3.1 Dirección y velocidad del viento

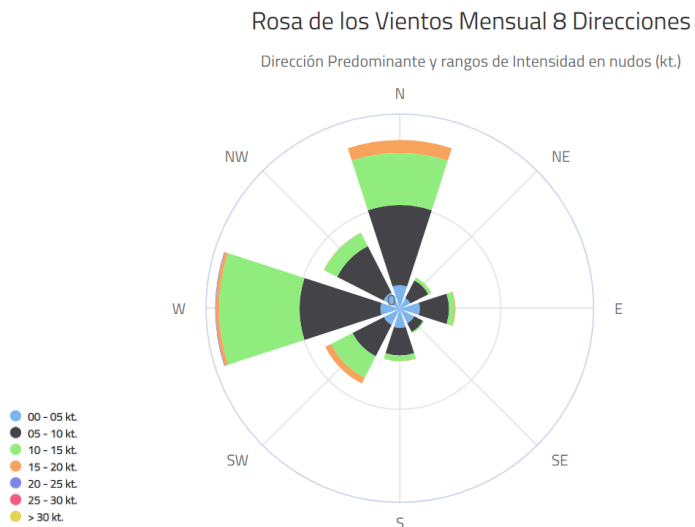
El viento es el aire en movimiento horizontal, y semivertical. Pueden aportar en la dispersión de contaminantes, en la producción de energías renovables y polinización de distintas especies vegetales. Pero también puede tener efectos negativos, como daños mecánicos a la vegetación, desecación, transporte de parásitos y virus, entre otros.

En general interesa conocer el viento dominante y la frecuencia de las direcciones y velocidades. Los instrumentos utilizados para medir el viento son la veleta y anemómetro.

Los anemómetros miden la magnitud del viento, donde los más utilizados son los de cazoleta, que tienen un rotor y generador de señal. Aquí la velocidad angular del rotor es directamente proporcional a la magnitud del viento y se expresa en m/s.

Las veletas en cambio miden la dirección del viento. Su sistema corresponde a la veleta y el generador de señales o transductor. Para ello la veleta debe estar bien equilibrada. La dirección del viento se expresa en grados.

En la figura 1.4 tenemos rosa de los vientos donde se muestra predominancia de vientos del oeste y norte, y la velocidad va de 5-15 nudos. Obtenida de la Dirección Meteorológica de Chile con datos de 2022.



**Figura 1.4** Rosa de los vientos de la estación meteorológica del Desierto de Atacama (Dirección Meteorológica de Chile, 2022)

## 1.4 SUELOS

El suelo puede describirse como un sistema abierto y dinámico, compuesto por tres fases, las que corresponden a sólida (orgánica e inorgánica) líquida y gaseosa. La fase sólida contiene principalmente minerales complejos, óxidos, sales y materia orgánica en diferentes etapas de descomposición. Los espacios libres se encuentran ocupados por gases, de diversa composición y en parte por la fase líquida. Esta, también llamada solución del suelo, que está compuesta por iones disueltos procedentes de las otras fases, es la más activa y conforma un subsistema dinámico en el que se llevan a cabo, entre otras,

reacciones de formación de complejos solubles, oxidación reducción, adsorción y precipitación-disolución. Al resultado neto de todas estas reacciones, se le puede visualizar como una telaraña de interrelaciones químicas, controladas por flujos variables de materia y energía procedentes de la atmósfera, hidrosfera y biosfera (Sposito 1983).

En ecología se describe a los suelos como la parte de los materiales inherente que recubre a las rocas y que es capaz de sostener una variada vida vegetal. Es un sistema físico, químico y biológico que actúa de manera compleja sobre la vegetación y la biota. Tiene ciertas características dependiendo de la zona a analizar y en un lugar específico es producto de la acción del clima y la vegetación sobre el tipo de sustrato geológico que le confiere propiedades particulares. Agronómicamente, el suelo es la porción superior de la corteza terrestre, donde sufre procesos de edafogénesis y sobre la cual pueden crecer plantas y hongos. Posee un límite inferior máximo donde se hayan desarrollado horizontes que son impermeables a las raíces. Desde un punto de vista práctico, se considera que el suelo estaría constituido por dos metros más superficiales de corteza terrestre, con propiedades diferentes del material rocoso subyacente, como resultado de la interacción del clima, con los organismos vivos, la roca madre, el relieve y el tiempo. Ambientalmente, el suelo puede definirse como la porción superior de la corteza terrestre, la cual sustenta actividades naturales como el crecimiento y soporte de biomasa nativa, y actividades humanas como la vivienda, la industria, la agricultura, la ganadería y la actividad forestal y minera. La historia del humano con el suelo denota que, en toda la proyección histórica de su uso, ha ido deteriorando su calidad. Las áreas deterioradas por erosiones hídricas y eólicas, salinidad del suelo, contaminación por metales pesados, pesticidas, residuos industriales, reemplazo de suelos agrícolas por suelos urbanizados, extracción de áridos, etc. Mientras que otros han alcanzado tales niveles que es difícil encontrar suelos sin manifestación de degradación. Las condiciones del suelo son la base en los estudios ambientales, dado que las modificaciones de sus características repercuten en cambios climáticos, en la flora y en la biota. Aunque se han desarrollado tecnologías para disminuir y controlar las distintas generaciones de contaminación del aire y del agua, no se han realizado estudios sobre la remediación, prevención y control de la contaminación del suelo, éstos son muy escasos en comparación con los del agua y aire.

Es necesario considerar que dependiendo de la zona geográfica que se analiza es que se van a formar distintos tipos de suelos. En este trabajo, en específico se analiza la zona del Norte Chico, que comprende las regiones de Atacama y Coquimbo. Las que poseen ciertas características como que la mayor parte del área está constituida por serranías, separadas por llanos, que son mesetas intermontañas con suelos

evolucionados, la mayoría con horizontes B y presencia de horizontes y concreciones calcáreas en muchos de ellos. Los suelos de los cerros son pedregosos, con presencia de horizontes calizos en las formaciones geológicas de sedimentos continentales y rocas volcánicas, con suelos menos evolucionados derivados de materiales graníticos. Posee suelos aluviales con texturas generalmente livianas y muy delgadas en profundidad cercano a los ríos, esteros y quebradas. Por otro lado, la mayoría de los suelos más alejados poseen alto poder de retención de agua útil a las plantas. Las texturas son pesadas a medias, son suelos que se caracterizan por ser pobres en materia orgánica y macroporos, altos en densidad aparente y muy sensibles al agua de lluvia y escurrimiento. La porción aledaña a los ríos y esteros es generalmente de riego, con problemas de salinidad y mal drenaje (FUNDACIÓN CHILE, 2015).

Además, estos suelos tienen cierta composición química que se presenta a continuación en la tabla 1.3 tenemos la composición química mediante el porcentaje de los elementos presentes.

**Tabla 1.3** Composición química en suelos de la región de Atacama. (Fuente Nazer *et al.*, 2016)

|                              | Elementos                      | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 | Muestra 4 | PROMEDIO |
|------------------------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| <b>Composición química %</b> | SiO <sub>2</sub>               | 39,14     | 38,33     | 45,02     | 49,25     | 42,94    |
|                              | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 30,48     | 20,40     | 36,62     | 18,14     | 26,41    |
|                              | CaO                            | 13,41     | 26,10     | 7,72      | 14,32     | 15,39    |
|                              | Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 8,39      | 7,76      | 5,21      | 8,37      | 7,43     |
|                              | MgO                            | 2,09      | 2,14      | 1,53      | 1,05      | 1,70     |
|                              | K <sub>2</sub> O               | 1,50      | 0,78      | 0,54      | 2,21      | 1,26     |
|                              | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>  | 1,20      | 0,64      | 0,55      | 0,16      | 0,64     |
|                              | Na <sub>2</sub> O              | 1,05      | 0,64      | -         | -         | 0,85     |
|                              | CuO                            | 0,57      | 0,69      | 1,24      | 0,72      | 0,81     |
|                              | SO <sub>3</sub>                | 0,46      | 0,26      | 0,49      | 0,16      | 0,34     |
|                              | TiO <sub>2</sub>               | 0,38      | 0,39      | 0,20      | 0,43      | 0,35     |
|                              | ZnO                            | 0,36      | 0,49      | 0,03      | 1,79      | 0,67     |
|                              | BaO                            | 0,27      | 0,04      | 0,08      | 0,79      | 0,30     |
|                              | MnO                            | 0,24      | 1,05      | 0,10      | 1,02      | 0,60     |
|                              | Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 0,14      | 0,02      | -         | 0,18      | 0,11     |
|                              | Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> | 0,09      | -         | 0,17      | 0,07      | 0,11     |
|                              | Cl                             | 0,07      | 0,03      | 0,09      | 0,06      | 0,06     |
|                              | PbO                            | 0,05      | 0,10      | 0,03      | 0,39      | 0,14     |
|                              | As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 0,04      | 0,02      | 0,21      | 0,79      | 0,27     |
|                              | ZrO <sub>2</sub>               | 0,03      | 0,01      | 0,01      | 0,01      | 0,02     |
| SrO                          | 0,03                           | 0,03      | 0,01      | 0,03      | 0,03      |          |

---

|  |                   |      |      |      |      |      |
|--|-------------------|------|------|------|------|------|
|  | MoO <sub>3</sub>  | 0,02 | 0,11 | -    | 0,03 | 0,05 |
|  | Rb <sub>2</sub> O | 0,01 | 0,01 | -    | 0,01 | 0,01 |
|  | Otros             | -    | -    | 0,15 | 0,02 | 0,09 |

#### 1.4.1 Textura

La textura de los suelos permite identificar las propiedades de éste relacionadas con su capacidad productiva, y su comportamiento mecánico, ya que está relacionada con la magnitud del complejo absorbente, con la capacidad de retención de agua, y la capacidad portante.

La textura es producto de la distribución de tamaños de las partículas sólidas que lo componen. El suelo se moldea al tacto bajo la humedad suficiente, y éste transmite información con respecto a la aspereza, suavidad, cohesión, compactación, etc.

Existen dos métodos para determinar la textura de los suelos, al tacto y mediante análisis granulométricos. En el análisis granulométrico se dictan dos métodos de laboratorio. Uno corresponde al paso del material previamente dispersado a través de tamices que cuenten con distintos grados de apertura. El otro método es por decantación de partículas en agua, lo que identifica las velocidades de sedimentación que se relacionan al tamaño de las partículas. Independiente del método, es importante al momento de considerar las condiciones necesarias de adaptación del tratamiento según el tipo de suelo.

#### 1.5 METALES PESADOS

Normalmente la mayoría de los compuestos de los metales son potencialmente tóxicos, se encuentran en cantidades fijadas por consideraciones de orden geológico y en formas químicas muy insolubles, por lo tanto, no representan un peligro para la biota. Sin embargo, debido a las consecuencias de las diversas actividades humanas, principalmente la industrial, esta situación ha cambiado radicalmente. Se han acumulado en los suelos, diversos compuestos de estos elementos, en grandes cantidades y/o en formas solubles, rompiendo el equilibrio impuesto naturalmente y causando la contaminación de acuíferos y en ocasiones, la introducción de estos elementos en la red trófica. Éstos interactúan en el suelo con las

arcillas, los oxihidróxidos, con la materia orgánica (polisacáridos, carbohidratos, aminoácidos, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, etc.), carbonatos, sulfatos y demás con los que se presentan procesos de adsorción, precipitación, oxidación, reducción, etc. que, dependiendo de las propiedades particulares del suelo, pueden ser benéficos, dañinos o no presentar efecto. Los metales pesados provocan problemas de toxicidad en los organismos, es decir poseen la capacidad intrínseca de causar daño, incluyendo los efectos potencialmente carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos que poseen muchos de sus compuestos. En el Anexo 1 se presentan las formas químicas de algunos metales y metaloides en el suelo (Bautista, 1999).

Según datos del SERNAGEOMIN (2020) se obtiene un promedio de la concentración de cobre presente en relaves mineros ubicados en las comunas de Tierra Amarilla y Copiapó, obtenemos un promedio de 2144,66 g/t de cobre en las escorias de cobre proveniente de cubetas y de los muros.

## 1.6 LEGISLACIÓN Y NORMATIVAS

El Código de Minería de Chile, que en su Artículo 17 establece la necesidad de permiso escrito del Intendente respectivo, para ejecutar labores mineras en lugares declarados parques nacionales, reservas nacionales o monumentos naturales, en su inciso 2º, y del presidente de la República, para ejecutar labores mineras en covaderas o en lugares que hayan sido declarados de interés histórico o científico, según el inciso 6º, donde este último apartado presenta una chance para la protección de la biodiversidad. A estas disposiciones se suma la actual regulación de los proyectos mineros en sus aspectos ambientales, por el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental según la Ley 19.300 de Bases del Medio Ambiente publicada en 1994, herramienta de data reciente que en alguna medida permite moderar los impactos declarados mediante propuestas de manejo para mitigarlos.

Esta materia ha sido reconocida con la promulgación, en enero de 2010, de la Ley 20.417 que Crea el Ministerio, el Servicio de Evaluación Ambiental y a Superintendencia del Medio Ambiente, que modifica la Ley 19.300 de Bases Generales del Medio Ambiente, y que introduce al ordenamiento jurídico nuevas competencias legales al Ministerio de Medio Ambiente (MMA). El artículo 70, letra g de la ley 19.300,

establece que es deber del MMA dicta lo siguiente, “Proponer políticas y formular normas, planes y programas en materia de residuos y suelos contaminados, así como la evaluación del riesgo de productos químicos, organismos genéticamente modificados y otras sustancias que puedan afectar el medio ambiente”. Así es como el MMA obtuvo nuevas competencias legales en materia de gestión de suelos, que vienen a establecer en un nuevo ámbito el contenido de la garantía constitucional de vivir en un ambiente libre de contaminación.

Anteriormente, el instrumento que se refirió a este aspecto fue la Política Nacional para la gestión de Sitios con Presencia de Contaminantes, aprobada por el Consejo Directivo de CONAMA, entidad antecesora al MMA, en agosto de 2009. En el marco de dicha Política, se inició el desarrollo de algunos instrumentos de gestión, tales como la evaluación de riesgo ambiental, planes de remediación, entre otros. Un hito relevante y reciente en esta materia es la aprobación por parte del Ministerio de Medio Ambiente de la Resolución Exenta Nº 1.690, en diciembre de 2011, que aprueba la Metodología para la Identificación y Evaluación Preliminar de Suelos Abandonados con Presencia de Contaminantes. En este documento se define el procedimiento para llevar a cabo parte de las fases que deben desarrollarse cuando se investiga un suelo de este tipo, para ser aplicado por el MMA en el territorio nacional. En la siguiente tabla 1.4 se muestra las normativas ambientales y la manera en que se aplica.

**Tabla.1.4** Normativa ambiental de Chile y manera en que se aplica.

| Normativa ambiental   | Manera en que la ley aplica  |
|---|--|
| Ley 20.417 CREA EL MINISTERIO, EL SERVICIO DE EVALUACIÓN AMBIENTAL Y LA SUPERINTENDENCIA DEL MEDIO AMBIENTE | Artículo 70, letra g, establece que es deber del MMA dicta lo siguiente, “Proponer políticas y formular normas, planes y programas en materia de residuos y <b>suelos contaminados</b> , así como la evaluación del riesgo de productos químicos, organismos genéticamente modificados y otras sustancias que puedan afectar el medio ambiente”. |
| Norma de suelos   | No existe  |
| Norma de drenajes ácidos  | No existe  |

| Normativa ambiental  | Manera en que la ley aplica  |
|--|--|
| Ley 20.551 REGULA EL CIERRE DE FAENAS E INSTALACIONES MINERAS  | Ley que regula el cierre de faenas e instalaciones mineras., incluye <b>sólo faenas mineras iniciadas el mismo año de promulgada la ley (desde 2011)</b> y no incluye los cierres de faenas mineras activas anteriormente, tampoco las que están inactivas e inactivas que no poseen Resolución de Calificación Ambiental. |
| Resolución 406, Aprueba Guía Metodológica para suelos con posible presencia de contaminantes (sppc). | Desde el 2011 hasta la fecha sólo se han evaluado <b>dos regiones</b> de las quince en etapa Fase I. El lento avance de los estudios impide que Chile tenga una norma de suelos.   |

También existen las Directivas de Kelley para la clasificación de suelos contaminados.

**Tabla 1.5** Directivas de Kelley para clasificación de suelos contaminados (SAG, 2005).

| Parámetro | Suelos no contaminados | Contaminación (mg/kg suelo seco) |         |           |            |
|-----------|------------------------|----------------------------------|---------|-----------|------------|
|           |                        | Ligera                           | Media   | Alta      | Muy alta   |
| Cobre     | 0-100                  | 100-200                          | 200-500 | 500-25000 | Sobre 2500 |

También existe un límite máximo de metales pesados que pueden estar presentes en el suelo, según la Ley Federal Alemana (European Commission, 2001).

**Tabla 1.6** Límite máximo de cobre según Ley Federal Alemana (European commission, 2001).

| Tipo de suelo | Concentración de cobre permitida (mg/kg) |
|---------------|--|
| Arcilloso     | 60                                       |
| Limoso        | 30                                       |
| Arenoso       | 100                                      |

En Chile, existe una concentración máxima permitida de metales pesados totales en suelos agrícolas, que están divididos por macrozona norte y sur a distintos pH (INN, 2004)

**Tabla 1.7** Concentración máxima permitida de cobre en suelos agrícolas en norma de lodos NCh2952c (INN, 2004)

| País  |                                | Concentración de cobre permitida (mg/kg) |
|-------|--------------------------------|--|
| Chile | Macrozona norte pH mayor a 6.5 | 150                                      |
|       | Macrozona norte pH menor a 6.5 | 100                                      |
|       | Macrozona sur pH mayor a 5     | 75                                       |

## 1.7 REMEDIACIÓN

La remediación es el tratamiento o conjunto de acciones que se realizan con el objetivo de recuperar la calidad del suelo contaminado, existiendo distintas tecnologías para remediar según el tipo de suelo correspondientes a tratamientos de remediación térmicos, fisicoquímicos y biológicos.

Según el lugar de aplicación de la remediación se habla de tratamientos *in situ* y *ex situ*, se habla de *in situ* cuando las tareas de remediación se realizan directamente sobre el sitio contaminado y de tratamiento. Mientras que el *ex situ*, requiere la extracción del medio contaminado para su posterior tratamiento, ya sea dentro de las instalaciones del mismo lugar de remediación, es decir On Site, o en instalaciones externas, que se denomina Off Site (FUNDACIÓN CHILE, 2015).

### Tratamiento térmico.

Los tratamientos térmicos se caracterizan por elevar las temperaturas para volatilizar, descomponer o fundir los contaminantes, el calentamiento se realiza por conducción térmica, o resistencia eléctrica, así como inyecciones de vapor, agua o aire caliente. Estos tratamientos suelen ser efectivos en cuanto a costos, y pueden realizarse en periodos cortos, con equipo accesible y no se necesita un exceso de energía ni recursos de ingeniería. Sin embargo, los residuos generados por técnicas de separación deben tratarse, lo que aumenta los costos y necesidad de los permisos asociados (FUNDACIÓN CHILE, 2015).

### Tratamiento Físico-Químicos.

Los tratamientos fisicoquímicos logran la destrucción, separación y contención de contaminante aprovechando las propiedades físicas y químicas de los contaminantes o del medio, se realiza mediante lavados de suelo, estabilizaciones fisicoquímicas, distintas barreras físicas o hidráulicas. Estos tratamientos son efectivos en cuanto a costos, los contaminantes generalmente son destruidos y requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior, sin embargo, su principal desventaja es que los tiempos de tratamientos que son mayores, y es necesario verificar la toxicidad de los intermediarios y productos a utilizar dentro del medio circundante (FUNDACIÓN CHILE, 2015).

#### **Tratamientos Biológicos o Biorremediación.**

Los tratamientos biológicos o biorremediación están enfocados en la degradación, transformación y remoción de contaminantes mediante la actividad metabólica natural de algunos organismos, la cual se desarrolla mediante fitorremediación, compostaje, biotransformación de materiales, entre otros. Estos tratamientos tienen como ventaja que permite tiempos rápidos de limpieza, pero en general el costo depende del empleo de energía y equipo que se disponga. Además, tiene intensivo uso de mano de obra y capital (FUNDACIÓN CHILE, 2015).

La biorremediación tiene ciertas ventajas referidas a la alta eficiencia, bajo costo, fácil disponibilidad, a que es inofensiva para el ecosistema y alta aceptación pública, motivo por el cual se ha desarrollado ampliamente en la remediación de la contaminación de metales pesados (Zhang et al., 2020).

La biorremediación es la estrategia más sostenible y se basa en el uso de un mecanismo biológico para mitigar los efectos nocivos de los contaminantes, dentro de esto también existe la micorremediación que es una técnica sustentable probada para remover metales pesados (Mathur . y Gehlot , 2021). La eliminación, destrucción o supresión de los contaminantes activos que causan efectos nocivos o de cualquier tipo en el medio ambiente mediante el uso de hongos o tecnología fúngica se conoce como micorremediación, del acrónimo mico (fungi) y remedium (restauración del equilibrio). La micorremediación también se puede definir simplemente como descontaminación del medio ambiente mediante el uso de tecnología basada en hongos (Chaurasia et al., 2021). La remediación del suelo por metales pesados logra mejorar la aglomeración del suelo y la estructura de los 8 poros. De acuerdo con el autor (Chen et al., 2016) la porosidad del suelo aumentó en un 73,78%, mejorando la permeabilidad del suelo y aumentando la conductividad hidráulica del suelo; por ende, el autor señala que la

biorremediación no solo remedia la contaminación del suelo por metales pesados, sino que también promueve la estructura de agregación del suelo, que tiene una importante importancia para la remediación y mejora del suelo.

La biorremediación puede llevarse a cabo con dos enfoques, el primero es la bioestimulación consistente en la adición de cualquier material estimulante, enmiendas de nutrientes, agentes de carga y fertilizantes de liberación lenta para mejorar y apoyar el crecimiento microbiano para que puedan llevar a cabo la biorremediación de los suelos contaminados por hidrocarburos. El nitrógeno y el fósforo son los nutrientes esenciales que limitan el crecimiento microbiano. (Wu et al., 2019). El uso de consorcio bacteriano y una mezcla de nutrientes logran una eficiencia de eliminación de contaminantes del 99%. Así mismo, la bioaumentación consiste en la adición de cultivos microbianos exógenos, comunidades microbianas autóctonas o microbios genéticamente modificados que se han adaptado y demostrado degradar contaminantes para mejorar la degradación. El uso de hongos autóctonos logra una eficiencia de eliminación de contaminantes del 79.7% (Ossai et al., 2020).

Por otro lado, se ha descubierto que los hongos, por sus capacidades metabólicas robustas y diversas, eliminan eficazmente los productos tóxicos y recalcitrantes como desechos farmacéuticos, metales pesados, hidrocarburos poliaromáticos, hidrocarburos clorados, aceites minerales y pesticidas, que ahora se acumulan excesivamente en el suelo, del medio ambiente y juegan un papel importante en la biorremediación (Jasu et al., 2021). La biorremediación aprovecha los microorganismos potenciales para abolir los contaminantes acumulados en la naturaleza; pero los hongos son uno de los candidatos potenciales que producen varias enzimas hidrolizantes que desempeñan un papel importante en la descomposición de los materiales de desecho y se adaptan a diferentes condiciones ambientales, lo que les permite sobrevivir en diversas condiciones (Singh et al., 2020).

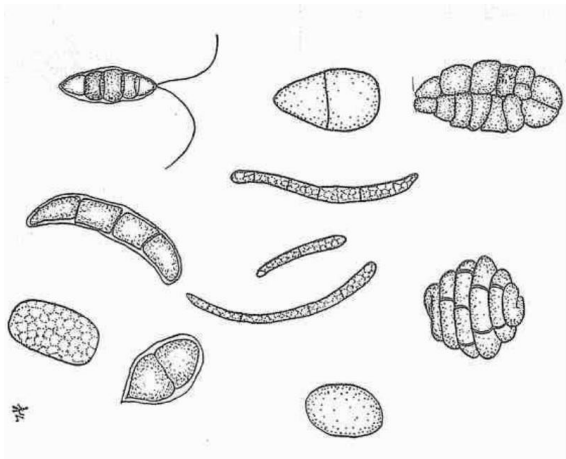
La remediación de suelos contaminados por contaminantes como metales pesados se ha convertido en una necesidad urgente en todo el mundo, porque se ha desarrollado una amplia variedad de técnicas, pero muchas de ellas están asociadas con inconvenientes relacionados con la complejidad de la técnica, los altos costos, y los riesgos ambientales. Por ello la biorremediación, el uso de organismos vivos para

remediar sitios contaminados, es un enfoque alternativo que se considera una técnica rentable y más respetuosa con el medio ambiente (Morillo et al., 2020).

## 1.8 HONGOS

La micología corresponde al estudio de las setas. Los hongos son los organismos eucarióticos, portadores de esporas, aclorofílicos, que por lo general se reproducen sexual y asexualmente, cuyas estructuras somáticas, ramificadas y filamentosas están rodeadas por paredes celulares de quitina o celulosa. Éstos poseen núcleos verdaderos típicos en sus células, que se reproducen por medio de esporas y que no poseen clorofila. (Alexopoulos, et al, 1985)

Diversos tipos de esporas fúngicas o conidios de reproducción asexual (Alexopoulos, et al, 1985).

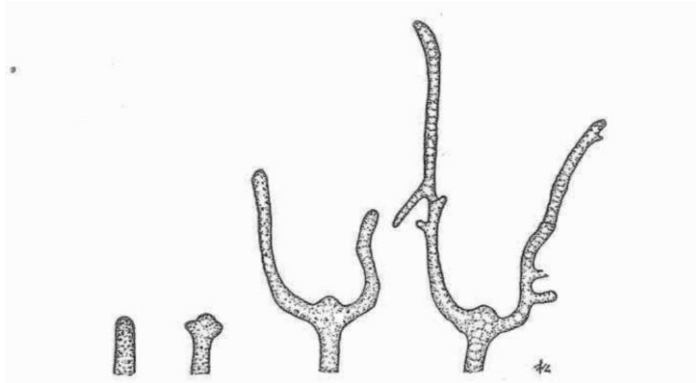


**Figura 1.5** Diversos tipos de esporas fúngicas o conidios de reproducción asexual  
(Fuente Alexopoulos, C. et al, 1985).

El verdadero cuerpo del hongo está compuesto por largos filamentos que se denominan hifas, y es conocido como micelio. Si se observa bajo el microscopio una muestra del sustrato sobre el que viven, ya sea tierra o madera, se verá invadido de hifas. Lo comúnmente denominado “hongo” es el cuerpo

fructífero del mismo, los cuales son encargados de producir las esporas, que tienen como función llevar a cabo la reproducción sexual. Una espora es una unidad simple y diminuta que se propaga sin necesidad de un embrión y sirve para gestar la producción de un nuevo individuo de la misma especie.

Los hongos no poseen tallo, hojas ni raíces, ni sistema vascular como las plantas. Son filamentosos y multicelulares.



**Figura 1.6** Fases sucesivas del crecimiento de un ápice hifal, dibujadas en intervalos de media hora de *Gelasinospora autosteira*. (Fuente Alexopoulos, C. et al, 1985).

El himenio es la estructura encargada de producir las esporas, la zona donde se encuentra el himenio junto a otros elementos es el himenóforo. Las diferencias entre himenóforos es una de las principales características a la hora de identificar el hongo. El soma son los filamentos que constituyen el cuerpo, y aumentan en longitud por crecimiento apical como se observa en la Figura 1.6, pero en su mayoría tiene un gran potencial de crecimiento, dado que un fragmento diminuto de cualquier parte del hongo podría producir un nuevo punto de crecimiento y generar un nuevo individuo. El talo de los hongos está formado por filamentos microscópicos que se ramifican en todas las direcciones, éstas se distribuyen sobre el sustrato que les sirve de alimento, o bien dentro de dicho sustrato. Cada uno de esos filamentos es denominado hifa, que viene del griego *hyphe* que significa telaraña, esto debido al aspecto que tiene. La

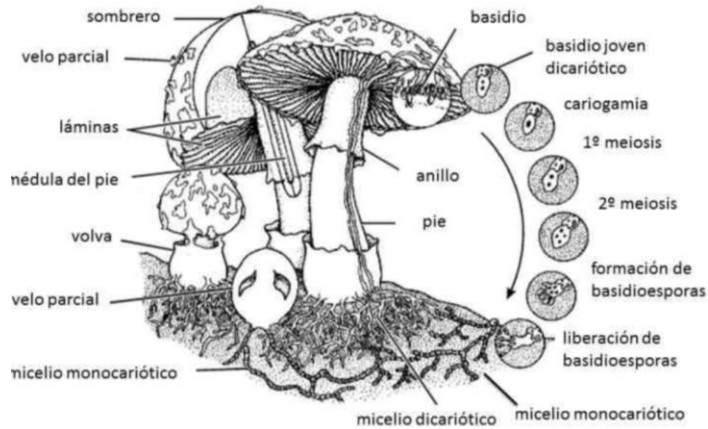
hifa está formada por una pared delgada, tubular, transparente y tapizada de una capa de protoplasma de grosor variable (Alexopoulos, C. et al, 1985). Estas tienen paredes transversales que interrumpen en el protoplasma que está al interior de las hifas, dividiendo la hifa en compartimentos, dichas paredes son denominadas septos.

Con respecto a la composición de la pared celular tenemos a diversos polisacáridos, proteínas, lípidos y otras sustancias. La quitina está presente en la mayoría de ellos. Además, se ha demostrado que los factores externos, tales como la temperatura, el pH, la humedad y la composición de los medios influyen de manera significativa en la composición de las paredes de los hongos (Foster, 1949)

Al carecer de clorofila los hongos requieren siempre de alimento elaborado para sobrevivir, ya que no pueden sintetizar su propio alimento. Para esto se les suministran glúcidos de alguna forma, como glucosa o maltosa, aquí es donde la mayoría de los hongos pueden sintetizar proteínas propias, utilizando fuentes inorgánicas u orgánicas de nitrógeno y varios elementos minerales que son fundamentales para su crecimiento. El C, O, H, N, P, K, Mg, S, B, Mn, Cu, Mo, Fe Y Zn. El calcio igual es requerido por algunas especies de hongos.

En las categorías de los hongos existen tres divisiones. La primera división son los Gimnomicotes, que son organismos con estructuras somáticas desprovistas de paredes celulares. La segunda división son los Mastigomicotes, que son hongos con centriolos que intervienen en la división nuclear, tienen una nutrición por absorción. Y la última división es la Amastigomicotes que son los hongos sin centriolos, que se nutren por absorción también. En esta ocasión nos centraremos en la última división, específicamente la clase Basidiomicetes.

Los Basidiomicetes tienen soma micelial, con una fase dicariótica prolongada, que da lugar a esporóforos de varios tipos, en donde se producen basidios que son los que transportan meiósporas o basidiósporas. Las estructuras de esporóforos y micelio están ausentes en algunas especies. A continuación, se presenta la Figura 1.6 con la estructura del basidiomicetes.



**Figura 1.7** Basidiomycetes y su ciclo sexual (Fuente Alexopoulos, C. et al, 1985).

La importancia de los hongos viene desde la primera copa llena de vino que sirvió para realizar un brindis, y en el primer pan con levadura que salió del horno. En el mundo actual las personas usualmente no se dan cuenta que tan íntimamente están ligados los hongos a nuestra vida, pero existen de tiempos ancestrales y nos acompañan hoy en día en muchas actividades. Además, tienen múltiples beneficios en cuanto al biodeterioro de los materiales y elementos existentes.

Los macromicetos son destacables entre los organismos presentes en los ecosistemas terrestres, esto debido a su ubicuidad y extensa e íntima relación con el medio. Donde el micelio de estos hongos es capaz de captar y bioacumular metales pesados. Estos aparecen en los carpóforos o setas, en concentraciones superiores que las del medio. La captación que generan los hongos sobre los metales pesados, y la presencia en los carpóforos depende de muchos factores ambientales y del propio hongo. Los factores ambientales determinan la movilidad y disponibilidad de los metales, mientras que los segundos definen la capacidad acumuladora de los hongos y diferentes aptitudes captadoras que se identifican en distintas especies. Inicialmente los metales pesados son fijados por los grupos funcionales, estos son fosfato,

---

carboxil, amino y especies diéster de éstos, que están en la pared celular de los hongos, como la quitina. Parte de ellos serán transportados al interior de la célula y su traslocación a los carpóforos se ve favorecida por la comunicación orgánica que existe en todo el micelio. (Alonso, J. et al., 2004). La existencia de proteínas, polipéptidos y otras macromoléculas implicadas en la captación de algunos metales, será el principal factor que determine la gran capacidad de acumulación que muestran algunas especies. La edad, el grado de expansión y la distribución del micelio en el sustrato, así como el tamaño, edad y región anatómica del carpóforo, también influyen significativamente en la presencia de metales pesados (Hedrich, E., 1988, (Michelot, D., et al, 1997-2012) (Kala, C., 2000).

Los microorganismos más utilizados en los procesos de biorremediación de metales pesados son las bacterias y los hongos. Algunos géneros microbianos utilizados con éxito para remover cadmio, plomo y cobre son *Rhizopus*, *Penicilium* y *Phanerochaete* (Say et al., 2001).

## 2 PROBLEMA

La minería es una actividad productiva de alto impacto ambiental y económico. Dentro de los impactos ambientales significativos tenemos la generación de residuos sólidos, el uso intensivo del agua en zonas donde existe escasez hídrica, una contaminación de las aguas y suelos, así como contaminación atmosférica. Además, de un riesgo ambiental producto de las minas y faenas abandonadas, siendo el foco principal de impacto los tranques de relaves abandonados.

La gestión de los recursos naturales en las cuencas de la Región de Atacama es insuficiente para resguardar la calidad del medio ambiente. Esta región minera tiene varios procesos industriales de extracción y generación de residuos importantes desde hace muchos años, el más influyente de la región es la minería, la cual genera el 85% de las exportaciones regionales (INE-Atacama 2007). Es importante considerar que, debido a la ubicación de estas actividades, que por lo general son en la parte alta de la cuenca, se produce un arrastre de sedimentos debido a las lluvias. En este caso, la región de Atacama presenta escasas lluvias. Sin embargo, en 2015 ocurrió un evento de aluvión y un arrastre sedimentario importante que afectó de gran manera a las comunidades circundantes al río Copiapó. Esto generó una especie de dilución de elementos traza en la parte alta de la cuenca, y una mayor concentración en la parte baja. El gran impacto que se genera es apreciado en el suelo y su cobertura natural, y en “tierra de nadie” donde se establecen los pasivos ambientales, y emiten residuos al medio ambiente. Estas modificaciones permanentes que se han llevado a cabo deben ser remediadas para garantizar el bienestar y futuro de la biota circundante y sus habitantes.

En algunos sectores de la Región de Atacama, los suelos presentan altas concentraciones de elementos traza. Esta situación representa un riesgo ambiental para los habitantes de dichas zonas. En este contexto surge la necesidad de realizar actividades de remediación del suelo mediante biorremediaciones en base a organismos competentes, capaces de mejorar la calidad de vida de los habitantes.

Según lo expuesto anteriormente, la interrogante que guía esta investigación es que la propuesta técnica de Biorremediación fúngica permitirá disminuir la contaminación por metales pesados en suelos de la región de Atacama.

---

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Generar una propuesta técnica para la biorremediación de suelos afectados por metales pesados en algunos sectores de la Región de Atacama, mediante el empleo de hongos basidiomicetos.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar fisicoquímicamente los suelos deseleccionados para la propuesta de biorremediación en base a los hongos basidiomicetos en la Región de Atacama.
2. Seleccionar la técnica de biorremediación más adecuada para la mejora de los suelos con el empleo de los hongos basidiomicetos seleccionados mediante un trabajo exploratorio que permita determinar la capacidad de captación de cobre y hierro de hongos.
3. Proponer un diseño técnico de biorremediación de suelos afectados por metales pesados en determinados sectores de la Región de Atacama empleando los hongos basidiomicetos seleccionados.
4. Determinar los costos de la propuesta de diseño técnico de biorremediación con hongos en los suelos seleccionados.

### 4 MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo el siguiente esquema metodológico generado en el programa Lucidchart, como se puede observar en la figura 4.1. El primer paso fundamental para la caracterización general del área es establecer las características sitio-específicas y fisicoquímicas, la cual se realizó mediante distintos análisis y apoyado en la recolección de información bibliográfica disponible de distintas fuentes de información local, regional y nacional. En segundo lugar, es necesario seleccionar la técnica de biorremediación, para luego llevar a cabo el diseño del proceso desde el aislamiento de la cepa y su cultivo, su traslado y la propuesta técnica para su aplicación en el área con los condicionantes necesarios. Todo esto para finalmente llevar a cabo el cálculo de todos los insumos y materiales necesarios.

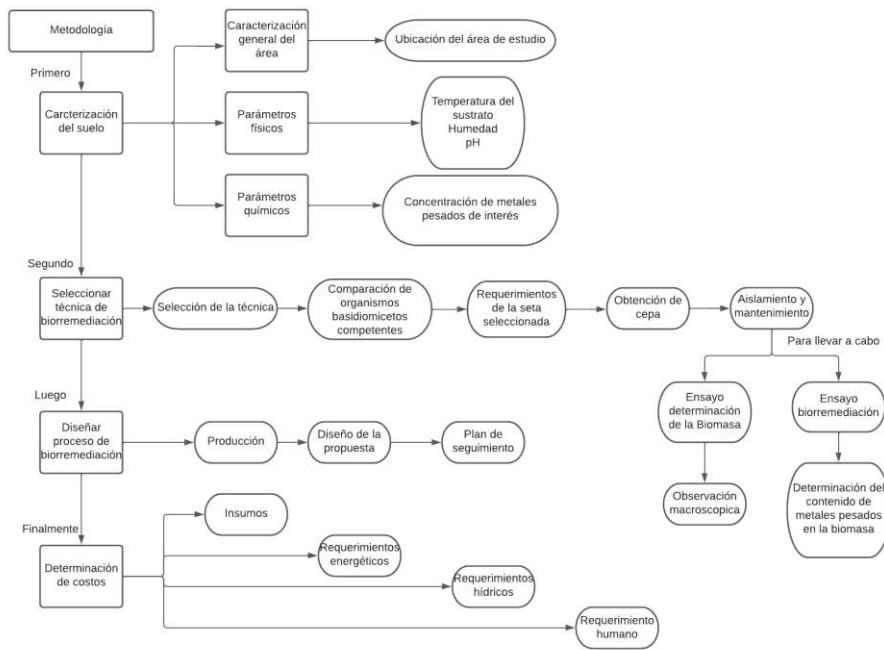


Figura 4.1 Esquema metodológico realizado en el presente trabajo

#### 4.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUELO

Para este apartado se realizó las mediciones de las condiciones que se dan en la Región de Atacama, se generará una caracterización de las condiciones fisicoquímicas para modificar la propuesta que se plantea generar a la zona de estudio, para lograr desarrollar la técnica de biorremediación será necesario ajustar los parámetros de requerimientos de los hongos con las propiedades que presenta el área de estudio a remediar.

#### 4.1.1 Caracterización general del área

##### 4.1.1.1 Ubicación del área de estudio

El área seleccionada se eligió debido a la cercanía que presenta con la población de la ciudad de Copiapó y Tierra Amarilla, donde existen la mayor cantidad de relaves en la zona. Para conocer el lugar a remediar se generará un polígono en un mapa de ArcGis, con sus coordenadas. Además, se generará un mapa que presente los puntos de muestro en Google Maps dentro de la región.

#### 4.1.2 Parámetros físicos

##### 4.1.2.1 Temperatura del sustrato

La temperatura del suelo a tratar se verificó con un termómetro digital de suelo, el cual fue introducido a 15 cm de profundidad del suelo en el área de muestreo.

##### 4.1.2.2 Humedad

La humedad del suelo fue determinada mediante el método gravimétrico, que el método de medición directo de la humedad del suelo. Para ello se tomó una muestra de suelo, se obtiene su masa en una balanza analítica antes y después de su desecado a 105°C durante tramos de media hora, hasta que el peso se mantiene constante. Esto para los 3 suelos tratados, para lo cual se ocupó la siguiente ecuación

$$\text{Humedad del suelo} = \frac{\text{peso húmedo} - \text{peso seco}}{\text{peso seco}}$$

**Comentado [Ui1]:** Esto lo realizó o es en base a revisión bibliográfica

**Comentado [Ui2R1]:** lo hice profe

#### 4.1.2.3 pH

El pH de los suelos es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución, indicando la concentración de iones de hidrógeno que están presentes en ciertas disoluciones. El índice varía de 0 a 14, donde el 7 es el neutro, y por debajo de 7 sería un pH ácido, mientras que sobre 7 es un pH alcalino. Esto será clasificado según las categorías establecidas en el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

El procedimiento consiste en poner 1 gr de suelo en un vaso precipitado más 25 ml de agua destilada, para posteriormente agitar durante media hora. Pasada esta media hora se deja reposar 10 minutos y se introduce un electrodo, luego de calibrar el Multitester, se obtiene el pH del suelo. Donde se hace por triplicado y se obtiene el promedio.

De acuerdo con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, según el pH se pueden clasificar los suelos, en las categorías que se indican en la Tabla 4.1.

**Tabla 4.1** Clasificación del suelo con respecto al pH de la solución del suelo (MOPT, 1992)

| Categorías               | pH          |
|--------------------------|-------------|
| Extremadamente ácido     | Menor a 4,5 |
| Muy fuertemente ácido    | 4,5-5,0     |
| Fuertemente ácido        | 5,1-5,5     |
| Medianamente ácido       | 5,6-6,0     |
| Ligeramente ácido        | 6,1-6,5     |
| Neutro                   | 6,6-7,3     |
| Ligeramente alcalino     | 7,4-7,8     |
| Moderadamente alcalino   | 7,9-8,4     |
| Fuertemente alcalino     | 8,5-9,0     |
| Muy fuertemente alcalino | Mayor a 9,0 |

### 4.1.3 Parámetros químicos

#### 4.1.3.1 Concentración de metales pesados en el suelo

Para la cuantificación de los metales pesados que se encuentran presentes en el área de estudio se realizó mediante espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado invertidamente. Para ello se seleccionaron las tres muestras de suelo a tratar, una será el suelo control, el suelo 1 y el suelo 2.

Para la preparación de las muestras se utilizan los equipos del Laboratorio de Química Analítica y ambiental de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso.

Para determinar los metales que se presentan en el suelo contaminado se realiza la extracción de metales usando el horno o mufla, donde se incinera la muestra en unas bandejas, para eliminar la humedad y toda contaminación orgánica a temperaturas mayores de 100-105°C.

Incinerado en el horno por 24 horas a 200°C para reducir la muestra solo a lo inorgánico. Luego las muestras son llevadas a la balanza analítica para agregar de 0,20 a 0,22 gramos de suelo a cada flacón, donde se adiciona 3mL de HNO<sub>3</sub> y 9 mL de HCl. Esto se dejó reaccionando durante 24 horas. Para luego digerirlo en el microondas para aumentar su temperatura y agitación de la muestra en el "Advanced Microwave Digestion System" durante 20 minutos, luego reposa cinco minutos y se termina con otra sesión de 20 minutos en el microondas.

Posterior a esto se toma el flacón para verter el contenido de cada flacón sobre un matraz aforado de 25 mL, con un embudo y papel filtro, donde se lavó y se procura evitar que quede muestra en el flacón lavándolo y aforando con agua desionizada.

Todo es realizado en triplicado, con el debido lavado previo de los materiales a utilizar, los cuales fueron lavados cinco veces cada utensilio, matraz, flacón, embudo y tapas con abundante agua de la llave, también se vertieron en un recipiente que contenía ácido nítrico diluido al 10%, se lavaron con agua desionizada de manera abundante y se dejaron secar en el horno.

Cuando termina la filtración se transfiere a botellas plásticas que están rotuladas y con tapa para ser almacenadas hasta el momento de la lectura con el ICP OPTICO en el Laboratorio QUIFAC de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso.

---

También se hará el análisis de Fluorescencia de Rayos X (FRX) en el Laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales (BBM) ubicado en la Escuela de Construcción Civil de la Universidad de Valparaíso.

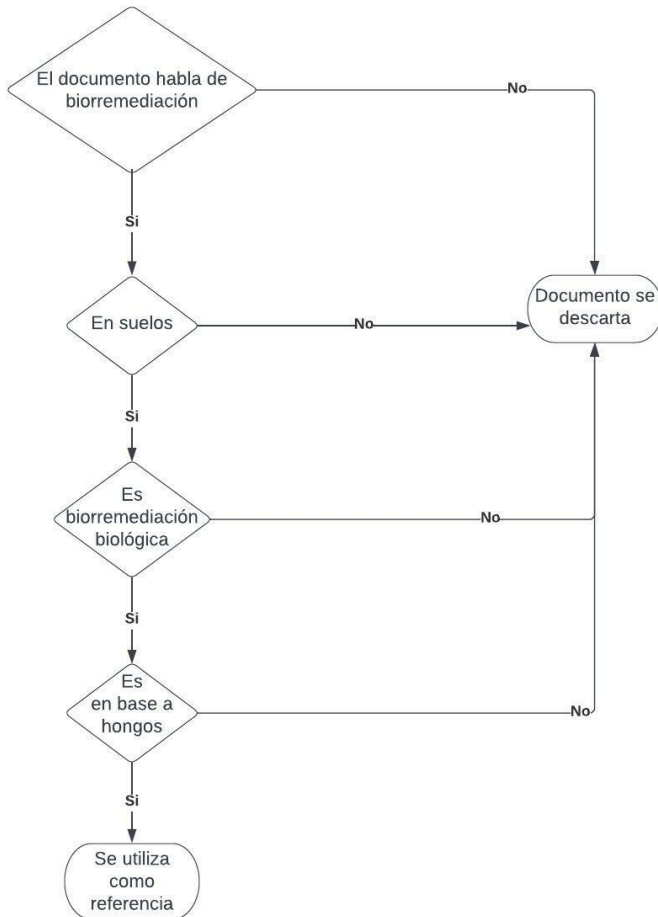
## **4.2 SELECCIONAR LA TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN**

El segundo paso es seleccionar la técnica de biorremediación que se realizó mediante la recolección de información bibliográfica mediante un trabajo de gabinete, disponible de distintas fuentes de información local, regional, nacional e internacional.

### **4.2.1 Selección de la técnica de biorremediación**

Para esto se generó una comparación mediante los distintos tipos de técnicas de biorremediación.

Para ello se realizó este esquema que ejemplifica el razonamiento necesario para seleccionar el documento con la técnica más adecuada.



**Figura 4.2** Árbol de decisiones para la selección del documento de referencia

Posterior a esto se genera una tabla donde se muestra la disponibilidad y costo.

**Tabla 4.2** Comparación de criterios y técnicas.

| Criterios | Técnica 1 | Técnica 2 |
|-----------|-----------|-----------|
|-----------|-----------|-----------|

|                |  |  |
|----------------|--|--|
| Disponibilidad |  |  |
| Costo          |  |  |

#### 4.2.2 Comparación de organismos basidiomicetos competentes

Éste se encuentra basado en un método experimental que describa el uso del hongo basidiomiceto como biorremediador en suelos que contiene niveles elevados de metales pesados. Se analizará la lista de hongos disponibles en el Laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de Construcción civil de la Universidad de Valparaíso, la cual será comparada con información bibliográfica que respalde su uso en biorremediación, para trabajar con los hongos más adecuados para llevar a cabo el tratamiento propuesto.

Esta comparación de organismos basidiomicetos competentes se realiza seleccionando los hongos que tengan revisión bibliográfica asociada a la biorremediación. Para ello se realizará una tabla comparativa donde se presentarán los hongos disponibles en el laboratorio y la información bibliográfica existente respecto al hongo.

**Tabla 4.3** Comparación entre los hongos.

| Lista hongos presentes en el laboratorio | Revisión bibliográfica relacionada |
|--|------------------------------------|
| Hongo 1                                  |                                    |
| Hongo 2                                  |                                    |
| Hongo 3                                  |                                    |
| ...                                      |                                    |

#### 4.2.3 Requerimientos de la seta

Determinar las variables de temperatura, humedad, y el pH nos permiten diseñar el procedimiento para el proceso de biorremediación para los suelos seleccionados.

Para ello se procederá a rellenar la siguiente tabla con datos de interés para tener en consideración a la hora de formular la propuesta de diseño.

**Tabla 4.4** *Requerimientos del hongo seleccionado.*

| Parámetro   | Requerimientos del Hongo Seleccionado |
|-------------|---------------------------------------|
| Temperatura |                                       |
| Humedad     |                                       |
| pH          |                                       |

#### 4.2.4 Obtención de cepas

La forma “algodonosa” de los hongos es el micelio. Y cuando éste se desarrolla en un medio de cultivo nutritivo se le llama cepa. Su obtención se puede llevar a cabo gracias a esporas o bien por medio de tejido, que es extraer un fragmento del hongo. En este caso la activación de cepas será mediante la extracción de unidades formadoras de colonias (ufc), donde 5 ufc corresponden a un centímetro de crecimiento de diámetro dentro del medio de cultivo. Este “repique” o inóculo será la base para poder duplicar el hongo.

En esta ocasión se inócula la placa Petri con el micelio para activar, son cinco placas Petri por cada cepa, las cuales son cuatro, como se puede observar en la figura 4.3. La activación de cepas será mediante la extracción de unidades formadoras de colonias que corresponden a un centímetro de crecimiento de diámetro dentro del medio de cultivo. Este “repique” o inóculo será la base para poder duplicar el hongo.

La placa Petri previamente fue preparada, esterilizada bajo una autoclave, y se le preparó un medio de cultivo sólido agar agar para nutrir al hongo inóculado y permitirle las condiciones necesarias para que el replique se reproduzca y se forme una cepa pura.

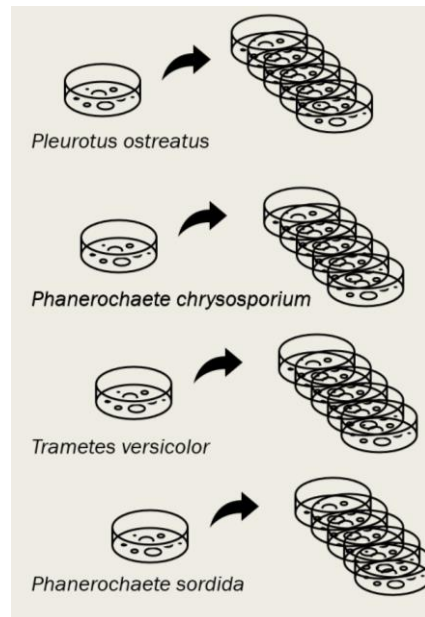


Figura 4.3 Esquema del procedimiento de inoculación

#### 4.2.5 Aislamiento y mantenimiento de las cepas

Para desarrollar el micelio de los hongos se realizará en el Laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de la Universidad de Valparaíso, donde se emplean medios de cultivos sólidos que le entregan los nutrientes necesarios al hongo. Estos medios de cultivos son vendidos en casas comerciales como puede ser en agar con extracto de malta y el agar con papa dextrosa agar, sin embargo, también es posible prepararlos u obtenerlo de laboratorios, para el caso del presente estudio se obtiene del Laboratorio asociado.

Se utiliza medio sólido agar agar en placas Petri de vidrio, las cuales son selladas con Parafilm y así evitar la contaminación cruzada.

#### 4.2.5.1 *Mantenimiento y/o preservación de setas*

Los medios de cultivos se mantienen a 4°C en un refrigerador que mantuviera las condiciones con un sistema continuo con un 60% de humedad. En placas Petri selladas con Parafilm para evitar cualquier contaminación.

#### 4.2.5.2 *Incubación*

Para la preparación del inóculo del hongo se transfiriere la muestra a otros platos Petri con el medio de cultivo, se preparan 5 medios de cultivo los cuales se incubarán a 25°C por un periodo de 7 días hasta que el micelio crezca y cubra el plato Petri completamente.

#### **4.2.6 Ensayo determinación de la biomasa**

La determinación de la biomasa es una de las variables más importantes del proceso. Se procede a calcular cuánto es lo que crecen los hongos en 12 días.

Primero se preparan los materiales esterilizando todos los utensilios, placas Petri, matraces Erlenmeyer y frascos necesarios. Son cuatro hongos en cuestión y se realiza en triplicado. Luego se procede a la inoculación de cinco placas Petri que serán mediante repique, una técnica que debe ser realizada bajo condiciones estrictas de asepsia para evitar toda contaminación, para ello se procede a esterilizar en una autoclave todos los utensilios y materiales necesarios. La inoculación se realiza en una cámara de flujo laminar que tiene luz ultravioleta que debe ser activada durante cinco minutos, dejando a su alcance todos los utensilios necesarios y saliendo de la sala para evitar daño ocular.

Luego de esterilizado el lugar se procede a tomar el hongo 1 y se realiza la inoculación de las 5 placas Petri. Se esteriliza nuevamente el área de trabajo luego de finalizar la inoculación de un hongo y se procede con el otro hongo y así, hasta completar los 4 hongos.

Estos se dejan una semana en el medio de cultivo sólido. Posteriormente, se procede a realizar el mismo procedimiento de esterilización y se pasa del medio sólido de agar 10 repiques que corresponden a 50 ufc al medio líquido con extracto de malta en un matraz Erlenmeyer para que crezcan durante 12 días.

Posterior a esto se filtra el hongo y se vierte en una placa Petri previamente pesada para ser llevada al horno a 105°C durante 30 minutos, 5 minutos al desecador para estabilizar la humedad, 30 minutos más al horno a 60°C, luego nuevamente al desecador y el procedimiento se repite hasta que la masa del hongo se mantenga estable las últimas dos mediciones, para determinar el peso de la biomasa seca y así saber cuánto es lo que cada hongo logra crecer en cierta cantidad de tiempo.

#### **4.2.7 Ensayo biorremediación**

Se procede a ir a la zona de estudio para extraer muestras de 2 kilos en distintos puntos de la zona de muestreo, recolectando un total de 24 kilos de relaves mineros. El suelo #1 y el suelo #2, que corresponden a relaves activo y uno inactivo respectivamente. Además, se incluye un suelo control extraído de la desembocadura del Río Aconcagua debido a que es el suelo control disponible en el Laboratorio de Biodegradación y Biodeterioro de materiales. Estos suelos fueron homogeneizados, y tamizados en un tamiz de 200 micrómetro, para posteriormente ser llevados a una autoclave a 121°C por 15 minutos para su esterilización. Luego los hongos inoculados pasaron por un experimento A y un experimento B.

Con 10 g de cada suelo a analizar a cada frasco de tratamiento, se inocula el micelio, considerando distintos suelos control, 1 y 2, además de los distintos tiempos de cosecha. Posteriormente, los suelos fueron incubados a temperatura ambiente. Donde a los 10, 20, 30 y 60 días se realiza una extracción y lectura de los metales pesados de los tubos que fueron inoculados, para evaluar la capacidad de remoción de los metales pesados que están presentes en el suelo tratado. Además, se realizó una observación macroscópica bajo lupa de los tratamientos más exitosos.

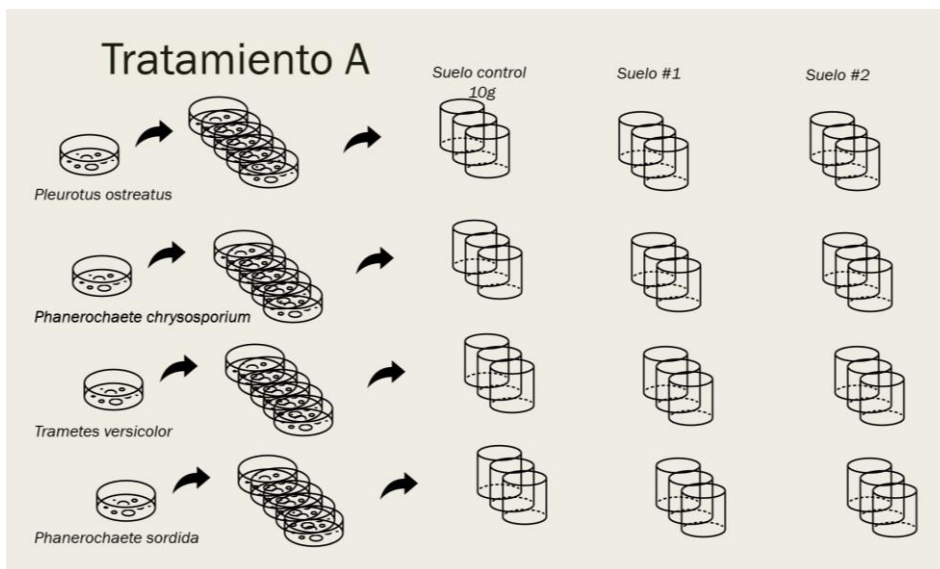
Se procederá a generar la siguiente tabla, que muestra la comparación de los parámetros considerados entre suelo y hongo para determinar las modificaciones finales que se deban realizar y las adaptaciones de condicionantes. Para cada parámetro se consignan los componentes principales de la caracterización del suelo, en contraste con los requerimientos del hongo.

**Tabla 4.5** Comparación entre las características del suelo y los requerimientos del hongo.

| Parámetro   | Caracterización fisicoquímica del suelo | Requerimientos del hongo seleccionado |
|-------------|---|---------------------------------------|
| Temperatura |   |                                       |
| Humedad     |   |                                       |
| pH          |   |                                       |

#### 4.2.7.1 Tratamiento A

En el experimento A fue llevada la biomasa de manera directa desde la placa Petri al suelo de tratamientos en triplicados, como se observa en la figura 4.4. El experimento estará 60 días bajo tratamiento, luego de lo cual se observará bajo lupa los crecimientos más importantes del micelio.



**Figura 4.4** Procedimiento Tratamiento A

#### 4.2.7.2 Tratamiento B

En el experimento B la inoculación pasó por un medio de cultivo líquido de malta agar, como se puede observar en la figura 4.5, logrando crecer dos semanas más, y a través de 3 tubos, cada replica será retirada del tratamiento a los 10 días, a los 20 días y a los 30 días para desarrollar una gráfica en función del tiempo. Aquí el paso por el matraz nos entrega una biomasa mucho más consistente, sin rastros de agar agar y con un crecimiento más avanzado, que se presenta como una tela de micelio, la cual es enrollada y aplicada al tratamiento B.

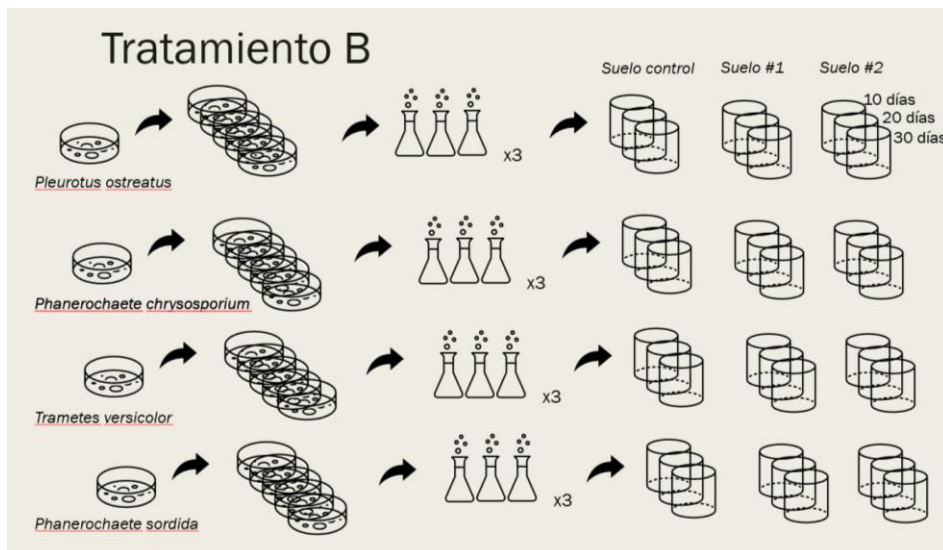


Figura 4.5 Procedimiento Tratamiento B

#### 4.2.8 Contenido de metales pesados en la biomasa

Para la cuantificación de los metales pesados que se encuentran presentes en la biomasa se realizó mediante Espectrometría de Emisión Atómica con plasma acoplado invertidamente. Para ello se seleccionaron las muestras de biomasa a analizar.

Para determinar los metales que se presentan en la biomasa se realiza la extracción de metales mediante el horno o mufla, a través del cual se incinera la muestra en unas bandejas, para eliminar la humedad y toda contaminación orgánica a temperaturas de 100-105°C y así reducir la muestra solo a lo inorgánico.

Posteriormente se procede a molerlas en un mortero de cerámica, para luego llevar las muestras a la balanza analítica para agregar de 0,20 a 0,50 gramos de biomasa fúngica a cada matraz, a la cual se adicionan 8 mL de  $\text{HNO}_3$  y 5 mL de Agua oxigenada. La muestra se deja reaccionando durante 24 horas, para luego digerirlo a temperaturas que van de los 80-90°C con el objetivo de aumentar su velocidad de digestión y se agita la muestra manualmente, y se deja reposar 24 horas más.

A continuación, se toma el matraz para verter el contenido de cada uno sobre un matraz aforado de 25 mL, con un embudo y papel filtro, se lavó y se procura evitar que quede muestra en el matraz lavándolo y aforando con agua desionizada.

Todo es realizado en una réplica, con el debido lavado previo de los materiales a utilizar, en este caso se lavó cinco veces cada utensilio, matraz, flacón, embudo y tapas con abundante agua de la llave, también se vertieron en un recipiente que contenía ácido nítrico diluido al 10%, luego se lavaron con agua desionizada de manera abundante y se dejaron secar en el horno.

Cuando termina la filtración se transfiere a botellas plásticas que están rotuladas y con tapa para ser almacenadas hasta el momento de la lectura con el ICP OPTICO.

Luego los resultados de los análisis fueron graficados descriptivamente.

Además, se generaron las gráficas que presentan la ecuación que considera la cantidad de cobre total a remediar y la biomasa necesaria del hongo que tuvo más éxito en el experimento para remediar el suelo en cuestión en cierta cantidad de días.

### **4.3 DISEÑAR PROCEDIMIENTO DE BIORREMEDIACIÓN**

Se debe adaptar las condiciones generales del área a los requerimientos específicos del hongo que remediará la zona. Para ello se procederá a generar la comparación de los parámetros considerados entre suelo y hongo para analizar las modificaciones finales que se deban realizar y las adaptaciones de condicionantes. Generada a partir de los componentes principales de la caracterización del suelo, en contraste con los requerimientos del hongo.

---

El siguiente paso es generar el diagnóstico del entorno en el que se encuentra el suelo contaminado. Esta etapa es importante debido a que se analizan aspectos geográficos, características del suelo, condiciones atmosféricas y condiciones fisicoquímicas del suelo a tratar.

Un diagnóstico adecuado permite seleccionar el tratamiento más apropiado, y llevar a cabo el tratamiento *in situ* o *ex situ*, dependiendo de las respectivas implicancias con respecto al terreno, y su pendiente o grado de accesibilidad. Ya que lo contrario puede llevar a un uso de recursos financieros y humanos erróneos.

En la siguiente etapa, se caracterizan los contaminantes, y requiere una descripción mucho más detallada considerando la identificación de organismos presentes en el suelo que es objeto de estudio. Esta caracterización nos permitirá elegir la metodología más adecuada.

Para ello se propone la metodología utilizada en el ensayo piloto de biorremediación generado en este trabajo, fue probada su eficacia en cobre y hierro, bajo el tratamiento de distintos hongos que se generó la verificación de los resultados para finalmente evaluar económicamente la factibilidad de su aplicación.

A continuación, se puede observar el modelo conceptual de la propuesta generada, donde se hace la división de los dos tipos de remediaciones propuestas en el sector seleccionado.

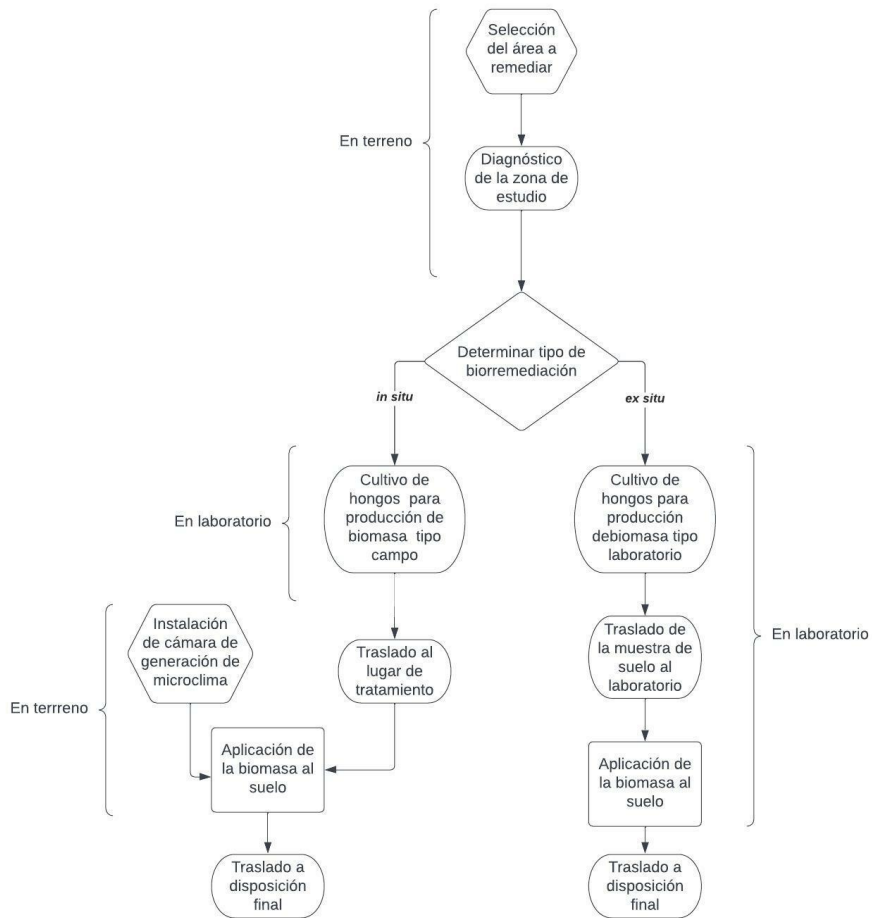


Figura 4.6 Modelo conceptual diseño de la propuesta de biorremediación fúngica.

#### 4.3.1 Diseño de la propuesta

Se determinarán las extrapolaciones para llevar a cabo este proceso a gran escala de manera *in situ* y *ex situ*. Considerando, de acuerdo a los condicionantes del terreno para el cultivo, así como la humectación

de suelos, esponjar o labrar los suelos, cubrir del sol para privación lumínica, los tiempos de crecimiento, captación de biomasa, y tiempos de humectación necesarios.

#### 4.3.1.1 Diagnóstico de la zona de estudio

El diagnóstico de la zona de estudio se refiere a la evaluación preliminar del área de muestreo, se observan las características fisicoquímicas, la factibilidad de llevar a cabo la biorremediación, y el tipo de biorremediación según el lugar si es *in situ* y *ex situ*.

Los factores más importantes a caracterizar en la zona de estudio y que determinan el crecimiento de los hongos son la temperatura, la humedad, el pH y la cantidad de metal pesado que contiene el suelo en cuestión. En este apartado, se harán recomendaciones de métodos eficaces para la obtención de resultados. Se recomienda una inspección visual sobre el terreno para analizar el grado de accesibilidad, y seleccionar el método más adecuado.

El diagnóstico y el capital disponible nos entrega la información necesaria para saber si se realizará *in situ* o *ex situ*, lo cual tiene distintas maneras de llevarse a cabo.

Se procede a llenar la siguiente tabla.

**Tabla 4.6** Ficha para rellenar el diagnóstico de biorremediación.

| DISEÑO DE BIORREMEDIACIÓN   |     |
|---|-----|
| Suelo _____   |     |
| Se toman fotografías del lugar de estudio.                                  |     |
| <b>Inspección visual</b>  |     |
| Se detallan todas las observaciones que se obtienen de la visita al sector. |     |
| <b>Temperatura del suelo</b>  | °C  |
| <b>Humedad del suelo</b>  | %   |
| <b>pH del suelo en solución</b>   |     |
| <b>Concentración de cobre</b>   | ppm |
| <b>Concentración de hierro</b>  | ppm |

#### 4.3.1.2 Producción

Esta debe ser específica para cada tratamiento *in situ* y *ex situ*, ya que se debe tener en consideración el tamaño que se desea obtener del micelio, el que se debe adaptar a cada suelo tratado. Ambas se realizan dentro de un laboratorio para el cual se detallarán los insumos y materiales.

Para el cálculo se utilizaron las siguientes ecuaciones

$$\text{Volumen suelo} = (\text{largo} * \text{ancho} * \text{profundidad})m^3$$

$$\text{Masa suelo} = (\text{Volumen suelo} * \text{densidad suelo})kg$$

Si  $\text{Masa hongo} : \text{masa suelo} = 4: 5$

La masa del hongo será remediada en dos semanas bajo el modelo generado de los resultados de los análisis de los 10 y 20 días del experimento B, en esta ocasión 50 ufc generan 0,067gr/día de micelio, que es considerado el factor de crecimiento. Se recomienda que la remediación sea en 14 días, por lo cual sacamos la cantidad que necesitamos generar diariamente. Se recomienda labrar los 20 cm de suelo superficial, antes de empezar el tratamiento.

$$\text{Generación diaria de biomasa fúngica} = \frac{\text{Masa hongo (gr)}}{14 \text{ días}}$$

*Cantidad de inóculos (ufc)*

$$= \text{Generación diaria biomasa (gr/día)} * \frac{50(ufc)}{\text{factor de crecimiento (gr/día)}}$$

$$\text{Cantidad de placas Petri} = \frac{\text{cantidad de inóculos (ufc)}}{150(ufc)}$$

$$\text{Cantidad de extracto de malta(L)} = \text{Cantidad de placas petri} * 3 * 0,15L$$

#### 4.3.1.3 Condiciones ambientales para llevar a cabo la biorremediación

Se consideran las variables de temperatura, humedad y pH como principales componentes para adaptar los métodos.

##### **Temperatura**

La temperatura nos sirve para generar las condiciones óptimas de crecimiento del hongo y el experimento no se vea afectado por las oscilaciones entre altas o bajas temperaturas. Este puede ser medido mediante un termómetro digital con sensor.

##### **Humedad**

Conocer la humedad del suelo nos permitirá conocer la cantidad de agua que debemos adicionar para el crecimiento del hongo. La medición de la humedad del suelo se puede realizar tomando una porción de suelo, pesándolo y luego deshidratando en una estufa de estabilización y secado, luego pasar por una desecadora para bajar la temperatura y pesar finalmente, así mediante la diferencia de pesos inicial y final podremos obtener la cantidad de agua presente y así la humedad del suelo.

##### **pH**

El potencial de hidrógeno de una solución se define como el negativo del logaritmo decimal de la concentración molar de iones de hidrógeno ( $H^+$ ). Esto quiere decir que se mide el grado de acidez de la solución del suelo, pero no la acidez total del suelo. Esto último se origina porque no se miden los iones de hidrógeno que se encuentran absorbidos en la superficie de las micelas coloidales. Sin embargo, el valor obtenido es un indicativo de la acidez total del suelo.

El pH condiciona el crecimiento y desarrollo de la biota circundante, y microorganismos edáficos. También dependiendo de la acidez es que se hacen asimilables sustancias tóxicas en grandes cantidades para los vegetales.

#### 4.3.2 Plan de seguimiento

Se harán dos planes de seguimiento uno para el trabajo previo de producción del hongo en laboratorio, y un seguimiento posterior a la biorremediación.

Se deberá gestionar el seguimiento de la actividad para lo cual se designa a un encargado de la obra que resguarde las cepas e inóculos, y otro encargado de la obra en el tratamiento del suelo, efectuando la distinción *in situ* y *ex situ* y considerando los tiempos y actividades de medición de los parámetros fisicoquímicos para resguardar su correcto funcionamiento.

#### 4.4 DETERMINACIÓN DE COSTOS

El último paso es determinar el costo asociado a la actividad de biorremediación la cual será realizada mediante la recolección de información disponible de distintas fuentes de información local, regional y nacional, en relación con los materiales e instrumentos requeridos. Además, se llevará a cabo dos simulaciones para comparar en base a distintos escenarios.

##### 4.4.1 Insumos

Para esta etapa se consideran los materiales e insumos de la etapa de diseño de técnica de remediación. Esto involucra los insumos de obtención y producción, de los hongos, así como los materiales de laboratorio, y los acondicionadores.

##### 4.4.2 Requerimientos energéticos

Para los requerimientos energéticos se tomará en consideración las horas de utilización de los distintos equipos, en todas las etapas del proceso, desde el diseño de la técnica de biorremediación, en la etapa de

obtención, aislamiento, mantenimiento y/preservación de las setas, la incubación, producción y plan de seguimiento, considerando también la cantidad de equipos a utilizar.

Aquí se obtendrá la cantidad de horas de uso de los equipos, su potencia y consumo, para expresarlo en pesos chilenos según los valores publicados en GlobalPetrolPrices en marzo de 2022. El precio para negocio es de 0,115 USD por kWh lo que en pesos chilenos corresponde a 104,3CLP.

#### 4.4.3 Requerimientos hídricos

Cantidad de agua utilizada a lo largo del proceso de diseño de la técnica de biorremediación, para ambos casos se considera la humectación del suelo para mantener las condiciones de humedad necesarias para que el hongo se desarrolle. En Chile, según Andess el Litro de agua tiene un costo de \$2 pesos.

#### 4.4.4 Requerimientos humanos

Para determinar este requerimiento, se caracterizan las labores de la persona encargada del laboratorio, el inoculo y la persona encargada de la remediación *in situ* y *ex situ*.

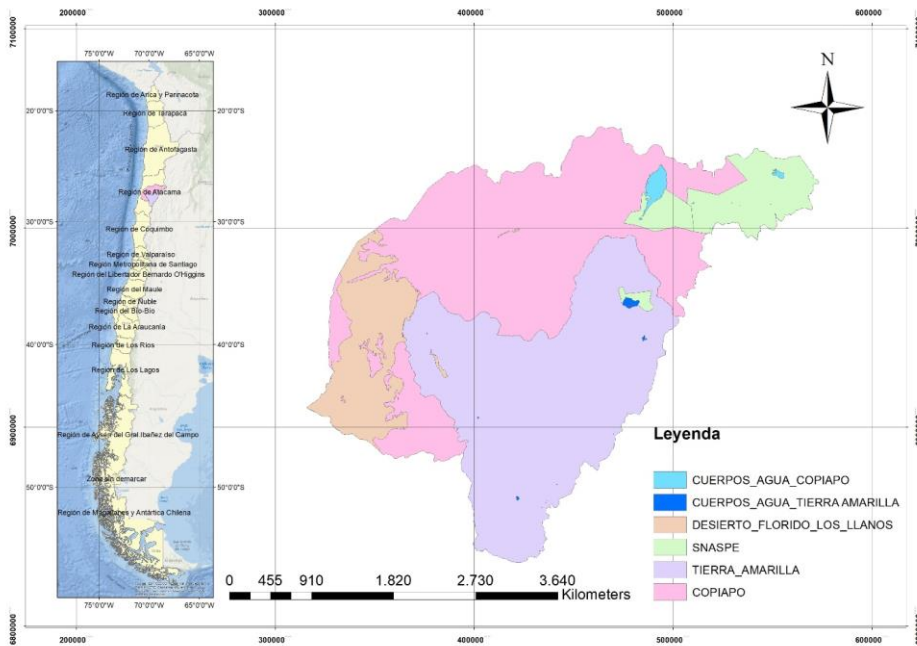
## 5 RESULTADOS

### 5.1 OBJETIVO 1. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO

#### 5.1.1 Caracterización general del área

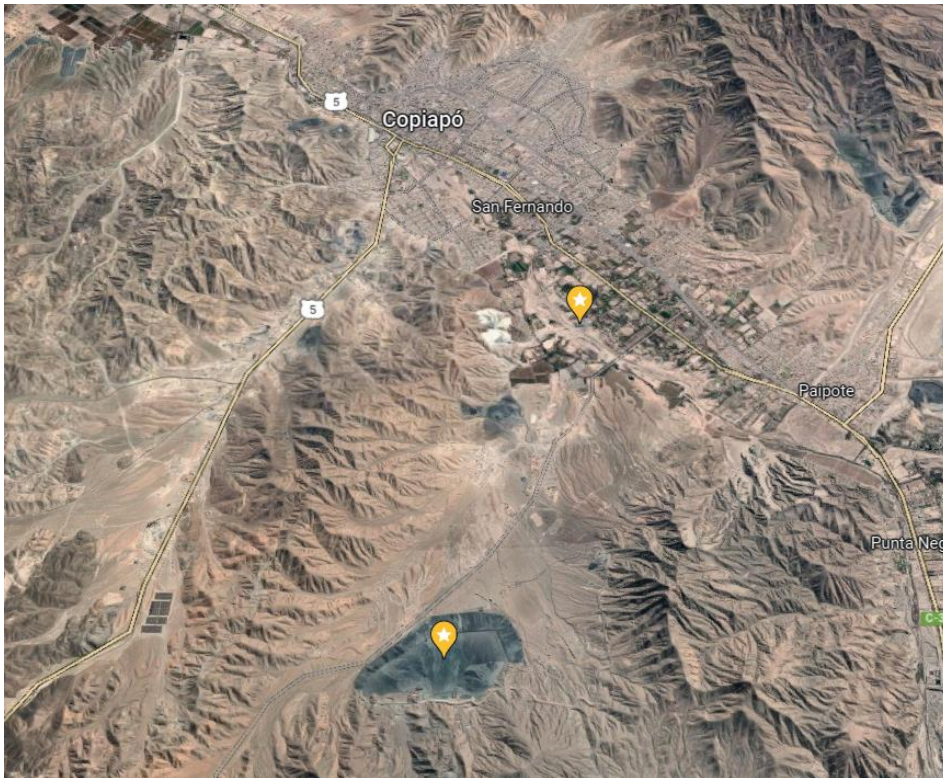
### 5.1.1.1 Ubicación del área de estudio

En la figura 5.1 se observa el mapa generado en ArcGis el cual muestra la ubicación de las comunas de interés dentro de Chile, en el presente caso de estudio corresponden a Copiapó y Tierra Amarilla. Además, se puede evidenciar sus respectivos cuerpos de agua, el polígono del desierto florido y las áreas SNASPES.



**Figura 5.1** Mapa de la ubicación de las comunas de Tierra Amarilla y Copiapó.

En la siguiente figura se observa la ubicación de los puntos de muestro del suelo 1 y suelo 2 en un mapa generado en Google Maps.



*Figura 5.2 Ubicación de los puntos de muestreo en la ciudad de Copiapó.*

## 5.1.2 Parámetros físicos

### 5.1.2.1 Temperatura del sustrato

Se registran datos de una temperatura de 28,7°C en las zonas de muestreo correspondiente al suelo 1 y el suelo 2, medido con un termómetro digital con sensor, este fue medido una vez en cada sector de estudio.

### 5.1.2.2 Humedad

El contenido de humedad mediante método gravimétrico resulta de la siguiente manera para los suelos seleccionados.

**Tabla 5.1** Porcentaje de humedad presente en los suelos de estudio.

| Suelo   | Peso húmedo (g) | Peso seco (g) | % Humedad |
|---------|-----------------|---------------|-----------|
| Control | 7.684           | 5.843         | 31.5      |
| Suelo 1 | 1.273           | 1.175         | 8.3       |
| Suelo 2 | 12.036          | 11.961        | 0.6       |

### 5.1.2.3 pH

El pH del suelo varía de 7,18 calificado como suelo neutro en el suelo 2, mientras que, para los otros dos suelos, que corresponden al control y suelo 1, los valores varían entre 7,63 y 7,55 respectivamente, calificándolos como ligeramente alcalinos en los suelos estudiados. Según la tabla 5.3 se califica como moderadamente alcalino (Poblete, 2011).

**Tabla 5.2** Promedio del pH en las muestras de suelo.

| Suelo         | Muestra | Multitester |             |
|---------------|---------|-------------|-------------|
|               |         | pH          | pH promedio |
| Suelo control | 1.1     | 7,48        | 7,63        |
|               | 1.2     | 7,70        |             |
|               | 1.3     | 7,72        |             |
| Suelo 1       | 2.1     | 7,53        | 7,55        |
|               | 2.2     | 7,55        |             |
|               | 2.3     | 7,56        |             |
| Suelo 2       | 3.1     | 6,99        | 7,18        |
|               | 3.2     | 7,37        |             |
|               | 3.3     | 7,19        |             |

**Tabla 5.3** Clasificación del suelo con respecto al pH de la solución del suelo (MOPT, 1992)

| Categorías               | pH          |
|--------------------------|-------------|
| Extremadamente ácido     | Menor a 4,5 |
| Muy fuertemente ácido    | 4,5-5,0     |
| Fuertemente ácido        | 5,1-5,5     |
| Medianamente ácido       | 5,6-6,0     |
| Ligeramente ácido        | 6,1-6,5     |
| Neutro                   | 6,6-7,3     |
| Ligeramente alcalino     | 7,4-7,8     |
| Moderadamente alcalino   | 7,9-8,4     |
| Fuertemente alcalino     | 8,5-9,0     |
| Muy fuertemente alcalino | Mayor a 9,0 |

### 5.1.3 Parámetros químicos

#### 5.1.3.1 Concentración de metales pesados en el suelo

En el caso del cobre , el análisis arroja los siguientes resultados expresados en la figura 5.3 en la cual se expresa el valor de concentración en microgramos sobre gramos o ppm en los distintos suelos analizados con su desviación estándar.

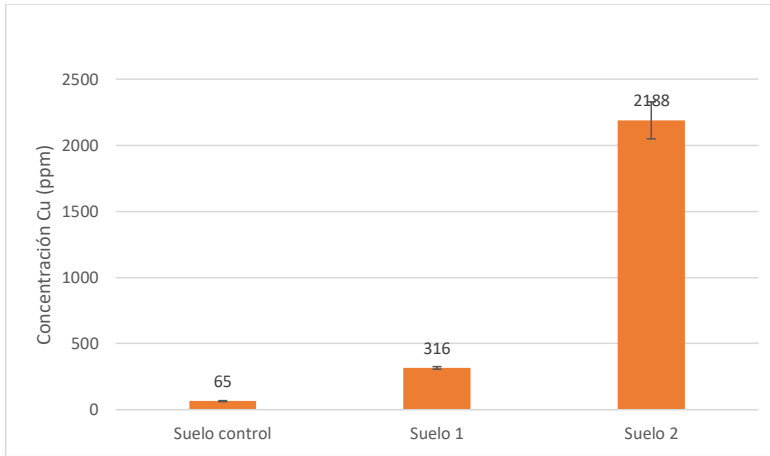


Figura 5.3 Promedio y desviación estándar de la concentración de cobre en los suelos de estudio.

Para el caso del hierro, se presentan las siguientes concentraciones ilustradas en la figura 5.4 en la cual se observa el valor de concentración en microgramos sobre gramos o ppm en los distintos suelos analizados con su desviación estándar.

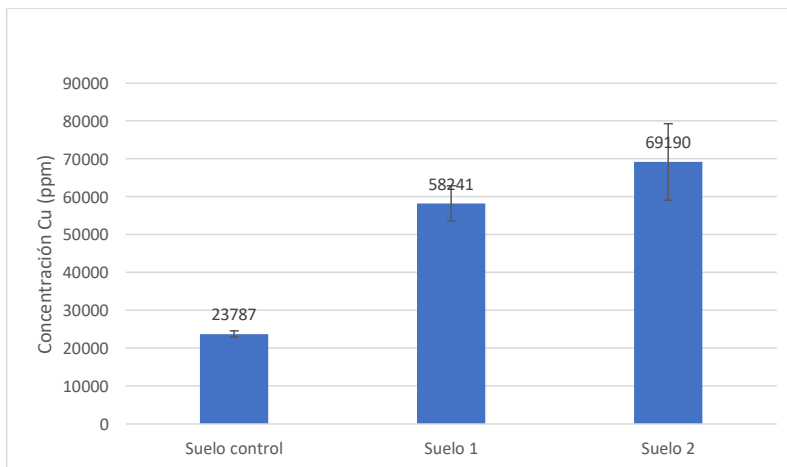


Figura 5.4 Promedio y desviación estándar de la concentración de hierro en los suelos de estudio

En las siguientes tablas se observan los resultados de los análisis de FRX para los suelos, para las tres muestras y sacando el promedio.

**Tabla 5.4** Distribución porcentual química del suelo control, determinado mediante análisis FRX Suelo control

| Suelo control            | Elementos                      | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 | PROMEDIO |
|--------------------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|
| Composición química<br>% | MgCO <sub>3</sub>              | 4,33      | 4,48      | 4,38      | 4,40     |
|                          | Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 11,86     | 11,90     | 11,85     | 11,87    |
|                          | SiO <sub>2</sub>               | 60,30     | 60,11     | 60,08     | 60,16    |
|                          | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>  | 0,00      | 0,10      | 0,05      | 0,05     |
|                          | SO <sub>3</sub>                | 0,27      | 0,26      | 0,25      | 0,26     |
|                          | K <sub>2</sub> O               | 2,43      | 2,46      | 2,49      | 2,46     |
|                          | CaCO <sub>3</sub>              | 9,55      | 9,38      | 9,45      | 9,46     |
|                          | TiO <sub>2</sub>               | 1,13      | 1,23      | 1,25      | 1,20     |
|                          | MnO                            | 0,34      | 0,36      | 0,36      | 0,35     |
|                          | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 9,81      | 9,71      | 9,85      | 9,79     |

**Tabla 5.5** Distribución porcentual química del suelo control, determinado mediante análisis FRX Suelo 1

| Suelo 1                  | Elementos                      | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 | PROMEDIO |
|--------------------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|
| Composición química<br>% | MgCO <sub>3</sub>              | 6,61      | 6,38      | 6,07      | 6,35     |
|                          | Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 7,99      | 8,00      | 7,72      | 7,90     |
|                          | SiO <sub>2</sub>               | 44,88     | 44,47     | 43,16     | 44,17    |
|                          | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>  | 0,00      | 0,09      | 0,00      | 0,03     |
|                          | SO <sub>3</sub>                | 1,94      | 1,93      | 1,99      | 1,95     |
|                          | K <sub>2</sub> O               | 3,34      | 3,39      | 3,34      | 3,35     |
|                          | CaCO <sub>3</sub>              | 10,20     | 10,06     | 10,39     | 10,22    |
|                          | TiO <sub>2</sub>               | 0,83      | 0,80      | 0,84      | 0,82     |
|                          | MnO                            | 0,26      | 0,30      | 0,28      | 0,28     |
|                          | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 23,96     | 24,59     | 26,22     | 24,92    |

**Tabla 5.6** Distribución porcentual química del suelo control, determinado mediante análisis FRX Suelo 2

| Suelo 2                  | Elementos                      | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 | PROMEDIO |
|--------------------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|
| Composición química<br>% | MgCO <sub>3</sub>              | 0,00      | 0,00      | 0,00      | 0,00     |
|                          | Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 4,61      | 4,89      | 4,38      | 4,63     |
|                          | SiO <sub>2</sub>               | 41,84     | 44,05     | 40,88     | 42,26    |
|                          | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>  | 0,00      | 0,00      | 0,00      | 0,00     |
|                          | SO <sub>3</sub>                | 1,78      | 1,84      | 1,71      | 1,78     |

|  |                                |       |       |       |       |
|--|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|  | K <sub>2</sub> O               | 1,67  | 1,78  | 1,61  | 1,69  |
|  | CaCO <sub>3</sub>              | 7,06  | 7,07  | 7,03  | 7,05  |
|  | TiO <sub>2</sub>               | 0,77  | 0,70  | 0,83  | 0,76  |
|  | MnO                            | 0,10  | 0,11  | 0,08  | 0,10  |
|  | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 42,17 | 39,57 | 43,01 | 41,59 |

## 5.2 OBJETIVO 2. SELECCIONAR LA TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN

### 5.2.1 Selección de la técnica de biorremediación

Para llevar a cabo la selección de la técnica más apropiada, se realizó una comparación mediante los distintos tipos de técnicas de biorremediación, los cuales se presentan en la tabla 5.7 que detalla el título del documento y el resumen que presenta.

**Tabla 5.7** Documentos preseleccionados para el método de biorremediación

| Documento / técnica  | Resumen  |
|--|--|
| “An eco-friendly method for heavy metal removal from mine tailings”<br>Fereshteh Arab & Catherine N. Mulligan<br>13 Marzo 2018 | Uno de los graves problemas ambientales que enfrenta la sociedad actual son los relaves mineros. Estos subproductos del proceso de la extracción de elementos valiosos de los minerales es una fuente de contaminación y una amenaza para el medio ambiente. Por ejemplo, relaves mineros de actividades mineras pasadas en Giant Mines, Yellowknife, se depositan en cámaras, rebajes y estanques de relaves cerca de las costas del Gran Lago de los Esclavos. Uno de los enfoques respetuosos con el medio ambiente para eliminar los metales pesados de estos relaves es mediante el uso de biosurfactantes durante el proceso de lavado del suelo. El objetivo del presente estudio es investigar el efecto de concentración de soforolípidos (SL), el volumen de solución de lavado por gramo de medio, pH y temperatura en la eficiencia de soforolípidos en la |

| Documento / técnica   | Resumen   |
|---|---|
|   | <p>eliminación de metales pesados de los relaves mineros. Se encontró que la eficiencia de los soforolípidos depende de su concentración, y se ve muy afectada por los cambios en el pH y la temperatura. Los resultados de este experimento muestran que al aumentar la temperatura de 15 a 23 °C, mientras se usaban soforolípidos, resultó en un aumento en la remoción de hierro, cobre y arsénico de la muestra de relaves mineros, de 0,25, 2,1 y 8,6 a 0,4, 3,3 y 11,7%. Al mismo tiempo, al aumentar la temperatura de agua desionizada (DIW) de 15 a 23 °C condujo a un aumento en la eliminación de hierro, cobre y arsénico de 0,03, 0,9 y 1,8 a 0,04, 1,1 y 2,1%, respectivamente. Al aumentar la temperatura de 23 a 35 °C, cuando se usan soforolípidos, 22% de reducción. Se observó eliminación de arsénico. Al mismo tiempo, mientras usa agua desionizada como solución de lavado, aumente la temperatura de 23 a 35°C dio como resultado un aumento del 6,2% en la eliminación de arsénico. Los resultados de este estudio actual indican que los soforolípidos son agentes prometedores para reemplazar los tensioactivos sintéticos en la eliminación de arsénico y otros metales pesados del suelo y los relaves mineros.</p> |
| <p>“Aplicación del hongo pleurotus ostreatus como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados”<br/>F. Burgos, J. M. Coello<br/>18 Julio 2012</p> | <p>Los contaminantes como metales pesados tienen la capacidad de provocar cambios evolutivos debido a sus efectos dañinos. El manejo inadecuado de los materiales y residuos peligrosos ha generado a nivel mundial, un problema de contaminación de los suelos y cuerpos de agua que han provocado un deterioro creciente de las fuentes de abastecimiento de agua potable. Es en base a este mal manejo que aumenta la demanda por buscar maneras económicas y sencillas de conservar limpias las áreas naturales, aquellas que han sido contaminadas por las acciones del hombre. Usando la Biotecnología como herramienta principal, se creará un método experimental que describa el uso del hongo</p>   |

| Documento / técnica | Resumen   |
|---------------------|---|
|                     | <i>Pleurotus Ostreatus</i> como Biorremediador, para suelos que contiene niveles tóxicos de metales pesados |

Como se puede observar en la siguiente tabla se desarrolla un análisis de las técnicas en base a las variables de disponibilidad y costo.

**Tabla 5.8** Comparación de los documentos y sus técnicas en base a la disponibilidad y al costo.

| Criterios      | Técnica 1   | Técnica 2  |
|----------------|---|--|
| Disponibilidad | No se cuenta con los equipos necesarios dentro de las instalaciones de la universidad | La universidad tiene los equipos e insumos necesarios para llevar a cabo este método |
| Costo          | Elevado   | Bajo costos  |

### 5.2.2 Comparación de organismos basidiomicetos competentes

Para una comparación apropiada de los organismos, se realizó una tabla en la cual se presentarán los hongos disponibles en el laboratorio y la información bibliográfica existente respecto al hongo y su uso en biorremediación.

**Tabla 5.9** Comparación entre los hongos.

| Lista hongos presentes en el laboratorio | Resumen de cada revisión bibliográfica encontrada con respecto a hongo   | Fuente  |
|--|--|---|
| <i>Irpes lacteus</i>                     |  | -   |
| <i>Trametes versicolor</i>               | “Habilidad de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> y <i>Trametes versicolor</i> para remover iones metálicos $Zn^{2+}$ , $Cr^{3+}$ , $Pb^{2+}$ ” (Solis, J. et al., 2015): En este estudio se evaluó la biosorción de $Zn^{2+}$ , $Cr^{3+}$ y $Pb^{2+}$ y se analizó su efecto sobre los parámetros de | <a href="https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=S0187-57792015000300189">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=S0187-57792015000300189</a> |

| Lista hongos presentes en el laboratorio | Resumen de cada revisión bibliográfica encontrada con respecto a hongo  | Fuente  |
|--|---|---|
|  | crecimiento cinéticos de la cepa <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ATCC 32629 y <i>Trametes versicolor</i> ATCC 1267.  |   |
|  | “Exploitation of trametes versicolor for bioremediation of endocrina disrupting chemicals in bioreactors” (Pezzella, C. <i>et al.</i> , 2017): En el presente estudio, se evaluaron las capacidades de degradación de <i>Trametes versicolor</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> y <i>Phanerochaete chrysosporium</i> para actuar sobre cinco EDC, que representan diferentes clases de productos químicos (fenoles, parabenos y ftalatos)                                       | <a href="https://www.researchgate.net/publication/317322734_Exploitation_of_Tr ametes_ versicolor_for_bior emediation_of_endocrine _disrupting_chemicals_in _bioreactors">https://www.researchgate.net/publication/317322734_Exploitation_of_Tr ametes_ versicolor_for_bior emediation_of_endocrine _disrupting_chemicals_in _bioreactors</a> |
| <i>Phanerochaete chrysosporium</i>       | “Habilidad de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> y <i>Trametes versicolor</i> para remover iones metálicos Zn <sup>2+</sup> , Cr <sup>3+</sup> , Pb <sup>2+</sup> ” (Solis, J. <i>et al.</i> , 2015): En este estudio se evaluó la biosorción de Zn <sup>2+</sup> , Cr <sup>3+</sup> y Pb <sup>2+</sup> y se analizó su efecto sobre los parámetros de crecimiento cinéticos de la cepa <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ATCC 32629 y <i>Trametes versicolor</i> ATCC 1267. | <a href="https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=S0187-57792015000300189">https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=S0187-57792015000300189</a>   |
|  | “Exploitation of trametes versicolor for bioremediation of endocrina disrupting chemicals in bioreactors” (Pezzella, C. <i>et al.</i> , 2017): En el presente estudio, se evaluaron las capacidades de degradación de <i>Trametes versicolor</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> y <i>Phanerochaete chrysosporium</i> para actuar sobre cinco EDC, que representan diferentes clases de productos químicos (fenoles, parabenos y ftalatos)                                       | <a href="https://www.researchgate.net/publication/317322734_Exploitation_of_Tr ametes_ versicolor_for_bior emediation_of_endocrine _disrupting_chemicals_in _bioreactors">https://www.researchgate.net/publication/317322734_Exploitation_of_Tr ametes_ versicolor_for_bior emediation_of_endocrine _disrupting_chemicals_in _bioreactors</a> |
| <i>Coniophora puteana</i>                | -   | -   |
| <i>Pleurotus ostreatus</i>               | “Exploitation of trametes versicolor for bioremediation of endocrina disrupting chemicals in bioreactors” (Pezzella, C. <i>et al.</i> , 2017): En el presente estudio, se evaluaron las capacidades de degradación de <i>Trametes versicolor</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> y <i>Phanerochaete chrysosporium</i> para actuar sobre cinco EDC, que representan diferentes clases de productos químicos (fenoles, parabenos y ftalatos)                                       | <a href="https://www.researchgate.net/publication/317322734_Exploitation_of_Tr ametes_ versicolor_for_bior emediation_of_endocrine _disrupting_chemicals_in _bioreactors">https://www.researchgate.net/publication/317322734_Exploitation_of_Tr ametes_ versicolor_for_bior emediation_of_endocrine _disrupting_chemicals_in _bioreactors</a> |

| Lista hongos presentes en el laboratorio | Resumen de cada revisión bibliográfica encontrada con respecto a hongo  | Fuente  |
|--|---|---|
| <i>Serpula lacrimans</i>                 | -   | -   |
| <i>Lentinula edodes</i>                  | -   | -   |
| <i>Phlebia acerina</i>                   | -   | -   |
| <i>Phanerochaete sordida</i>             | “Treatability study using <i>Phanerochaete sordida</i> for the bioremediation of DDT contaminated soil” (Safferman, S. <i>et al.</i> , 2008) Se realizó un estudio de tratabilidad para determinar el potencial de los hongos de pudrición blanca para remediar el suelo de un sitio Superfund que había sido contaminado con DDT. Se utilizó un enfoque escalonado, comenzando con estudios de laboratorio simples para evaluar el potencial de las cepas de hongos de pudrición blanca para degradar el DDT y culminando con un estudio de suelo que simuló la agricultura en la tierra. Los resultados de los primeros niveles del estudio indicaron que <i>Phanerochaete sordida</i> tenía el mejor potencial para remediar el suelo. | <a href="https://www.researchgate.net/publication/261590572_Treatability_study_using_Phanerochaete_sordida_for_the_bioremediation_of_DDT_contaminated_soil">https://www.researchgate.net/publication/261590572_Treatability_study_using_Phanerochaete_sordida_for_the_bioremediation_of_DDT_contaminated_soil</a> |
| <i>Peniophora pini</i>                   | -   | -   |
| <i>Junghuhnia nitida</i>                 | -   | -   |
| <i>Ceriporiopsis subvermispota</i>       | -   | -   |
| <i>Phlebia radiata</i>                   | -   | -   |
| <i>Phanerochaete affinis</i>             | -   | -   |
| <i>Bjerkandera adusta</i>                | -   | -   |
| <i>Postia placenta</i>                   | -   | -   |

### 5.2.3 Requerimientos de la seta

Existen rangos de tolerancia en los cuales los hongos se pueden desarrollar bajo condiciones óptimas, en la siguiente tabla se determinan las variables de temperatura, humedad, y el pH nos permiten diseñar el procedimiento para el proceso de biorremediación para los suelos seleccionados.

**Tabla 5.10** Requerimientos del hongo seleccionado.

| Parámetro        | Trametes versicolor | Pleurotus ostreatus | Phanerochaete sórdida | Phanerochaete cryosporium |
|------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------------|
| Temperatura (°C) | 17-30               | 25-30               | 25-30                 | 30-39                     |
| Humedad (%)      | 85-95               | 80-90               | 60-80                 | 60-80                     |
| pH               | 5                   | 5-6                 | 4.5-5.5               | 4-4.5                     |

(Fuente Agrocontinental, 2022)

#### 5.2.4 Ensayo determinación de la biomasa

**Tabla 5.11** Determinación de la biomasa obtenida en 12 días.

| Hongo                            | Peso placa (g) | Peso inicial placa+micelio (g) | Peso post 105°C (g) | Peso post 60°C (g) | Peso post 60°C (g) |
|----------------------------------|----------------|--------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| <i>Pleurotus ostreatus</i>       | 28.4           | 30.2gr                         | 29.4                | 29.4               | 29.4               |
| <i>Phanerochaete cryosporium</i> | 24.2           | 26.5                           | 25.0                | 24.6               | 24.6               |
| <i>Phanerochaete sórdida</i>     | 26.5           | 31.4                           | 28.3                | 27.7               | 27.7               |
| <i>Trametes versicolor</i>       | 27.7           | 29.9                           | 28.5                | 27.9               | 27.9               |

**Tabla 5.12** Pesos húmedos y secos a los 12 días y determinación de la biomasa gramos por días

| Hongo                            | Peso húmedo (g) | Peso seco (g) | Biomasa (g/día) |
|----------------------------------|-----------------|---------------|-----------------|
| <i>Pleurotus ostreatus</i>       | 1.8             | 0.8           | 0.067           |
| <i>Phanerochaete cryosporium</i> | 2.3             | 0.2           | 0.016           |
| <i>Phanerochaete sórdida</i>     | 4.9             | 1.1           | 0.092           |

|                            |     |     |       |
|----------------------------|-----|-----|-------|
| <i>Trametes versicolor</i> | 2.2 | 0.2 | 0.016 |
|----------------------------|-----|-----|-------|

### 5.2.5 Ensayo biorremediación

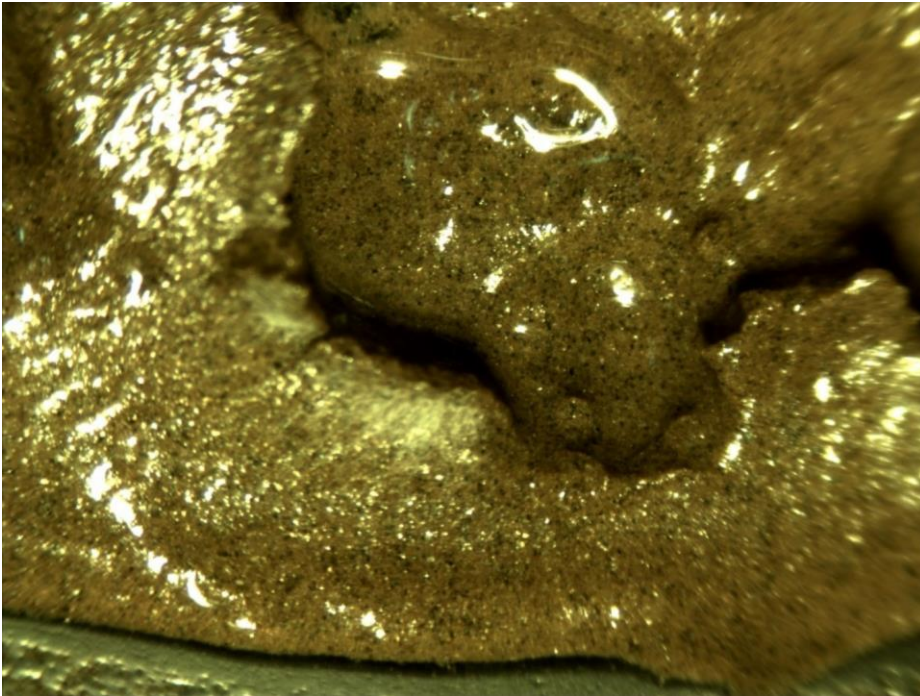
Para llevar a cabo la biorremediación se consideran las variables de las características fisicoquímicas del suelo y los requerimientos del hongo.

**Tabla 5.13** Comparación entre las características del suelo y los requerimientos del hongo.

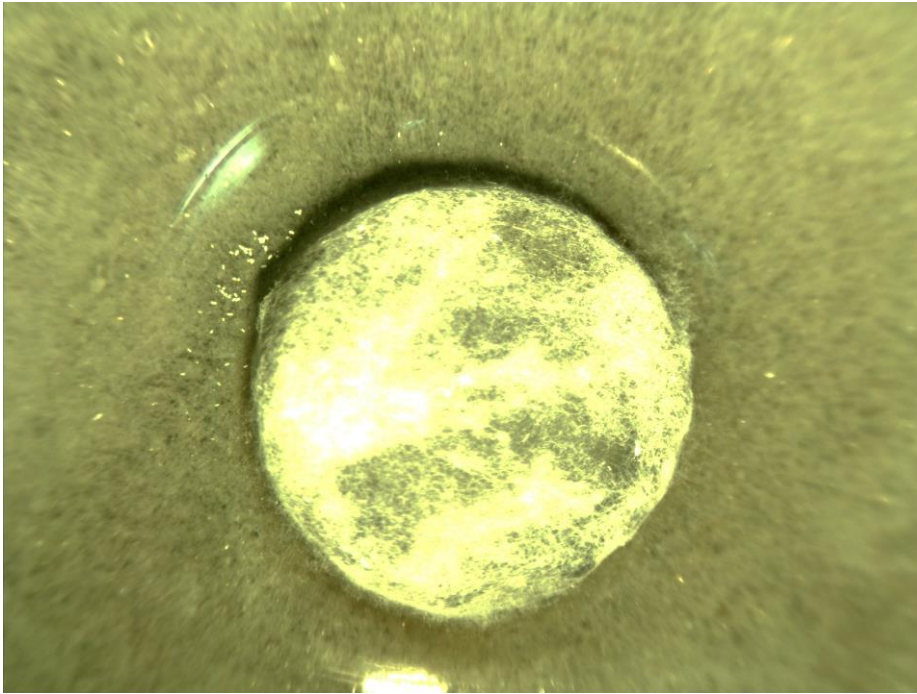
| Parámetro   | Caracterización fisicoquímica del suelo |         |         | Requerimientos del hongo |       |         |       |
|-------------|---|---------|---------|--------------------------|-------|---------|-------|
|             | Suelo control                           | Suelo 1 | Suelo 2 | TV                       | PO    | PS      | PC    |
| Temperatura | -                                       | 28,7    | 28,7    | 17-30                    | 25-30 | 25-30   | 30-39 |
| Humedad     | 31,5%                                   | 8,3%    | 0,6%    | 85-95                    | 80-90 | 60-80   | 60-80 |
| pH          | 7,63                                    | 7,55    | 7,18    | 5                        | 4,5-7 | 4,5-5,5 | 4-4,5 |

#### 5.2.5.1 Tratamiento A

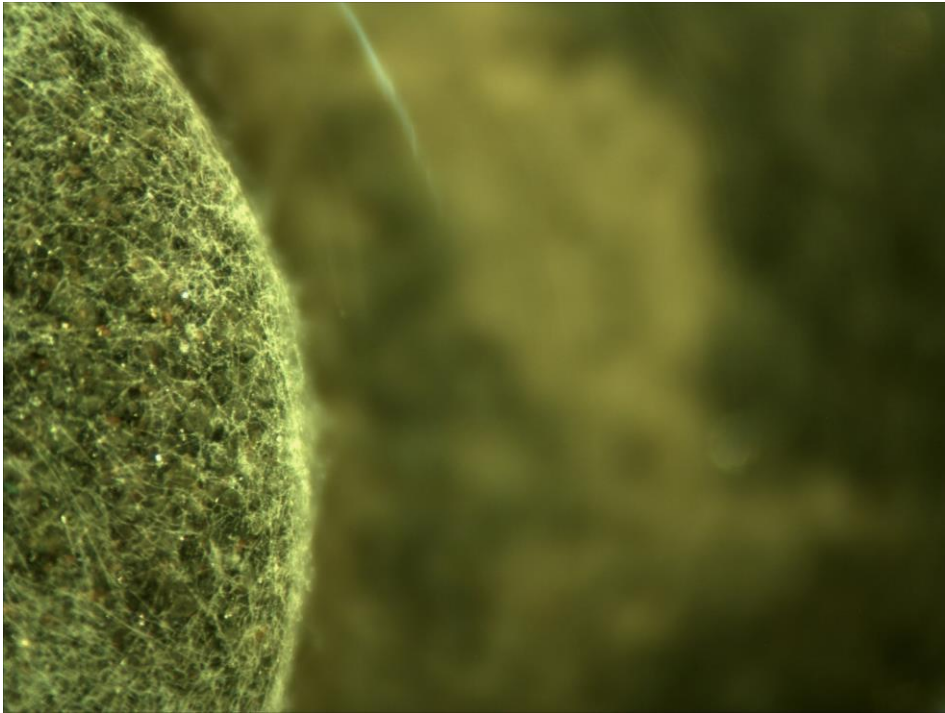
El tratamiento A fue observado bajo lupa y sus crecimientos se pueden observar a continuación



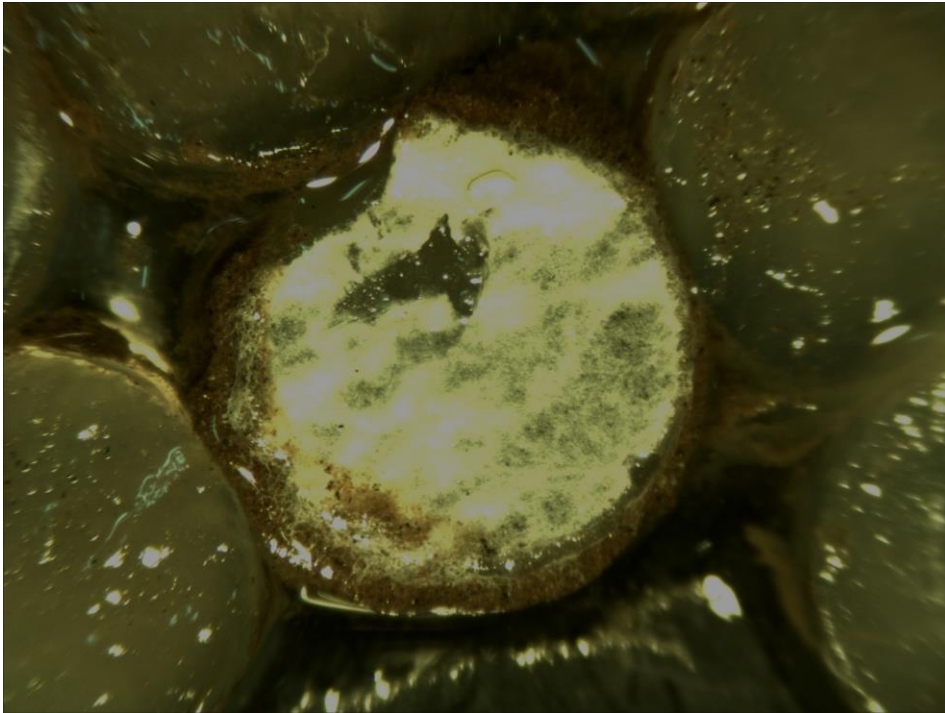
*Figura 5.5* Crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en suelo control a 60 días método experimental A en 1X.



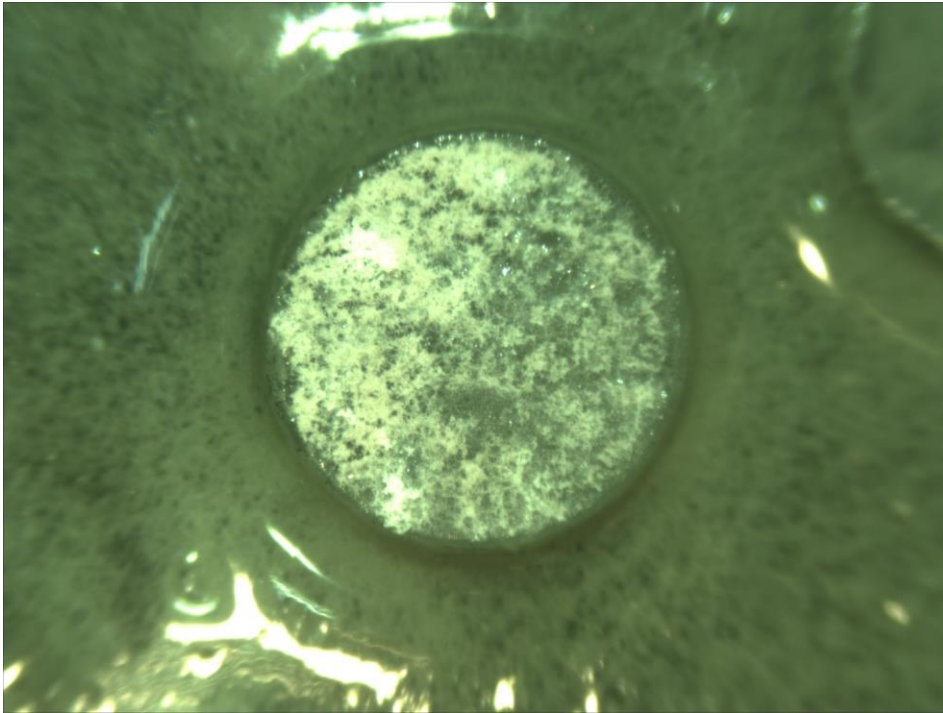
*Figura 5.6* Crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en suelo 1 a 60 días método experimental A en 1X.



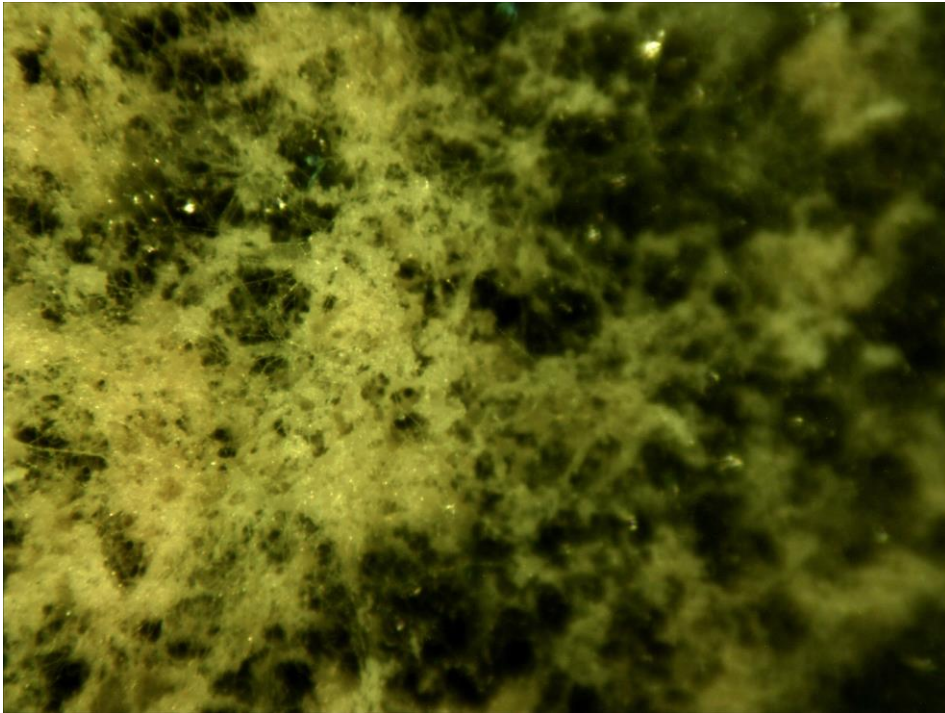
*Figura 5.7* Crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en suelo 2 a 60 días método experimental A en 4X.



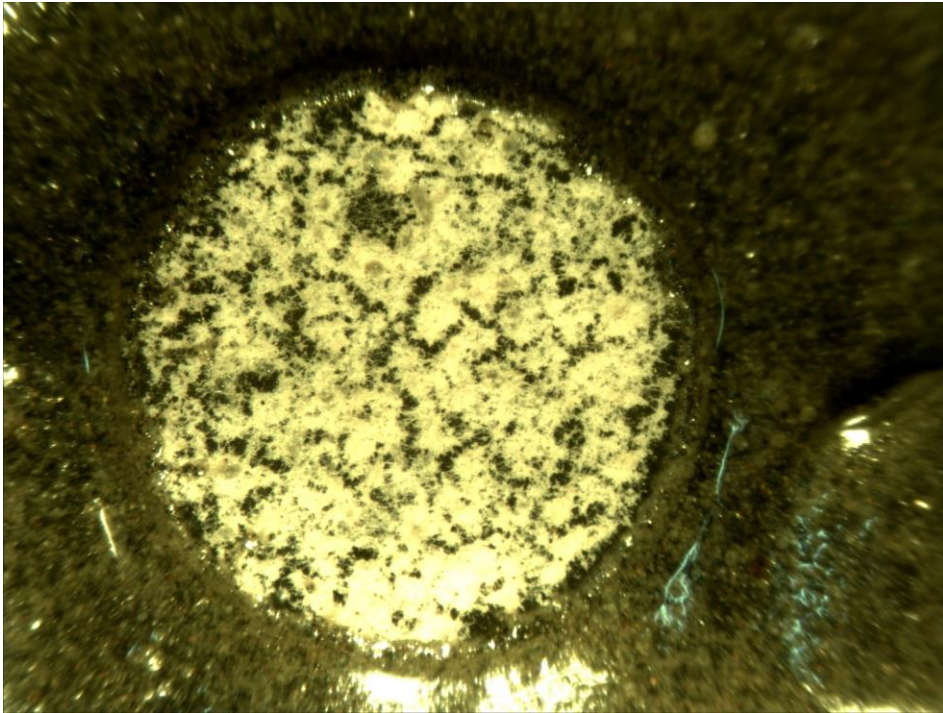
**Figura 5.8** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo control a 60 días método experimental A en 2X.



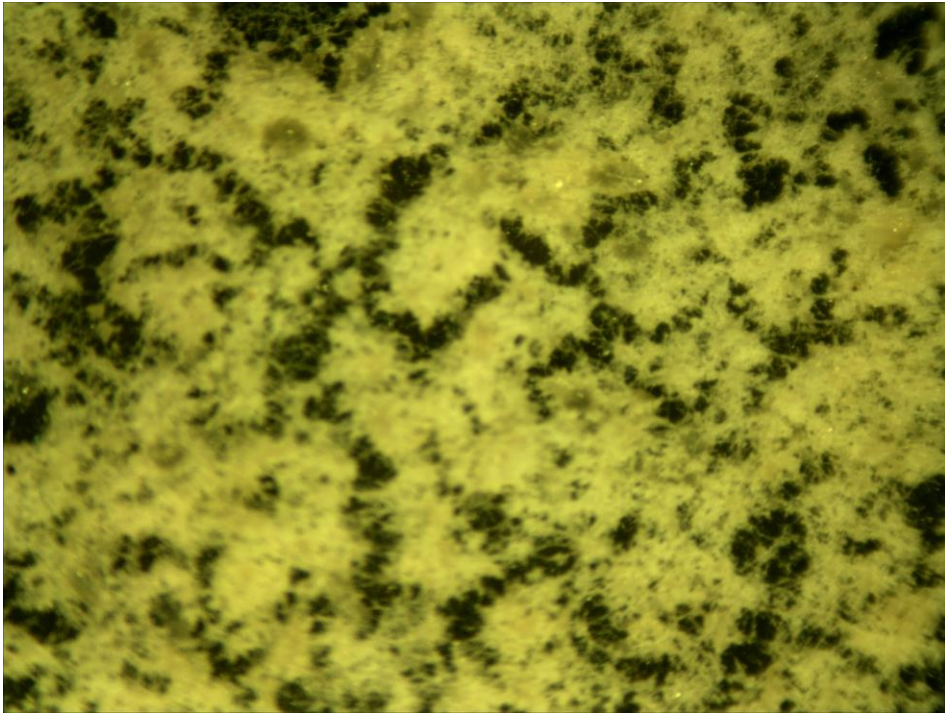
*Figura 5.9* Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 1 a 60 días método experimental A en 1X.



**Figura 5.10** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 1 a 60 días método experimental A en 4X.



*Figura 5.11* Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 2 a 60 días método experimental A en 2X.



**Figura 5.12** Crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* en suelo 2 a 60 días método experimental A en 4X.

5.2.5.2 Tratamiento B



Figura 5.13 Tratamiento B donde se ve el hongo en tratamiento en conjunto con el suelo.

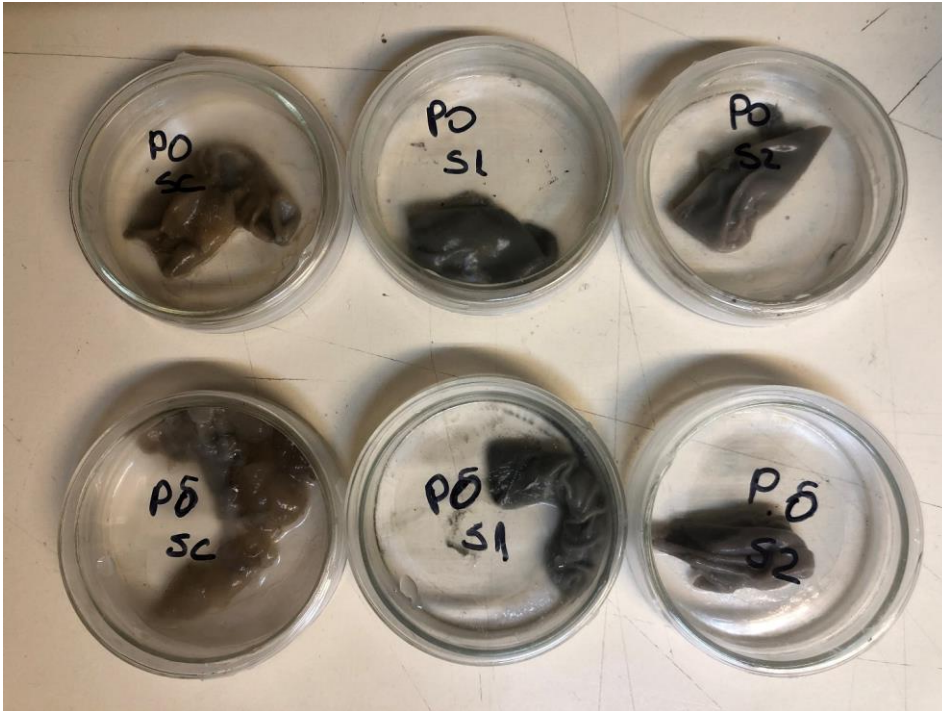


Figura 5.14 Tratamiento B a los 10 días de *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete sordida*.

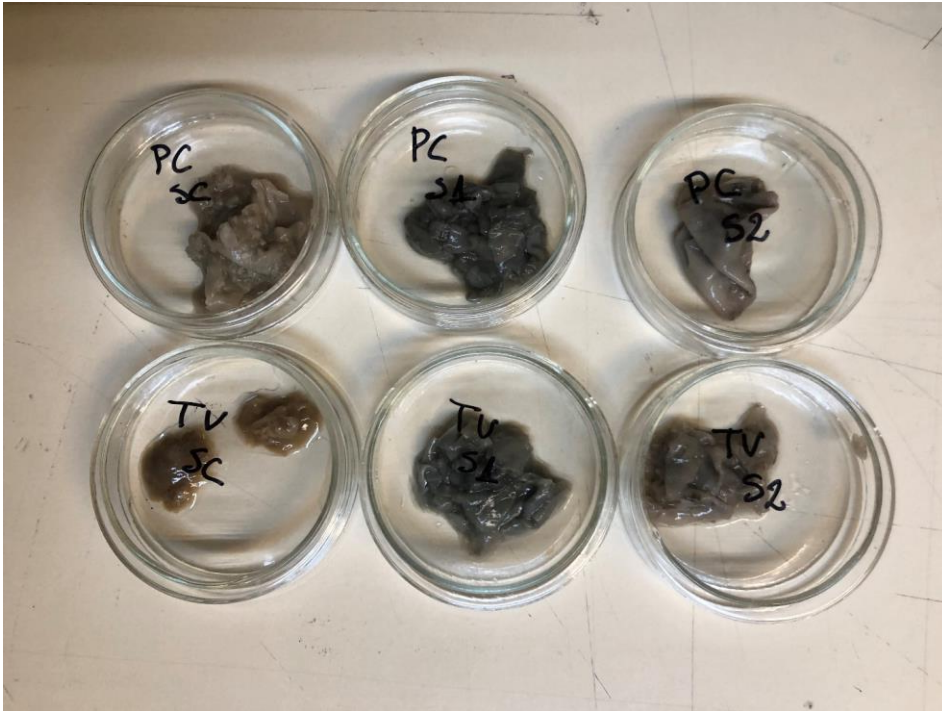


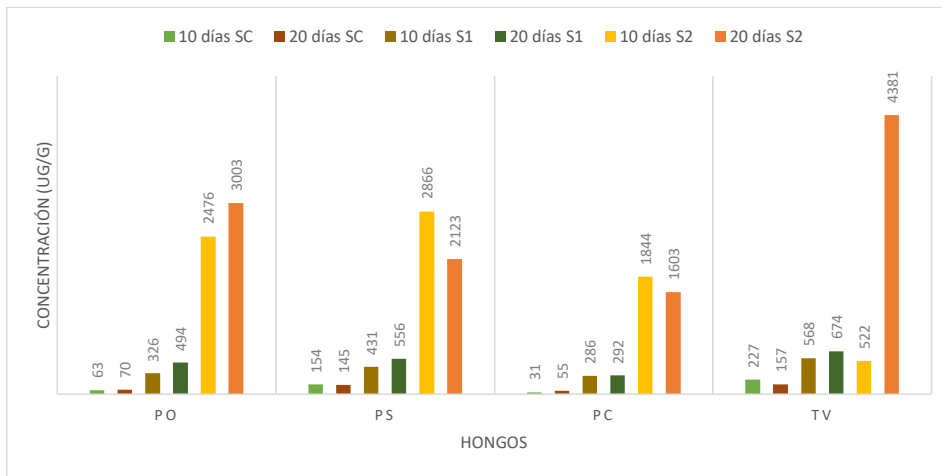
Figura 5.15 Experimento B a los 10 días de *Phanerochaete chrysosporium* y *Trametes versicolor*.



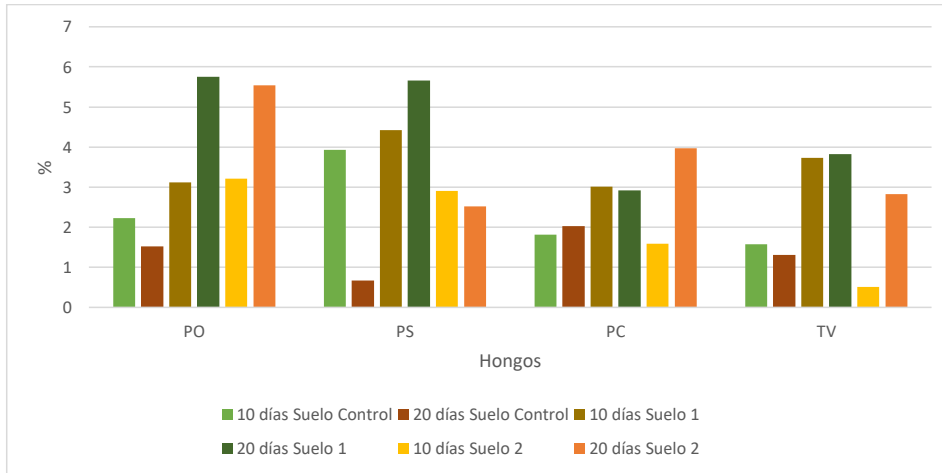
Figura 5.16 Tratamiento B a los 20 días con todos los hongos y en los distintos suelos.

### 5.2.6 Contenido de metales pesados en la biomasa

Luego de la lectura del ICP-ÓPTICO para el experimento B a los 10 y 20 días en los suelos control (SC), suelo 1 (S1) y suelo 2 (S2), se obtienen los siguientes resultados de concentración de cobre presentes en la biomasa.

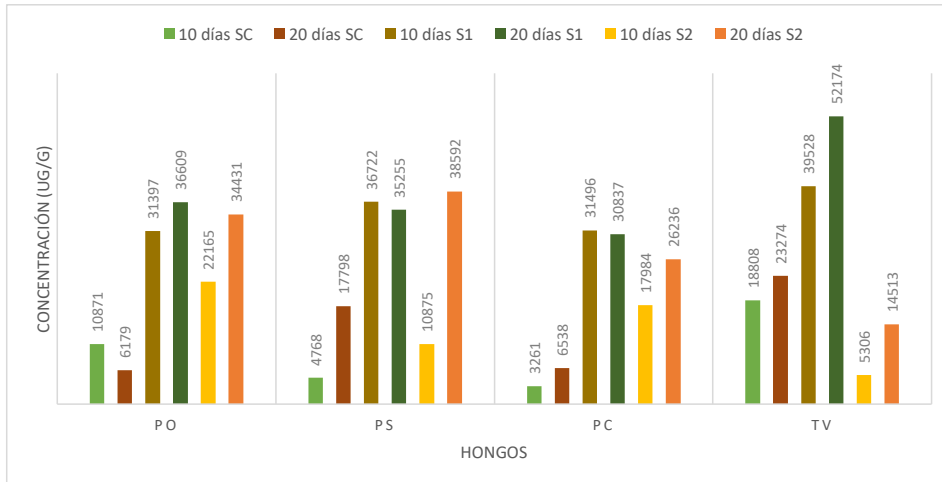


**Figura 5.17** Concentración de cobre captado por los hongos en función del tiempo, a 10 y 20 días, y en tres suelos distintos

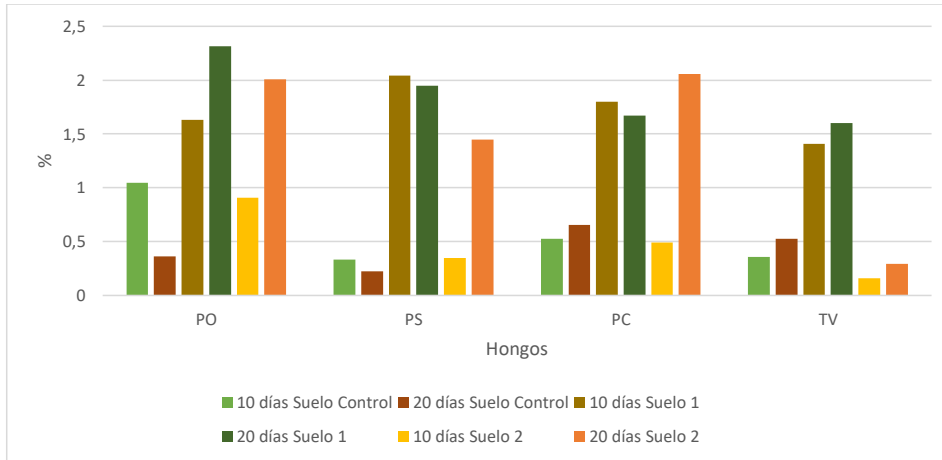


**Figura 5.18** Porcentaje de cobre captado por el hongo en los distintos suelos tratados y en distintos tiempos de análisis.

Además, se gestiona la lectura del ICP-ÓPTICO para el experimento B a los 10 y 20 días en los suelos control (SC), suelo 1 (S1) y suelo 2 (S2), y se obtienen los siguientes resultados de concentración de hierro presentes en la biomasa.



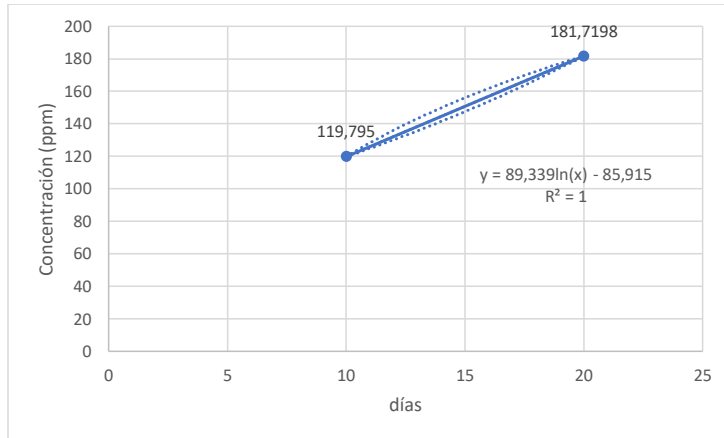
**Figura 5.19** Concentración de hierro captado por los hongos en función del tiempo, a 10 y 20 días, y en tres suelos distintos.



**Figura 5.19** Porcentaje de hierro captado por el hongo en los distintos suelos tratados y en distintos tiempos de análisis.

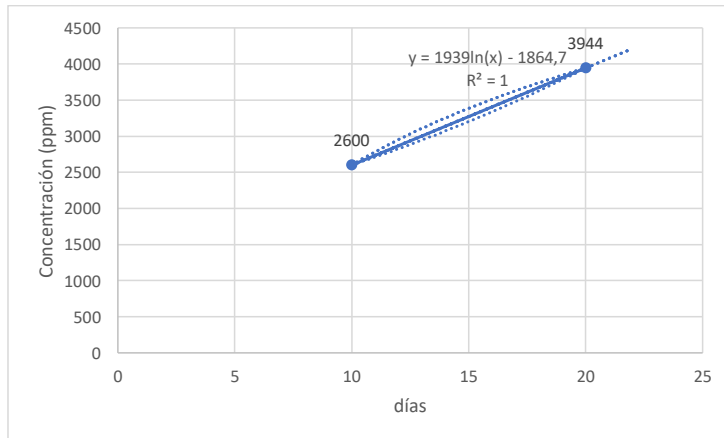
Debido a que el *Pleurotus ostreatus* fue el hongo que arrojó mejores resultados fue el que se elige para la propuesta de biorremediación.

Se genera la siguiente gráfica que presenta la ecuación que relaciona entre la cantidad de cobre en el suelo y los días del tratamiento del *Pleurotus ostreatus* con 0,3686 gramos de biomasa fúngica en cobre en el Suelo 1.



**Figura 5.21** Gráfica de la captación de cobre del hongo *Pleurotus ostreatus* en 10 y 20 días.

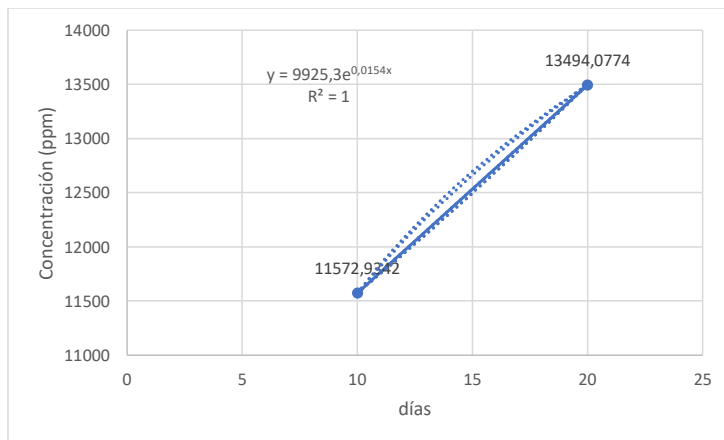
En base esto se obtiene que con 0,3686 gr de hongo en 10 gramos de suelo necesitaríamos 347 días para retirar todo el cobre presente en la muestra. Por lo que se genera una nueva extrapolación, con una biomasa de 8 gramos. En la siguiente grafica obtenemos la relación entre la cantidad de cobre en 10 gramos del suelo 1 y los días de tratamiento del hongo con 8 gramos de biomasa fúngica.



**Figura 5.22** Gráfica de la captación de cobre del hongo *Pleurotus ostreatus* en 10 y 20 días con 8 gramos de biomasa fúngica.

En esta última extrapolación tenemos que con 8 gramos del hongo en cuestión necesitaríamos de 13 días para retirar todo el cobre presente en la muestra. Esto quiere decir que si tenemos el hongo y el suelo en relación de 4:5 en 13 días podríamos remediar la cantidad total de cobre que presenta.

Para el caso del hierro se obtuvo la siguiente gráfica que relaciona la cantidad de hierro en el suelo y los días de tratamiento del hongo *Pleurotus ostreatus* con 0,3686 gr de biomasa fúngica. Con esta ecuación se obtiene que a los 115 días se podría captar la cantidad total de hierro en la muestra.



**Figura 5.23** Gráfica de la captación de hierro del hongo *Pleurotus ostreatus* en 10 y 20 días.

Al generar una nueva grafica con 2 gramos del hongo para 10 gramos de suelo se tiene que en base a esta nueva extrapolación necesitaríamos de 7 días para retirar todo el hierro de la muestra. Podemos concluir que, si tenemos el hongo y el suelo en relación de 1:5 en 7 días podríamos remediar la cantidad total de hierro que presenta.

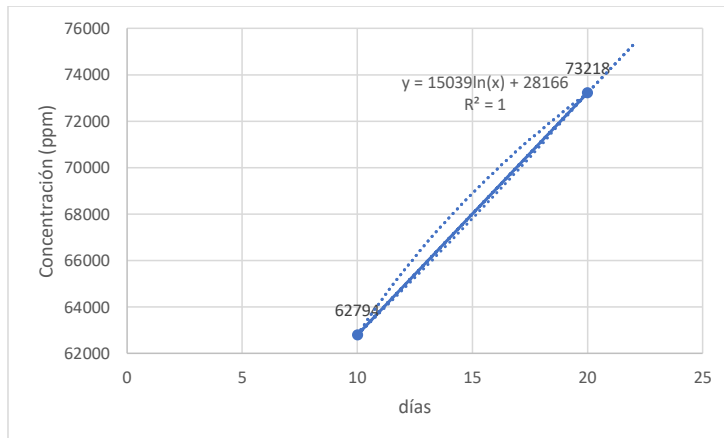


Figura 5.24 Gráfica de la captación de fiero del hongo *Pleurotus ostreatus* en 10 y 20 días con 2 gramos de biomasa fúngica.

### 5.3 OBJETIVO 3. DISEÑAR PROCEDIMIENTO DE BIORREMEDIACIÓN

Se considera un terreno de 100m<sup>2</sup> como base para llevar a cabo la biorremediación, esto quiere decir que no se propone llevar a cabo el diseño para el volumen total del relave, y que los cálculos estarán gestionados para remediar una pequeña área de éste. Esto con la finalidad de hacer una comparación entre las dos propuestas que se generarán.

#### 5.3.1 Diseño de la propuesta

##### 5.3.1.1 Diagnóstico de la zona de estudio

Tabla 5.14 Hoja de diagnóstico de la biorremediación 1.

| DISEÑO DE BIORREMEDIACIÓN 1 |
|-----------------------------|
| Suelo 1                     |



**Figura 5.20** Vista aérea del relave de donde se sacó el suelo 1.

**Inspección visual**

Existe un camino pavimentado que llega hasta el lugar, no hay grandes pendientes, carece de biodiversidad y está a una distancia de 5.1 km de las casas de la ciudad de Copiapó.

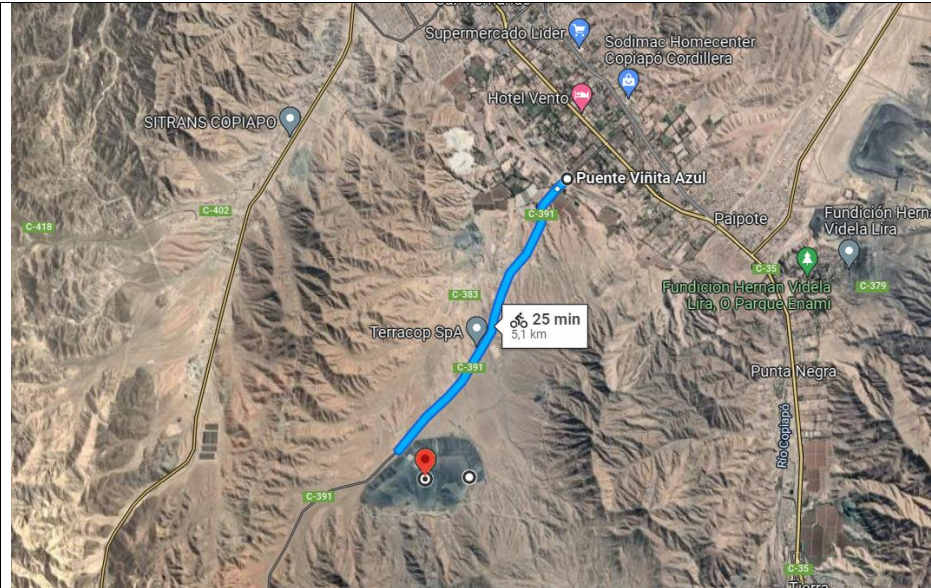


Figura 5.21 Distancia desde el Suelo 1 a la ciudad de Copiapó

Temperatura del suelo 28,7 °C

Humedad del suelo 8,3%

pH del suelo en solución 7,55

Concentración de cobre 316 ppm

Concentración de hierro 58241 ppm

Según la inspección visual, se determina que debido a la lejanía con la población es factible realizar la propuesta de manera *in situ*, y trabajar en el terreno en la capa superficial de volumen, a 20 cm de profundidad con 100 m<sup>2</sup>.

Tabla 5.15 Hoja de diagnóstico de la biorremediación 2.

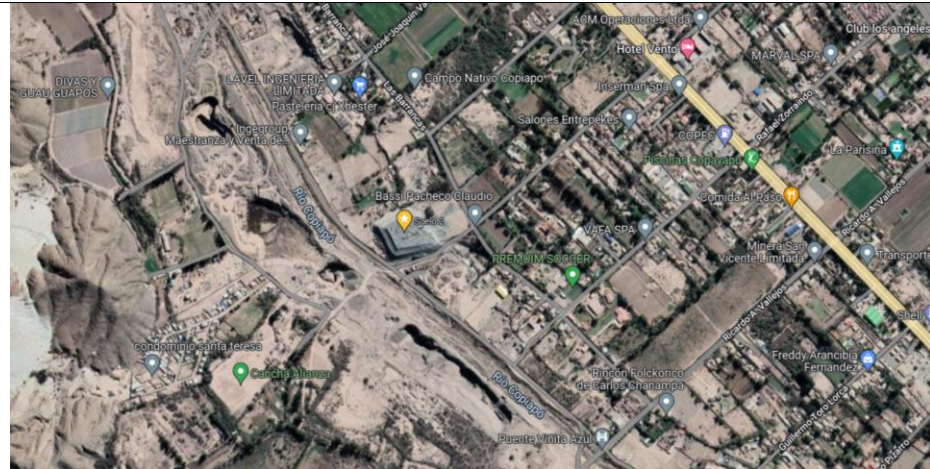
| DISEÑO DE BIORREMEDIACIÓN 2 |
|-----------------------------|
| Suelo 2                     |



**Figura 5.22** Vista aérea del relave de donde se sacó el suelo 2.

**Inspección visual**

Existe un camino pavimentado que llega hasta el lugar, no hay grandes pendientes, carece de biodiversidad y está inserto dentro de las casas de la ciudad de Copiapó.



**Figura 5.23** Distancia desde el Suelo 1 a la ciudad de Copiapó

**Temperatura del suelo** 28,7 °C

**Humedad del suelo** 0,6%

**pH del suelo en solución** 7,18

**Concentración de cobre** 2188 ppm

**Concentración de hierro** 69190 ppm

Luego de el diagnostico al lugar se determina que lo mejor sería llevar a cabo una remediación ex situ, Off Site. De manera que los 100 m<sup>2</sup> con 20cm de profundidad serán trasladados a un laboratorio donde se hará el tratamiento.

### 5.3.1.2 Producción

**Tabla 5.16** Hoja de producción de la biorremediación 1.

| <b>DISEÑO DE BIORREMEDIACIÓN 1 in situ</b>   |  |
|--|--|
| Suelo 1  |  |
| Procedimiento  |  |
| Como la propuesta está destinada a 100 m <sup>2</sup> se pide al usuario que formule un cuadrante de 10 m x 10 m, ésta es el área para abarcar, aplicado a los primeros 20 cm de suelo. Para ello aplicamos la siguiente |  |

relación establecida en el ensayo de biorremediación, si tenemos el hongo y el suelo en relación de 4:5 de masa en 14 días podríamos remediar la cantidad total de cobre que presenta.

Por lo que el área total presenta un volumen de:

$$Volumen = 10 * 10 * 0.2 = 20m^3$$

Esto lo convertimos a kg con la densidad del suelo que es de 1,605kg/m<sup>3</sup>

$$Masa\ de\ suelo = 20 * 1,605 = 32,1\ kg$$

Cómo sabemos que la relación hongo:suelo es 4:5 entonces la relación queda en 26:32 en kg. Para obtener 26 kg del hongo si crece a 0.067gr/día en base a 50ufc debemos realizar una inoculación de 50000 ufc y obtenemos 3350 gr/día.

$$Generación\ diaria\ de\ biomasa\ fúngica = \frac{26000\ (gr)}{14\ días} = 1857.14\left(\frac{gr}{día}\right)$$

$$Cantidad\ de\ inoculos\ (ufc) = Generación\ diaria\ biomasa\left(\frac{gr}{día}\right) * \frac{50ufc}{0.067\left(\frac{gr}{día}\right)}$$

$$Cantidad\ de\ inoculos = 1.385.925.37(ufc)$$

$$Cantidad\ de\ placas\ Petri = \frac{1.385.925,37(ufc)}{150(ufc)}$$

$$Cantidad\ de\ placas\ Petri = 9.239,50\ unidades$$

$$Cantidad\ de\ extracto\ de\ malta(L) = 9.239,50 * 3 * 0,15L$$

$$Cantidad\ de\ extracto\ de\ malta = 4.157,78\ L$$

De acuerdo con el resultado obtenido, se requiere alrededor de 9.240 placas Petri inoculadas con el hongo con una semana de crecimiento en medio agar agar, y luego traspasarlo a un medio líquido. Para su crecimiento necesitamos 4,158 m<sup>3</sup> de extracto de malta como el medio líquido sobre el cual se desarrollará el micelio.

En esta ocasión se propone que, en unos 4 contenedores tipo piscina de 2,5 m \* 2,5 m se lleve a cabo la “tela” o “alfombra” que buscamos crear con el micelio, previa esterilización de todos los materiales, y el entorno sobre el cual estarán estos contenedores.

Una vez creada esta tela, se recomienda trasladar en el mismo contenedor, que este sellado para evitar la contaminación.

Una vez llegado al lugar de remediación, se cerca la zona con una malla, y se procede a montar una estructura que denominaremos cámara de generación de microclima, de 3m\*3m con una altura de 2m, con maderas de pino dimensionado seco de 2\*2\*3,2 m<sup>3</sup> y un plástico negro que cubra toda la superficie de las paredes y el techo. Se integra un termohigrómetro para estar controlando la temperatura y la humedad. Se integra un aspersor de agua o humidificador para aumentar la humedad en caso de ser necesario, ventilador para evitar excesos de temperatura y paredes de plumavit internas para evitar los cambios bruscos de temperatura.

Se deja actuar por 14 días y luego la alfombra de micelio es retirada mediante el enrollamiento de la tela y depositada en los contenedores de traslado. Se sella y se traslada hacia su disposición final.

A continuación, se desmonta la estructura del suelo y se procede a remediar el próximo cuadrante, hasta completar la zona requerida. Se recomienda no reutilizar la tela.

Se requiere de al menos una persona encargada del laboratorio, idealmente dos.

Se requiere dos personas para montar la estructura para la remediación.

Se requiere un cuidador de los hongos que verifique la temperatura y humedad cada 1 hora. Idealmente dos personas para intercambio de turnos.

|                        |                                |
|------------------------|--------------------------------|
| Materiales laboratorio | 200 Guantes<br>100 Mascarillas |
|------------------------|--------------------------------|

|   |   |
|---|---|
|   | <p>2Bata o cotona</p> <p>2Pinzas</p> <p>2 Sacabocado</p> <p>10L Alcohol 70%</p> <p>2 Asas</p> <p>1 Parafilm</p> <p>1 Cinta adhesiva</p> <p>2 Lápiz</p> <p>2 Tijeras</p> <p>1 Luz ultravioleta</p> <p>4 Contenedor tipo piscina 2,5m*2,5m</p> <p>10 kilos Agar Agar</p> <p>150 m<sup>3</sup> Extracto de malta</p> <p>9.240 Placas petri</p> |
| <p>Materiales para la aplicación <i>in situ</i></p> | <p>80 m<sup>2</sup> Malla para cubrir el sector</p> <p>35m<sup>2</sup> Plástico negro</p> <p>20 maderas de pino dimensionado seco de 2x2x3,2m</p> <p>35m<sup>2</sup> Plumavit</p> <p>Clavos</p> <p>Humidificador</p> <p>Ventilador</p> <p>Termohigrómetro</p> <p>Baño químico</p>   |
| <p>Maquinaria</p>                                   | <p>Camión con contenedor cerrado</p>  |

**Tabla 5.17** Hoja de producción de la biorremediación 2.

|   |
|---|
| <b>DISEÑO DE BIORREMEDIACIÓN 2 <i>ex situ</i></b> |
| Suelo 2   |
| Procedimiento                                     |

Como la propuesta está destinada a 100 m<sup>2</sup> se pide al usuario que formule un cuadrante de 10 m x 10 m, ésta es el área para abarcar. Para ello aplicamos la siguiente relación establecida en el ensayo de biorremediación donde si tenemos el hongo y el suelo en relación de 4:5 de masa en 13 días podríamos remediar la cantidad total de cobre que presenta.

Por lo que el área total presenta un volumen de

$$Volumen = 10 * 10 * 0.2 = 20m^3$$

Esto lo pasamos a kg con la densidad del suelo que es de 1,605kg/m<sup>3</sup>

$$Masa\ de\ suelo = 20 * 1,605 = 32,1\ kg$$

Cómo sabemos que la relación hongo:suelo es 4:5 entonces la relación queda en 26:32 en kg. Para obtener 26 kg del hongo si crece a 0.067gr/día en base a 50ufc debemos realizar una inoculación de 50000 ufc y obtenemos 3350 gr/día.

$$Generación\ diaria\ de\ biomasa\ fúngica = \frac{26000\ (gr)}{14\ días} = 1857.14\left(\frac{gr}{día}\right)$$

$$Cantidad\ de\ inoculos\ (ufc) = Generación\ diaria\ biomasa\left(\frac{gr}{día}\right) * \frac{50ufc}{0.067\left(\frac{gr}{día}\right)}$$

$$Cantidad\ de\ inoculos = 1.385.925.37(ufc)$$

$$Cantidad\ de\ placas\ Petri = \frac{1.385.925,37(ufc)}{150(ufc)}$$

$$Cantidad\ de\ placas\ Petri = 9.239,50\ unidades$$

$$Cantidad\ de\ extracto\ de\ malta(L) = 9.239,50 * 3 * 0,15L$$

*Cantidad de extracto de malta = 4.157,78 L*

De acuerdo al resultado obtenido, se necesita alrededor de 9.240 placas Petri inoculadas con el hongo con una semana de crecimiento en medio agar agar, para luego traspasarlo a un medio líquido. Para su crecimiento necesitamos 4,18m<sup>3</sup> de extracto de malta como el medio líquido sobre el cual se desarrollará el micelio.

En esta ocasión se propone que, en 100 bandejas de 50 cm \* 50 cm se produzca la tela o “alfombra” que buscamos crear con el micelio, previa esterilización de todos los materiales, y el entorno sobre el cual estarán estos contenedores.

Como esta remediación es *ex situ* tenemos que es necesario contar con un camión que traslade el suelo desde el sitio de tratamiento hasta el laboratorio ya que será de manera Off Site.

Se deja actuar por 14 días y luego la alfombra de micelio es retirada mediante el enrollamiento de la tela y depositada en los contenedores donde se trajo. Se sella y se traslada hacia su disposición final. Se desmonta la estructura del suelo y se procede a remediar el próximo cuadrante, hasta completar la zona requerida. Se recomienda no reutilizar la tela.

Se requiere de al menos una persona encargada del laboratorio, idealmente dos.

Se requiere dos personas para montar la estructura para la remediación.

Se requiere un cuidador de los hongos que verifique la temperatura y humedad cada 1 hora. Idealmente dos personas para intercambio de turnos.

|                        |  |
|------------------------|--|
| Materiales laboratorio | 200 Guantes<br>100 Mascarillas<br>2 Bata o cotona<br>2 Pinzas<br>2 Sacabocado<br>10L Alcohol 70%<br>2 Asas |
|------------------------|--|

|  |   |
|--|---|
|  | <p>1 Parafilm</p> <p>1 Cinta adhesiva</p> <p>2 Lápiz</p> <p>2 Tijeras</p> <p>1 Luz ultravioleta</p> <p>4 Contenedor tipo piscina 2,5 m * 2,5 m</p> <p>10 kilos Agar Agar</p> <p>150 m<sup>3</sup> Extracto de malta</p> <p>9.240 Placas Petri</p> |
| Materiales para la aplicación <i>ex situ</i> | <p>Retroexcavadora</p> <p>Incubadora</p> <p>Baño químico</p>  |
| Maquinaria                                   | <p>Camión con contenedor cerrado</p>  |

### 5.3.1.3 Condiciones ambientales para llevar a cabo la biorremediación

| Parámetro          | <i>In situ</i>  | <i>Ex situ</i>                                 |
|--------------------|---|--|
| <b>Temperatura</b> | <p>Para el control de la temperatura se recomienda un ventilador prendido durante el horario de 12 del día hasta las 14 horas. Esto debido a que son las horas de más altas temperaturas. Además, las paredes de plumavit generan el resguardo que necesitan para las horas más frías.</p> <p>Se recomienda medir con un termómetro digital con sensor.</p> | <p>Basta con ajustar la incubadora a 28°C.</p> |

|  |  |  |
|--|--|--|
| <p><b>Humedad</b> Debido a que estos suelos presentan humedad de 8,3 y 0,6% en los suelos 1 y 2, respectivamente es que se necesita llevar a 70% de humedad.</p> | <p>Para la propuesta <i>in situ</i> tenemos que calcular el área del suelo a remediar en la cámara de generación de microclima. Si cada cámara tiene 3m*3m de área serían 9m<sup>2</sup> y considerando una profundidad de 20 cm serían 1,8m<sup>3</sup> de suelo, lo que equivale a 2,889kg de suelo a tratar por cuadrante, para humectarlo de 8,3% al 70% necesitamos agregar 1,783L de agua cada 1 horas, o cada vez que baje de 50% de humedad.</p> | <p>Basta con ajustar la incubadora entre 70-80% de humedad. Si tenemos 2,889kg de suelo a tratar por cuadrante, para humectarlo de 8,3% al 70% necesitamos agregar 1,783L de agua cada 1 horas, o cada vez que baje de 50% de humedad.</p> |
| <p><b>pH</b></p>   | <p>En este caso el rango de pH concuerda con el rango de tolerancia del hongo, de no ser así se debe tener en consideración cierto porcentaje de error debido a que el hongo no se desarrolla bien fuera del rango de tolerancia admitido.</p>   |  |

### 5.3.2 Plan de seguimiento

A continuación, se presenta el cronograma de actividades para la o el encargada o encargado de laboratorio.

**Tabla 5.18** Plan de seguimiento actividades producción de tela

| Actividad              | Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Semana 4 | Semana 5 |
|------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Activación del micelio |          |          |          |          |          |

|  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|
| Preparación de materiales para inocular y medios de cultivo      |  |  |  |  |  |
| Preparación del inocular y medios de cultivo para el tratamiento |  |  |  |  |  |
| Inicio tratamiento   |  |  |  |  |  |
| Fin del tratamiento  |  |  |  |  |  |

Además, se generan las tablas para los encargados de la biorremediación *in situ* y *ex situ*. Con los tiempos de producción estimados en base a la ecuación de la gráfica de la figura 5.21 de la captación de cobre del hongo *Pleurotus ostreatus* en 10 y 20 días con una relación hongo:suelo de 4:5 de masa, debido a que fue el tratamiento con mayor éxito y dentro de este tiempo de tratamiento esta inserto los tiempos de remediación para el hierro.

**Tabla 5.19** Plan de seguimiento actividades biorremediación *in situ*.

| Actividad   | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 | Día 7 | Día 8 | Día 9 | Día 10 | Día 11 | Día 12 | Día 13 | Día 14 | Día 15 | Día 16 | Día 17 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Traslado de insumos   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Montar cámara de generación de microclima                       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Montar tela fúngica de biorremediación e inicio del tratamiento |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Revisión 12 am de los parámetros y ajuste de ser necesario      |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Revisión 12 pm de los parámetros y                              |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |

|   |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| ajuste de ser necesario                                 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Desmontar estructuras, cargar camión y limpiar el lugar |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**Tabla 5.20** Plan de seguimiento actividades biorremediación ex situ.

| Actividad  | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 | Día 7 | Día 8 | Día 9 | Día 10 | Día 11 | Día 12 | Día 13 | Día 14 | Día 15 | Día 16 | Día 17 |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Traslado de suelo  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Distribución del suelo en sus contenedores para el tratamiento   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Inicio del tratamiento   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Revisión 12 am de los parámetros y ajuste de ser necesario   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Revisión 12 pm de los parámetros y ajuste de ser necesario   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Desmontar estructuras, cargar camión y limpiar el lugar  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Traslado para reincorporación del suelo procurando gestionar una aplicación similar a la distribución geográfica del área de estudio |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |

#### 5.4 OBJETIVO 4. DETERMINACIÓN DE COSTOS

En el caso del terreno, se considera como comodato o préstamo de uso es un contrato en que una de las partes (comodante) entrega a la otra (comodatario) gratuitamente una especie, mueble o inmueble, para que haga uso de ella con cargo de restituir la misma especie después de terminado el uso.

##### 5.4.1 Insumos

**Tabla 5.21** Costos insumos de laboratorio para la producción del hongo.

| Elementos   | Cantidad | Proveedor | Valor sin IVA | IVA     | Total CLP   |
|---|----------|-----------|---------------|---------|-------------|
| Placas petri vidrio 100x15mm                                      | 9.240    | VIMARONI  | \$890         | \$169   | \$8.223.600 |
| AGAR AGAR   | 10       |           | \$10.000      | \$1.900 | \$119.000   |
| Extracto MALTA  | 10       |           | \$10.000      | \$1.900 | \$119.000   |
| Alcohol etílico potable 70% vmtemp 5lt                            | 10       | VIMARONI  | \$15.000      | \$2.850 | \$178.500   |
| Algodón Hidrófilo vmtemp kg                                       | 10       | VIMARONI  | \$10.029      | \$1.906 | \$119.345   |
| Papel aluminio en roll 30x100mt vmtemp unidad                     | 10       | VIMARONI  | \$9.200       | \$1.748 | \$109.480   |
| Pinza anatómica acero inoxidable 20cm surgimen 12-0205            | 10       | VIMARONI  | \$5.797       | \$1.101 | \$68.984    |
| Guantes nitrilo talla m morado s/polvo caja 50 pares vmtemp 04110 | 5        | VIMARONI  | \$14.000      | \$2.660 | \$83.300    |
| Guantes nitrilo talla s morado s/polvo caja50 pares vmtemp 04111  | 5        | VIMARONI  | \$14.000      | \$2.660 | \$83.300    |
| Guantes nitrilo talla l morado                                    | 5        | VIMARONI  | \$14.000      | \$2.660 | \$83.300    |

| Elementos   | Cantidad                                      | Proveedor | Valor sin IVA | IVA     | Total CLP           |
|---|---|-----------|---------------|---------|---------------------|
| caja 50 pares 04202                                     |   |           |               |         |                     |
| Papel parafilm 4° ancho por 125 pies largo parafilm rll | 10  | VIMARONI  | \$24.350      | \$4.627 | \$289.765           |
| Mascarilla tres pliegues con elastico vtemp 50 un       | 10  | VIMARONI  | \$11.000      | \$2.090 | \$130.900           |
| Mascarilla antivirus model kn95 caja 20 un              | 10  | VIMARONI  | \$25.000      | \$4.750 | \$297.500           |
| Cinta adhesiva  | 10  |           | \$500         | \$95    | \$5.950             |
| Pote contenedor de la biomasa                           | 100 bandejas de aluminio o 4 bandejas grandes |           |               |         | \$600.000           |
| Lisoform  | 10  |           | \$3.000       | \$570   | \$35.700            |
| Sacabocado  | 6   |           | \$6.000       | \$1.140 | \$42.840            |
| Asa loop con mango de vidrio vtemp un                   | 4   | VIMARONI  | \$6.700       | \$1.273 | \$31.892            |
| <b>total</b>  |   |           |               |         | <b>\$11.129.296</b> |

**Tabla 5.22** Costo de los materiales para la biorremediación in situ.

| Elementos                              | Cantidad | Valor CLP |
|--|----------|-----------|
| Malla                                  | 80m2     | 80.000    |
| Plástico negro                         | 35m2     | 97.650    |
| Maderas pinos dimensionado de 2x2x3,2m | 20       | 52.000    |
| plumavit                               | 35m2     | 140.000   |
| Clavo                                  | 100      | 3.500     |
| Humidificador                          | 1        | 18.990    |
| Ventilador                             | 1        | 34.790    |
| Termohigrómetro                        | 1        | 21.990    |

|              |   |              |
|--------------|---|--------------|
| Baño químico | 1 | 614.990      |
| Camión       | 1 | 30.000.000   |
| total        |   | \$31.063.910 |

**Tabla 5.23** Costo de materiales para biorremediación ex situ.

| Elementos       | Cantidad | Valor        |
|-----------------|----------|--------------|
| Retroexcavadora | 80m2     | 25.000.000   |
| Baño químico    | 1        | 614.990      |
| Camión          | 1        | 300.000.000  |
| total           |          | \$55.614.990 |

#### 5.4.2 Requerimientos energéticos

En esta etapa se considerará el total de las horas de uso de cada artefacto, donde se obtiene su consumo en base a la potencia y las horas, para luego sacar el costo de un kWh de consumo como empresa y obtener el costo total del requerimiento energético. Esto para la biorremediación de 100m<sup>2</sup> de relave.

**Tabla 5.24** Gasto energético equipos laboratorio.

| Equipo                  | Horas de uso | Potencia | Consumo  | Costo CLP   |
|-------------------------|--------------|----------|----------|-------------|
| Cámara de flujo laminar | 48           | 1kW      | 48kWh    | 5.000,64    |
| Incubadora              | 168          | 1,9kW    | 319,2kWh | 33.294,16   |
| Luz                     | 480          | 0,3kW    | 144kWh   | 15.019,92   |
| Total                   |              |          |          | \$53.314,72 |

**Tabla 5.27** Gasto energético equipos in situ.

| Equipo        | Horas de uso | Potencia | Consumo | Costo CLP     |
|---------------|--------------|----------|---------|---------------|
| Humidificador | 26           | 30W      | 780kWh  | 81.357,9      |
| Ventilador    | 26           | 60W      | 1560kWh | 1.627.158     |
| Total         |              |          |         | \$1.708.515,9 |

**Tabla 5.28** Gasto energético equipos *ex situ*.

| Equipo      | Horas de uso | N° equipos | Potencia | Consumo  | Costo CLP      |
|-------------|--------------|------------|----------|----------|----------------|
| Incubadoras | 312          | 6          | 1,9kW    | 592,8kWh | 331.548,84     |
| Ventilador  | 26           | 1          | 60W      | 1560kWh  | 1.627.158      |
| Luz         | 312          | 100        | 0,3kW    | 93,6kWh  | 976.200,48     |
|             | Total        |            |          |          | \$2.934.907,32 |

#### 5.4.3 Requerimientos hídricos

Cantidad de agua utilizada a lo largo del proceso de diseño de la técnica de biorremediación, para el caso *in situ* se considera la humectación de la cámara de micorremediación para mantener las condiciones de humedad necesarias para que el hongo se desarrolle.

Tanto en la remediación *in situ* como en la *ex situ* es necesario condicionar el hongo para que logre la humectación necesaria, para ello se calcula alrededor de 42,792 L para cada remediación y como está a \$2 pesos el litro de agua en Chile tenemos un gasto de 85,58 pesos.

**Comentado [Ui3]:** requerimiento hídrico = riego + agua que el hongo transforma en biomasa

#### 5.4.4 Requerimientos recursos humanos

Para ello se caracterizan las labores de las personas encargadas del laboratorio y las personas encargadas de la remediación *in situ* y *ex situ*.

| Encargado de las actividades              | Cantidad de encargados | Actividades   | Remuneración mensual |
|---|------------------------|---|----------------------|
| Encargados del laboratorio                | 2                      | Activación del micelio  | \$1.000.000          |
|   |                        | Preparación de materiales para inóculo y medios de cultivo      |                      |
|   |                        | Preparación del inóculo y medios de cultivo para el tratamiento |                      |
| Encargados biorremediación <i>in situ</i> | 2                      | Traslado de insumos   | \$1.000.000          |
|   |                        | Montar cámara de generación de microclima                       |                      |

|   |   |  |             |
|---|---|--|-------------|
|   |   | Montar tela fúngica de biorremediación e inicio del tratamiento  |             |
|   |   | Revisión 12 am de los parámetros y ajuste de ser necesario   |             |
|   |   | Revisión 12 pm de los parámetros y ajuste de ser necesario   |             |
|   |   | Desmontar estructuras, cargar camión y limpiar el lugar  |             |
| Encargados biorremediación <i>ex situ</i> | 2 | Traslado de suelo  | \$1.000.000 |
|   |   | Distribución del suelo en sus contenedores para el tratamiento   |             |
|   |   | Inicio del tratamiento   |             |
|   |   | Revisión 12 am de los parámetros y ajuste de ser necesario   |             |
|   |   | Revisión 12 pm de los parámetros y ajuste de ser necesario   |             |
|   |   | Desmontar estructuras, cargar camión y limpiar el lugar  |             |
|   |   | Traslado para reincorporación del suelo procurando gestionar una aplicación similar a la distribución geográfica del área de estudio |             |

#### 5.4.5 Costos totales

| Tipo de remediación según donde se realiza | Costos totales |
|--|----------------|
| <i>In situ</i>                             | \$47.955.121,6 |
| <i>Ex situ</i>                             | \$73.732.593,6 |

## 6 DISCUSIÓN

**Comentado [Ui4]:** [https://www.researchgate.net/publication/26617856\\_Acumulacion\\_de\\_metales\\_pesados\\_en\\_macromicetos\\_comestibles\\_y\\_factores\\_que\\_influyen\\_en\\_su\\_captacion](https://www.researchgate.net/publication/26617856_Acumulacion_de_metales_pesados_en_macromicetos_comestibles_y_factores_que_influyen_en_su_captacion)

**Comentado [Ui5R4]:** [http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad\\_de\\_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas\\_Libros/Biologia/Morfologia\\_y\\_Clasificacion\\_de\\_los\\_Hongos/Morfologia\\_y\\_clasificacion\\_de\\_los\\_hongos\\_libro.pdf](http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Biologia/Morfologia_y_Clasificacion_de_los_Hongos/Morfologia_y_clasificacion_de_los_hongos_libro.pdf)

La temperatura del suelo durante el día es la adecuada para el crecimiento y desarrollo de los hongos (AGROCONTINENTAL, 2022), sin embargo, en la noche la situación es opuesta. Los suelos estudiados presentan una baja humedad, lo que está determinado por las condiciones climáticas de la zona, considerada seca y desértica (Nazer, 2016). El pH está dentro de los rangos reportados en otros estudios, esto puede estar relacionado con las características geológicas de la zona (NAZER, 2016). En cuanto a las concentraciones de cobre, y según las Directivas de Kelley (tabla 1.5) el suelo control se clasifica como un suelo no contaminado, mientras que el suelo 1 se cataloga en el rango de media contaminación y el suelo 2 en alta contaminación. (SAG, 2005)

Con respecto a las concentraciones de cada suelo 1 y 2, encontramos que el suelo 2 estaba mucho más concentrado en cobre y hierro que en el suelo 1. Esto puede ser explicado en que, el suelo 2 es de un relave muy antiguo, que se encuentra inactivo y abandonado, mientras que el suelo 1 es un relave activo que está bajo las normas de la Ley 20.551 que regula el cierre de faenas e instalaciones mineras. Por lo indicado, el suelo 1 tiene requerimientos específicos que cumplir, para disminuir su contaminación y mala disposición final. El suelo 2 está abandonado en medio de la ciudad de Copiapó, lo que denota la mala gestión del residuo minero, el cual es considerado como un pasivo ambiental minero (PAM).

Según datos del SERNAGEOMIN en 2020 se obtiene un promedio de la concentración de cobre presente en relaves mineros ubicados en las comunas de Tierra Amarilla y Copiapó, obtenemos un promedio de 2144,66 g/t de cobre en las escorias de cobre proveniente de cubetas y de los muros. Lo que tiene concordancia con los niveles de cobre encontrados en el Suelo 2 donde estaba el segundo relave que era de 2188 ppm.

El suelo control contiene alta cantidad de  $\text{SiO}_2$  con un 60%, seguido de un 12% de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Mientras que el suelo 1 tiene 44% de  $\text{SiO}_2$  seguido de un 25% de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Y el suelo 2 tiene un 42% de  $\text{SiO}_2$  y un 42% de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Podemos observar que tienen distintas composiciones de elementos químicos esto asociado a las actividades que se han desarrollado cerca de los suelos muestreados. Cabe destacar que los suelos del norte no tienen tantos óxidos de silicio como los suelos de la quinta región, y los suelos de la tercera región tienen 30% menos de óxidos de silicio, pero les siguen los óxidos de hierro con 25% en el suelo 1 y un 42% en el suelo 2.

En cuanto a la selección de los documentos con las técnicas de biorremediación, no se encuentra mucha evidencia científica con respecto a biorremediaciones fúngicas en suelos contaminados con metales

pesados, lo cual dificultó la elección del método, debido a la escasa documentación al respecto. Luego de encontrar los archivos se analizó la disponibilidad de los equipos presentes en las instalaciones de la universidad de Valparaíso y el costo de llevar a cabo los análisis, sin considerar la eficiencia y el rendimiento debido a que no se encontraba esa información presente en los documentos encontrados.

Para la selección de los hongos a analizar se adaptó el experimento a los 4 hongos presentes en el laboratorio que se encontraban en revisión bibliográfica como biorremediador de algún tipo de contaminante independiente de su objeto a tratar. De los otros hongos no se encontró información en cuanto a biorremediación de metales pesados.

En cuanto a los requerimientos de las setas, tenemos que el *Trametes versicolor* tiene requerimientos de temperatura más bajos que los otros hongos, lo que puede explicar su bajo crecimiento de la biomasa, ya que las temperaturas de incubación eran de 25-30°C, mientras que el *Phanerochaete chrysosporium* creció poco, y puede ser debido a que requería de altas temperaturas, tiene rangos muy altos de incubación y crecimiento. Sin embargo, los hongos que mayor crecimiento tuvieron fueron los que estaban dentro del rango de 23-30°C, lo cual es pertinente con los rangos de temperatura del *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete sordida*.

La humedad se presentó como un factor fijo para todos los hongos, motivo por el cual no se puede analizar su influencia en los cultivos. En cuanto al pH no variaba significativamente entre las muestras.

La decisión de dividir los tratamientos en A y B fue fundamental, debido a que las diferencias en el método de aplicación del hongo son bastante significativas. El hongo crece de manera distinta cuando se pasa directamente desde la placa petri al suelo de tratamiento, ya que en el experimento B el medio líquido aparte de entregarle más tiempo de crecimiento, lo que aumenta su resistencia, logra que el micelio se separe del medio de cultivo sólido y se vuelva un organismo flotante que se adapta al molde en el cual se desenvuelva su crecimiento. Lo hace fácil de adaptar al área que se busque generar para que se traspase posteriormente para llevar a cabo la biorremediación, ya sea en una cámara de crecimiento o biorreactor tipo laboratorio o tipo campo, para la remediación *ex situ* e *in situ*.

El experimento A del ensayo de biorremediación, nos permite analizar y observar el crecimiento del micelio sobre el suelo contaminado. Si bien el *Pleurotus ostreatus* arrojó una alta captación de metales pesados, no se observó un elevado crecimiento de micelio dentro de la muestra, sin embargo, en los

suelos 1 y 2 casi todas las muestras tenían biomasa que presentaba un micelio aéreo. Igualmente, se puede observar que mientras más contaminado el suelo, la red de micelio pareciera ser más densa.

Comentado [dpp6]: Corroborar con profes

Para el caso de *Phanerochaete chrysosporium*, se observó un crecimiento lento del micelio asociado a que sus rangos óptimos de temperatura estaban por debajo de los rangos implementados en laboratorio, debido a que solo se disponía de una incubadora y debía escogerse el rango más central para que no se afectarían significativamente algunas especies. Si comparamos las imágenes 4X del suelo 1 y suelo 2 podemos observar en el suelo 2 una red de micelio más densa que en el suelo 1, esto puede deberse a que sus requerimientos de pH son más ácidos y el suelo 2 era el suelo que presentaba el pH más bajo de todos los suelos, entonces puede concluirse que el hongo se haya sentido más cómodo para desarrollar su crecimiento.

El análisis de *Trametes versicolor* y *Phanerochaete sordida* no han sido analizados aún debido a problemas de tiempo y disponibilidad del laboratorio. Además, estas muestras estaban destinadas a ser analizadas en el ICP-ÓPTICO para observar la cantidad de metales pesados que lograron captar en 60 días, pero no fue posible por los mismos problemas indicados. Por otra parte, no se disponía con recursos financieros que sustentaran el análisis fuera de las instalaciones o dependencias de la Universidad de Valparaíso.

En el tratamiento B, el micelio crece de manera distinta, se forma una tela que cubre todo el diámetro circular del matraz Erlenmeyer, para este tratamiento hubiese sido perfecto poner el tratamiento en un contenedor que tuviera el mismo tamaño del micelio o del matraz, así hubiese existido una mayor superficie de contacto con el suelo a tratar. Se observa también que el micelio adquiere el color del sustrato al cual está sujeto, y también se puede inferir que mientras más tiempo de crecimiento tiene el hongo, más daño puede presentar, esto se evidencia al momento de analizar las muestras cuando había que llevarlas al mortero para pulverizar la muestra de biomasa, La muestra de los 20 días era muy frágil y quebradiza, fácil de moler. Mientras que las muestras de los 10 días no se podían moler con el mortero, no era quebradizo y tenía cierta elasticidad aún, un factor que pudo incidir es la leve humectación, ya que en el traslado de un laboratorio a otro no estuvo en horno ni en desecador y el clima de donde se ubican los laboratorios es muy húmedo y ventoso.

En los análisis bajo el ICP-OPTICO se ve que el *Trametes versicolor* tiene un valor bastante alto de captación de cobre, pero puede ser debido a que esa muestra presentaba una baja cantidad de biomasa con respecto a los demás datos, lo que pudo haber modificado el valor.

En los análisis por separado, a cada suelo, en los distintos tiempos de retiro de la biomasa, se observa una tendencia de mayor captación de cobre en el *Pleurotus ostreatus*, por lo que se procedió a generar gráficas donde muestra el % del analito en la muestra, donde claramente se puede observar que el hongo en cuestión tiene los más altos valores de porcentaje de analito captado desde el medio. Además, este hongo presentó mayor crecimiento, lo que puede ser explicado por las temperaturas que rondaba, ya que estaban dentro de su rango óptimo. Esto indica que el hongo *P. ostreatus* es un potencial biorremediador de zonas contaminadas para metales pesado con cobre y hierro.

En base a los mejores resultados obtenidos de la remediación del *Pleurotus ostreatus* en el suelo 1, es que se procede a generar la ecuación de la recta donde se puede calcular en cuantos días se hubiese remediado el sistema propuesto en el tratamiento del suelo. y además se generó otra ecuación en la cual se consideró otra biomasa fúngica, debido a que se sigue el supuesto de que mientras más biomasa presenta el hongo, más superficie de contacto y más cantidad de analito absorbe.

De ello se obtiene que para remediar suelos contaminados con cobre se recomienda una relación de hongo es a suelo de 4:5 en 13 días de tratamiento. Mientras que, si se busca remediar hierro, se haga en la proporción 1:5 y demoraría la mitad del tiempo, es decir en 7 días se podría remediar y bajar los niveles de hierro presentes en la muestra.

Del diseño de la propuesta de biorremediación, se logró comparar el modo *in situ* y *ex situ*, corroborando que el más económico es la *in situ*, además es menos invasivo con el medio que le rodea ya que no existe una excavación del terreno que aparte de traer costos, genera una alteración del paisaje importante y significativa. Aunque la propuesta *ex situ* es más independiente y no necesita de un cuidador todo el tiempo que vigile cada una hora, ya que la incubadora se preocupa de ello, pero los costos de la incubadora y de la excavación hacen muy poco rentable ese mecanismo.

Debido a la eficiencia del método es que en dos semanas podríamos tener remediado el cobre del suelo y en una semana el hierro.

Es importante considerar también que, si bien el organismo vivo cuando viaja al lugar de remediación *in situ* no es un residuo peligroso, a la vuelta tiene cierta toxicidad que no está especificada aún, no existe una Hoja de seguridad que lo indique. Pero se recomienda un camión con acoplado cerrado para evitar contaminación en el trayecto de descarga del micelio a la disposición final correspondiente. Se recomienda incinerar y buscar una empresa que revalorice el residuo.

La valorización de este residuo puede traer beneficios económicos, pero en la literatura científica existen pocas caracterizaciones de escorias de cobre antiguas, y su uso en vertederos antiguos como material aglomerante. También hay investigaciones sobre las propiedades cementantes de las escorias en la fabricación de morteros y hormigones. Diversos estudios proponen metodologías para la recuperación de Cu, Co y Zn, Si y Fe. Además, algunas escorias presentan altos contenidos de Cao, que es un compuesto que otorgaría efectos positivos en las propiedades mecánicas de materiales conglomerantes para su uso como material de construcción (Nazer, 2016).

## 7 CONCLUSIÓN

La caracterización sitio-específica logró evidenciar las actividades que vienen acompañadas de la cuenca debido a la historia del sitio y su franja metalogénica, además de la historia de las plantas existentes en la zona que identifica las escorias de cobre que son liberadas por los hornos y con una alta concentración de hierro debido a la historia de la región de Atacama. La zona además se caracteriza por un clima semiárido con escasa cantidad de precipitaciones llegando a acumular poca agua, lo cual explica los escasos cuerpos de agua presentes. Esta cercano a solo tres ciudades las cuales tienen un tamaño mediano de población, Copiapó es una ciudad con 170.000 habitantes aproximados a 2021, y no existe un gran grado de aislamiento ya que existe una red vial extensa. La zona presenta una condición desértica y un tipo de calidad de paisaje algo erosionado debido a las zonas desertificadas clasificadas como graves a moderadas.

Existe una textura areno-limosa, con temperaturas del sustrato de 28.7°C lo cual es una temperatura elevada asociada a su condición desértica. Con una humedad del suelo que va de 0,6-8,3%. Con un pH moderadamente alcalino, direcciones del viento de velocidad moderada del oeste y del norte.

La técnica de biorremediación es eficiente si se logra aumentar la biomasa, ya que la captación de metal es directamente proporcional con la biomasa del organismo remediador y su superficie de contacto con el medio, ya que es a través de su micelio que intercambia la información con el medio circundante. Además, se observó que el hongo *Pleurotus ostreatus* es el organismo que genera más resistencia, la cual está asociada a las temperaturas y rangos óptimos de crecimiento del hongo.

Es importante generar un buen diagnóstico del área a tratar, ya que si se toma la decisión equivocada se pueden llegar a perder recursos financieros y tiempo. Si se cuenta con el financiamiento suficiente puede llevarse a cabo este tipo de remediación biológica que es menos invasiva y tiene menores tiempos de limpieza. Es recomendable desarrollar el proceso de manera *in situ* debido a las ventajas que tiene económica y ambientalmente hablando.

También, cabe destacar que este es un estudio exploratorio y que, si bien no se generaron análisis en triplicado y eso le resta validez científica, sigue siendo un prototipo y son los datos y prospecto que se espera seguir. Además, los datos fueron concluyentes y tienen relación con las variables fisicoquímicas que tienen como rango óptimo de crecimiento los hongos.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

Comentado [Ui7]: Referencias

AGROCONTINENTAL (2022). Promotores del Fungicultivo. Dedicados a la venta de insumos y capacitaciones del cultivo de Hongos. Disponible en: <https://www.agrocontinentalchile.cl/tienda/micelio-inoculo>

ALEXOPOULOS, C. et al. (1985). Introducción a la micología. P 4-44. Disponible en: [https://www.academia.edu/34371426/Introducci%C3%B3n\\_A\\_La\\_Micolog%C3%ADa\\_C\\_Alexopoulos\\_C\\_Mims\\_Omega\\_1985\\_pdf](https://www.academia.edu/34371426/Introducci%C3%B3n_A_La_Micolog%C3%ADa_C_Alexopoulos_C_Mims_Omega_1985_pdf)

ALONSO, J. et al (2004). Acumulación de metales pesados en macromicetos comestibles y factores que influyen en su captación. Revista de Toxicología, vol. 21, núm. 1, cuatrimestral, 2004, pp. 11-15 Asociación Española de Toxicología Pamplona, España. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/919/91921102.pdf>

ARACENA, F. (1884). Industria del cobre en las provincias de Atacama y Coquimbo. Disponible en: <http://www.memoriachilena.gob.cl/archivos2/pdfs/mc0012936.pdf>

---

BAUTISTA, F. (1999) Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/236954595\\_Introduccion\\_al\\_estudio\\_de\\_la\\_contaminacion\\_del\\_suelo\\_por\\_metales\\_pesados](https://www.researchgate.net/publication/236954595_Introduccion_al_estudio_de_la_contaminacion_del_suelo_por_metales_pesados)

BCN (2022) Mapa Región de Atacama. Disponible en: <https://www.bcn.cl/siit/nuestropais/region>

BCN (2011) Ley de cierre de faenas y actividades mineras. Disponible: <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=1032158>

BOHNHORST, H. (1967) Geología de la hoja Ovalle. Disponible en: <http://www.bibliotecanacionaldigital.gob.cl/visor/BND:351015>

CAMUS P (2006) Ambiente, bosques y gestión forestal en Chile. 1541-2005. Dirección de Bibliotecas, archivos y museos. Editorial LOM. p. 374. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-34022006000200008](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34022006000200008)

CHAURASIA, P. et al (2021) Significances of fungi in bioremediation of contaminated soil. En *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier, 2019. p. 281-294. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64191-5.00020-1>

CHEN et al. (2020) Study on soil physical structure after the bioremediation of Pb pollution using Microbial-induced carbonate precipitation methodology. *Journal of Hazardous Materials*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.12510>

---

CIPERCHILE (2015) Aluviones en el norte: sustentabilidad y conciencia son los desafíos en Chile. Disponible en: <https://www.ciperchile.cl/2015/08/28/aluviones-en-el-norte-sustentabilidad-y-conciencia-son-los-desafios-para-chile/>

COELLO, J. (2011) Aplicación del hongo *Pleorotus ostreatus* como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/21150/1/D-92862.pdf>

ELLIES, A. et al. (1993). Modificaciones estacionales en la distribución del espacio poroso por tamaño de un suelo sometido a un variado uso forestal. p. 31-36. Disponible en: <http://revistas.uach.cl/pdf/bosque/v14n2/art05.pdf>

ESCARÉ, C. (2021) Caracterización física, química y mineralógica del tranque de relaves N°1, ex planta la cocinera, región de Coquimbo, Provincia de Limarí, Chile.

FOSTER, J. (1949). Chemical Activities of Fungi. P. 648. Academic Press, New York. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.111.2886.419.a>

FUNDACIÓN CHILE, (2015). Manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados. Disponible en: [https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados\\_baja-1.pdf](https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados_baja-1.pdf)

GEORGESCU, A. et al (2015). Determination of several elements in edible mushrooms using ICP-MS. Disponible en: [https://rjp.nipne.ro/2016\\_61\\_5-6/RomJPhys.61.p1087.pdf](https://rjp.nipne.ro/2016_61_5-6/RomJPhys.61.p1087.pdf)

---

GRN (2015). Impacto ambiental de la minería en Chile. Disponible en: <https://www.grn.cl/impacto-ambiental/impacto-ambiental-de-la-mineria-en-chile.html>

JASU, Amrita, et al. Fungi in bioremediation of soil organic pollutants. En *Fungi Bio-Prospects in Sustainable Agriculture, Environment and Nanotechnology*. Academic Press. p. 381-405.

KALA, C et al. (2000) A review of trace element concentrations in edible mushrooms. p 273-281. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814699002642?via%3Dihub>

MATHUR, M., et al (2021). Mechanistic evaluation of bioremediation properties of fungi. En *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, 2021. p. 267-286. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821005-5.00020-X>

MICHELOT, D., et al (1998) Update on metal content profiles in mushrooms. Toxicological implications and tentative approach to the mechanisms of bioaccumulation. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9839683/>

MMA (2012). Guía metodológica para la gestión de suelos con potencial presencia de contaminantes. Disponible en: <https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/guia-metodologica-suelos-digitalbaja-1.pdf>

MORILLO, E., et al. (2020) Soil bioremediation by cyclodextrins. A review. *International Journal of Pharmaceutics*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119943>

---

NAZER, A. et al (2016) Caracterización de escorias de cobre en fundiciones chilenas del siglo XIX. Disponible en: <https://revistademetalurgia.revistas.csic.es/index.php/revistademetalurgia/article/download/1396/1584>

OSSAI, Innocent et al. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. Noviembre 2019, Vol. 17. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235218641830364X#b>

POBLETE, L. (2011). Modificación de las propiedades físicas de un suelo de textura fina de la III Región. Disponible en: [https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112322/Memoria\\_Luciana\\_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112322/Memoria_Luciana_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

SAYAGO CM (1973) Historia de Copiapó. Editorial Francisco de Aguirre. Santiago p 629.

SAY, et al (2001) Biosorption of cadmium(II), lead(II) and copper(II) with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852400000717>

SHI & QIAN (2000). Molecular structure, characterization and magnetic properties of novel mixed-valence copper (I, II)  $\alpha,\beta$ -unsaturated carboxylate complexes with triphenylphosphine and methanol ligands. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0277538700003272?casa\\_token=aZkCM8xiZ5UAAAA:EWukBaXprBPVohuDj6svZRtN5oYii87CAM\\_9Qb8ih8pq54ghkEACoFv00pkEBBkOWpSn1FKDeU](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0277538700003272?casa_token=aZkCM8xiZ5UAAAA:EWukBaXprBPVohuDj6svZRtN5oYii87CAM_9Qb8ih8pq54ghkEACoFv00pkEBBkOWpSn1FKDeU).

---

SINGH, R, et al. Fungi as potential candidates for bioremediation. En Abatement of Environmental Pollutants. Elsevier, 2020. p. 177-191. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818095-2.00009-6>

SUSTENTABLE S.A. (2021) Atacama es la zona con mayor inversión minera que cuenta con aprobación ambiental. Disponible en <https://www.sustentable.cl/atacama-es-la-zona-con-mayor-inversion-minera-que-cuenta-con-aprobacion-ambiental/>

SPOSITO, G. ,J. Lund y A.C. Chang. (1982). Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. Soil Science Society of American Journal. P 260-264. Disponible en: <https://doi.org/10.2136/sssaj1982.03615995004600020009x>

UNIVERSIDAD DE CHILE, 2018. Informe país estado del medio ambiente en Chile. Disponible en: <https://www.cr2.cl/wp-content/uploads/2019/12/Informe-pais-estado-del-medio-ambiente-en-chile-2018.pdf>

WU, M, et al. (2019) Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleumcontaminated loessal soil. Chemosphere. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124456>

ZHANG, H, et al.(2020) Bioremediation of co-contaminated soil with heavy metals and pesticides: influence factors, mechanisms and evaluation methods. Chemical Engineering Journal, 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125657>

## 9 ANEXOS

Anexo 1 se presentan las formas químicas de algunos metales y metaloides en el suelo.

| Metal   | Forma química en suelo  |
|---------|---|
| Cadmio  | <p>La abundancia de Cd en rocas sedimentarias e ígneas no excede 0.3 mg/kg y las concentraciones son parecidas en depósitos arcillosos y en rocas metamórficas. El comportamiento del Cd es parecido al del Zn, solo que es mucho más afín al S y más móvil en ambientes ácidos. En ambientes naturales el cadmio se encuentra con valencia 2+ por lo que en solución forma <math>\text{CdCl}^+</math>, <math>\text{CdOH}^+</math>, <math>\text{CdHCO}_3^+</math>, <math>\text{CdCl}_3^-</math>, <math>\text{CdCl}_4^{2-}</math>, <math>\text{Cd}(\text{OH})_3^-</math> y <math>\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}</math> y quelatos orgánicos. Los factores más importantes que controlan su movilidad son el pH y pe. Bajo condiciones extremas de oxidación tiende a formar minerales como CdO y <math>\text{CdCO}_3</math> y a acumularse en fosfatos y en depósitos biolíticos.</p> <p>La concentración de cadmio promedio en los suelos va de 0.07 a 1.1 mg/kg. A valores altos de pH el cadmio no es móvil posiblemente por la baja solubilidad de los carbonatos y fosfatos, aunque el pH y el pe son importantes en la movilidad del cadmio, también es importante la alta afinidad del cadmio con la materia orgánica, oxi-hidroxidos de hierro, alofano e imogolita, no así con las arcillas. En general podemos decir que a pH ácidos los oxi-hidroxidos de hierro y la materia orgánica controlan la solubilidad del cadmio y que a pH alcalinos el Cd precipita por lo que es inmóvil. La concentración de Cd en la solución del suelo va de 0.2 a 6 <math>\mu\text{g/L}</math>, en suelos contaminados se ha llegado a reportar concentraciones hasta de 400 <math>\mu\text{g/L}</math>. Para recuperar los suelos contaminados por cadmio, se pueden recomendar entre otras cosas: lavados en suelos ácidos, encalar (para elevar el pH) y aumentar la capacidad de intercambio de cationes (Chanmugathas y Bollag, 1987; Xian, 1989).</p> |
| Cobalto | <p>En la naturaleza el Cobalto se encuentra en dos estados de oxidación <math>\text{Co}^{2+}</math> y <math>\text{Co}^{3+}</math>, y posiblemente también formando complejos aniónicos <math>\text{Co}(\text{OH})_3^-</math>. Durante procesos de inundación el Co es relativamente móvil en medios ácidos oxidados, pero debido a la alta afinidad por Fe y óxidos de Mn, así como, arcillas, este elemento no puede migrar en una fase soluble. El Co en compuestos quelatados orgánicos puede ser disponible para las plantas, y de esta forma ser transportado, aunque su movilidad depende del contenido en el suelo, y de la concentración en la solución. El cobalto tiene fuertes relaciones con el Fe y Mn presente en el suelo; y con el Fe en la planta, posiblemente por procesos antagónicos (Kabata y Pendias, 1989; McLaren y Crawford, 1973).</p>   |

|       |   |
|-------|---|
|       |   |
| Cobre | <p>El cobre se encuentra asociado a minerales sulfurosos simples y complejos, los cuales son fácilmente solubles a los procesos de intemperismo, especialmente en ambientes ácidos, también tiene una gran habilidad para interactuar químicamente con compuestos minerales y orgánicos del suelo. Los iones de cobre precipitan fácilmente con aniones como: sulfuros, carbonatos e hidróxidos.</p> <p>Los niveles medios de cobre en el suelo varían de 6 a 60 mg/kg correspondiendo los valores más altos a suelos ferralíticos y los menores a suelos arenosos y orgánicos. La forma más móvil del cobre es la 2+, las especies iónicas que se encuentran en los suelos principalmente son: <math>\text{HCuO}_2^-</math>, <math>\text{Cu}^+</math>, <math>\text{CuOH}^+</math>, <math>\text{Cu(OH)}_2^{2+}</math>, <math>\text{Cu(OH)}_2</math>, <math>\text{CuO}</math>, <math>\text{Cu(OH)}_2</math>, <math>\text{CuCO}_3</math>, <math>\text{Cu(CO}_3)_2^{2-}</math>, <math>\text{Cu(OH)}_4^{2-}</math>, <math>\text{Cu(OH)}_3^-</math> y <math>\text{CuO}_2^{2-}</math> y aunque son muchas el cobre es retenido fuertemente en los sitios de intercambio tanto orgánicos como inorgánicos.</p> <p>Los procesos que controlan la fijación del cobre por los constituyentes del suelo están relacionados a los siguientes procesos: adsorción, oclusión y precipitación, formación de quelatos y complejos orgánicos y fijación microbiana.</p> <p>El cobre puede ser adsorbido en grandes cantidades por oxi-hidróxidos de hierro y manganeso, hidróxidos de hierro y aluminio amorfos y arcillas (esmectitas, vermiculitas, imogolitas, etc.).</p> <p>La oclusión, coprecipitación y sustitución son fenómenos en los que la adsorción se realiza de forma no específica. El cobre puede incorporarse a la estructura de los minerales (quimioadsorción), entre los que podemos mencionar a: hidróxidos de hierro y aluminio, carbonatos, fosfatos y algunas arcillas, también se pueden formar los óxidos e hidróxidos del mismo elemento.</p> <p>Muchos tipos de sustancias orgánicas forman complejos solubles e insolubles con el cobre y a menudo gobiernan su conducta en el suelo. La fijación microbiológica del Cu se puede llevar a cabo.</p> <p>El cobre es uno de los metales menos móviles en el suelo, aunque a menudo encontramos grandes cantidades en la solución de los suelos, el intervalo de la concentración soluble es de 3 a 135 <math>\mu\text{g/L}</math>. La solubilidad de las formas catiónicas y aniónicas decrece a pH mayores de 7 a 8 y debido a esto, una forma de disminuir el daño por las grandes concentraciones de calcio es la de elevar el pH de los suelos a valores mayores de 7 (Lindsay, 1979; Xian, 1989).</p> |

|           |  |
|-----------|--|
| Cromo     | <p>El Cr se encuentra en el suelo principalmente como <math>\text{Cr}^{3+}</math> y en estructuras minerales, o forma mezclas con óxidos de <math>\text{Fe}^{3+}</math>. El contenido de este elemento en las plantas está controlado principalmente por el Cr soluble en los suelos, usualmente se ha observado un alto contenido de este elemento en raíces más que en hojas y tallos, mientras que las concentraciones menores se encuentran en granos. La forma más disponible para las plantas es Cr (VI) que en condiciones anaerobias se transforma a Cr (III) y precipita. En el suelo, también se presenta la reducción del Cr (VI) a Cr (III) por la MO edáfica aún en pH alcalino y la oxidación de Cr (III) a Cr (VI) en presencia de <math>\text{MnO}_2</math>. El Cr (VI) es la forma más inestable bajo condiciones normales en el suelo. El Cr presenta posibles antagonismos con el Co, B, V y W (Kabata y Pendias, 1989).</p>                                    |
| Hierro    | <p>Se presenta principalmente en los suelos en formas de óxidos e hidróxidos como partículas pequeñas o asociado con las superficies de otros minerales, pero principalmente en forma quelatada; los compuestos del Fe intervienen en la conducta de algunos macronutrientes y de muchos elementos vestigio. La absorción de este elemento por la planta es metabólicamente controlada, y puede ser absorbido como <math>\text{Fe}^{3+}</math>, <math>\text{Fe}^{2+}</math> y como quelatos de Fe, la habilidad de las raíces para reducir <math>\text{Fe}^{3+}</math> a <math>\text{Fe}^{2+}</math> es fundamental en la absorción de este catión por la mayoría de las plantas. La absorción y transporte hacia los órganos de las plantas es fuertemente afectada por varios factores del medio y por las plantas mismas. El Fe presenta sinergismos con Li; antagonismos con Cu, Zn, Si, Cr, Mo, Mn y Co; antagonismos y/o sinergismos con Cd y B (Kabata y Pendias 1989).</p> |
| Manganeso | <p>El <math>\text{Mn}^{2+}</math> es el estado de oxidación más común por el que es absorbido por las plantas. Este elemento es esencial en la nutrición vegetal y controla el comportamiento de otros micronutrientes, el Mn en la solución del suelo se encuentra formado parte de complejos orgánicos, siendo los efectos de la rizósfera muy importantes en su movilidad. La absorción de este metal es tanto pasiva como activa y es transportado rápidamente a la planta. Las concentraciones del manganeso fluctúan fuertemente con la parte de la planta y con el desarrollo de la planta. así como, con la familia, género y especie. Su absorción decrece con un incremento del pH del suelo y aumenta con la materia orgánica. Presenta sinergismos con Li y Si; antagonismos con Rb, Zn, As, Se, Cr, Fe, Co y Ni; antagonismo y/o sinergismos con Cu, Cd, y Mo; posible antagonismo con B (Kabata y Pendias 1989).</p>   |

|          |  |
|----------|--|
|          |  |
| Mercurio | <p>El contenido de Hg en la litosfera es de 0.1 mg/kg, el intervalo en suelos va de 0.01 a 0.3 mg/kg con un promedio de 0.03 mg/kg de suelo (Lindsay, 1988). Las mayores concentraciones se encuentran en rocas sedimentarias.</p> <p>Las características geoquímicas más importantes del Hg son: alta afinidad con el S (HgS es el mineral más común del Hg), la formación de compuestos orgánicos relativamente estables en ambientes acuosos y la volatilidad del Hg.</p> <p>Las especies iónicas que el Hg forma son las siguientes: <math>\text{HgCl}^-</math>, <math>\text{Hg}</math>, <math>\text{Hg}^{2+}</math>, <math>\text{Hg}_2^{2+}</math>, <math>\text{HgS}_2^{2+}</math>, <math>\text{Hg}(\text{OH})^+</math>, <math>\text{Hg}(\text{OH})_2</math>, <math>\text{HgCl}_4^{2-}</math>, <math>\text{RHg}^+</math> y <math>\text{R}_2\text{Hg}</math>, las cuales no son muy móviles durante los procesos de intemperismo ya que como se sabe, el Hg se retiene fuertemente en los suelos, ya sea como elemento o como complejos catiónicos o aniónicos, aunque de manera general el Hg se retiene como complejos orgánicos de muy baja movilidad. La adsorción de Hg por las arcillas es muy baja.</p> <p>La degradación de los compuestos organomercuricos moviliza el mercurio, principalmente cuando se forman compuestos metílicos que desempeñan el papel más importante en el ciclo ambiental del mercurio, debido a que son las formas más móviles y las más fácilmente absorbidas por los organismos, incluyendo a las plantas vasculares.</p> <p>Algunas bacterias cambian el <math>\text{Hg}^{2+}</math> en <math>\text{Hg}^0</math> y de esta forma el mercurio sales del suelo por volatilización, aunque también puede darse la oxidación a formas catiónicas vía microorganismos. Varios compuestos orgánicos de Hg, (metil, etil y fenil) adicionados al suelo son parcialmente descompuestos y adsorbidos por los constituyentes del suelo, sin embargo, todos esos compuestos pueden ser adsorbidos por las plantas. Se ha observado que el metil-Hg es el compuesto más absorbido.</p> <p>La metilación del Hg por los microorganismos (bacterias y hongos) se da tanto en condiciones aerobias como anaerobias.</p> |
| Níquel   | <p>Las concentraciones de Ni en el suelo varían de 1 a 100 mg/kg con una media de 20, esto depende principalmente de la roca madre (serpentina) y, en algunos casos de los factores formadores del suelo como el clima ya que se han encontrado altas concentraciones de níquel en zonas áridas y semiáridas.</p> <p>El níquel es muy móvil durante los procesos de intemperismo y precipita principalmente con los óxidos de hierro y manganeso, es muy afín a la materia orgánica y puede concentrarse en grandes cantidades en carbón y petróleo.</p>   |

|       |  |
|-------|--|
|       | <p>La concentración de níquel en la solución de los horizontes superficiales de los suelos varía de 3 a 25 µg/L y las formas solubles son las siguientes: <math>Ni^{2+}</math>, <math>NiOH^+</math>, <math>HNiO_2^-</math> y <math>Ni(OH)_3^-</math>. En los suelos, generalmente la solubilidad del níquel es inversamente proporcional al pH. La recuperación de los suelos contaminados con Ni se realiza con la adición de caliza, fosfatos y materia orgánica ya que de esta forma disminuye la solubilidad del níquel. Este elemento es altamente fitotóxico en bajas concentraciones (10 a 100 mg/kg en la planta).</p>   |
| Plomo | <p>En el suelo, el plomo se encuentra principalmente en forma de <math>Pb^{2+}</math>, también es conocido su estado de oxidación +4. No juega un papel esencial en las plantas, la absorción en caso de presentarse es de un modo pasivo, la tasa de absorción se reduce al aumentar el pH (<math>PbCO_3</math> es insoluble) y por bajas temperaturas.</p> <p>El Pb a pesar de ser soluble en el suelo, es absorbido principalmente por los pelos de las raíces, y es almacenado en un grado considerable en las paredes celulares, esta absorción varía significativamente con relación a la concentración presente en los suelos, así como, por las varias formas en que el Pb se presenta. La absorción vegetal de este metal se da principalmente por la vía estomática. Bajo ciertas condiciones el Pb es móvil en la planta y las formas precipitadas en las células de la plasmalema se transportan y depositan en los tejidos de las plantas. La variación de los contenidos de Pb en las plantas se debe a anomalías geoquímicas, contaminación, variaciones estacionales, genotipos y habilidad para acumular al elemento. El Pb presenta posible antagonismo con el Zn y sinergismo con el Cd (Kabata y Pendias, 1989).</p> |
| Zinc  | <p>La forma más común y móvil del Zn en el suelo es el <math>Zn^{2+}</math>, pero otras especies iónicas pueden encontrarse en el suelo, la absorción de este elemento es lineal con la concentración en el suelo, la tasa de absorción difiere de una manera importante tanto con la especie, como con el suelo. La absorción del zinc es metabólicamente controlada, sin embargo, se llega a dar la absorción no metabólica. La forma en la que el Zn es absorbido por las raíces no está perfectamente definida, pero se creó que son las formas hidratadas, en forma de quelatos y <math>Zn^{2+}</math>. El zinc ligado a compuestos orgánicos es móvil en la planta y se ha observado una deficiencia de Zn en suelos calcáreos con pH arriba de 7.0. Su concentración en las plantas varía considerablemente; el zinc presenta posibles antagonismos con Li y Rb; antagonismos con Cu, Mn y Fe y sinergismos con Cd.</p>   |

|  |  |
|--|--|
|  | Los métodos de cuantificación a menudo no consideran los efectos de matriz y en ocasiones los resultados no tienen validez pues se encuentran a niveles muy cercanos al límite de detección. |
|--|--|

(Adaptado de Bautista, 1999)

## Anexo 2

Se presentan los análisis generados a los suelos en el equipo de Fluorescencia de rayos x (FRX).



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00185-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 10:04:19 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo control        |
| ID         | suelo control 1  | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 4,330  | 0   | 1,532    |
| Al2O3        | 0   | 11,855 | 0   | 0,307    |
| SiO2         | 0   | 60,297 | 0   | 0,448    |
| P2O5         | 0   | 0,000  | 0   | 0,045    |
| SO3          | 0   | 0,268  | 0   | 0,011    |
| K2O          | 0   | 2,425  | 0   | 0,025    |
| CaCO3        | 0   | 9,550  | 0   | 0,053    |
| TiO2         | 0   | 1,132  | 0   | 0,015    |
| MnO          | 0   | 0,336  | 0   | 0,010    |
| Fe2O3        | 0   | 9,808  | 0   | 0,028    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00188-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 10:59:41 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo control        |
| ID         | suelo control 2  | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 4,483  | 0   | 1,525    |
| Al2O3        | 0   | 11,903 | 0   | 0,305    |
| SiO2         | 0   | 60,114 | 0   | 0,443    |
| P2O5         | 0   | 0,097  | 0   | 0,043    |
| SO3          | 0   | 0,258  | 0   | 0,011    |
| K2O          | 0   | 2,464  | 0   | 0,025    |
| CaCO3        | 0   | 9,380  | 0   | 0,052    |
| TiO2         | 0   | 1,232  | 0   | 0,015    |
| MnO          | 0   | 0,356  | 0   | 0,010    |
| Fe2O3        | 0   | 9,714  | 0   | 0,028    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00187-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 10:43:33 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo control        |
| ID         | suelo control 3  | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 4,378  | 0   | 1,530    |
| Al2O3        | 0   | 11,850 | 0   | 0,307    |
| SiO2         | 0   | 60,077 | 0   | 0,446    |
| P2O5         | 0   | 0,051  | 0   | 0,043    |
| SO3          | 0   | 0,254  | 0   | 0,011    |
| K2O          | 0   | 2,487  | 0   | 0,025    |
| CaCO3        | 0   | 9,452  | 0   | 0,053    |
| TiO2         | 0   | 1,250  | 0   | 0,015    |
| MnO          | 0   | 0,357  | 0   | 0,010    |
| Fe2O3        | 0   | 9,845  | 0   | 0,028    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00189-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 11:14:52 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo 1              |
| ID         | suelo 1.1        | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 6,612  | 0   | 1,763    |
| Al2O3        | 0   | 7,991  | 0   | 0,257    |
| SiO2         | 0   | 44,880 | 0   | 0,371    |
| P2O5         | 0   | 0,000  | 0   | 0,044    |
| SO3          | 0   | 1,936  | 0   | 0,026    |
| K2O          | 0   | 3,336  | 0   | 0,028    |
| CaCO3        | 0   | 10,201 | 0   | 0,060    |
| TiO2         | 0   | 0,827  | 0   | 0,013    |
| MnO          | 0   | 0,262  | 0   | 0,010    |
| Fe2O3        | 0   | 23,955 | 0   | 0,043    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00191-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 11:26:33 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo 1              |
| ID         | suelo 1.2        | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 6,380  | 0   | 1,763    |
| Al2O3        | 0   | 8,003  | 0   | 0,258    |
| SiO2         | 0   | 44,468 | 0   | 0,371    |
| P2O5         | 0   | 0,086  | 0   | 0,043    |
| SO3          | 0   | 1,931  | 0   | 0,026    |
| K2O          | 0   | 3,385  | 0   | 0,028    |
| CaCO3        | 0   | 10,060 | 0   | 0,060    |
| TiO2         | 0   | 0,796  | 0   | 0,013    |
| MnO          | 0   | 0,298  | 0   | 0,010    |
| Fe2O3        | 0   | 24,594 | 0   | 0,044    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00192-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 11:32:01 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo 1              |
| ID         | suelo 1.3        | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 6,068  | 0   | 1,812    |
| Al2O3        | 0   | 7,716  | 0   | 0,261    |
| SiO2         | 0   | 43,164 | 0   | 0,373    |
| P2O5         | 0   | 0,000  | 0   | 0,046    |
| SO3          | 0   | 1,986  | 0   | 0,028    |
| K2O          | 0   | 3,342  | 0   | 0,028    |
| CaCO3        | 0   | 10,387 | 0   | 0,063    |
| TiO2         | 0   | 0,840  | 0   | 0,014    |
| MnO          | 0   | 0,275  | 0   | 0,011    |
| Fe2O3        | 0   | 26,222 | 0   | 0,047    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00193-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 11:46:38 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo 2              |
| ID         | suelo 2.1        | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 0,000  | 0   | 1,606    |
| Al2O3        | 0   | 4,610  | 0   | 0,231    |
| SiO2         | 0   | 41,837 | 0   | 0,382    |
| P2O5         | 0   | 0,000  | 0   | 0,044    |
| SO3          | 0   | 1,780  | 0   | 0,028    |
| K2O          | 0   | 1,670  | 0   | 0,022    |
| CaCO3        | 0   | 7,062  | 0   | 0,055    |
| TiO2         | 0   | 0,768  | 0   | 0,015    |
| MnO          | 0   | 0,101  | 0   | 0,011    |
| Fe2O3        | 0   | 42,172 | 0   | 0,063    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00194-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 11:54:13 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo 2              |
| ID         | suelo 2.2        | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 0,000  | 0   | 1,615    |
| Al2O3        | 0   | 4,887  | 0   | 0,234    |
| SiO2         | 0   | 44,054 | 0   | 0,391    |
| P2O5         | 0   | 0,000  | 0   | 0,043    |
| SO3          | 0   | 1,836  | 0   | 0,028    |
| K2O          | 0   | 1,779  | 0   | 0,023    |
| CaCO3        | 0   | 7,068  | 0   | 0,055    |
| TiO2         | 0   | 0,695  | 0   | 0,014    |
| MnO          | 0   | 0,109  | 0   | 0,011    |
| Fe2O3        | 0   | 39,572 | 0   | 0,061    |



|                     |                                |                 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|
| 00195-Limestone.pdz | AssayTime: 03-11-2022 11:56:48 | ElapsedTime: 61 |
|---------------------|--------------------------------|-----------------|

|          |           |
|----------|-----------|
| Alloy 1: | Match No: |
|----------|-----------|

| Field Info |                  |        |                      |
|------------|------------------|--------|----------------------|
| Operator   | User             | Name   | suelo 2              |
| ID         | suelo 2.3        | Field1 | Aplicacion limestone |
| Field2     | Metodo limestone |        |                      |

| Element Name | Min | %      | Max | +/- [*3] |
|--------------|-----|--------|-----|----------|
| MgCO3        | 0   | 0,000  | 0   | 1,632    |
| Al2O3        | 0   | 4,838  | 0   | 0,232    |
| SiO2         | 0   | 40,882 | 0   | 0,380    |
| P2O5         | 0   | 0,000  | 0   | 0,044    |
| SO3          | 0   | 1,713  | 0   | 0,028    |
| K2O          | 0   | 1,613  | 0   | 0,022    |
| CaCO3        | 0   | 7,030  | 0   | 0,055    |
| TiO2         | 0   | 0,827  | 0   | 0,015    |
| MnO          | 0   | 0,083  | 0   | 0,011    |
| Fe2O3        | 0   | 43,014 | 0   | 0,064    |