



Evaluación del potencial de biolixiviación de metales y metaloides por organismos fúngicos autóctonos en sedimentos contaminados del municipio de Santo Domingo, Chontales

Josué Habbith García Gómez y Roger Manuel Midence Díaz

Nicaragua posee yacimientos minerales relevantes y de importante valor económico, los cuales aportan sustento a las comunidades inmersas dentro sus límites territoriales, sin embargo, en las últimas décadas éstas actividades mineras se han posicionado como las principales fuentes de contaminación para los recursos naturales de esas localidades. La biolixiviación es una técnica en donde se aprovecha la capacidad de algunos hongos de excretar ácidos orgánicos que pueden acomplejar y solubilizar metales y metaloides. El propósito general de la presente investigación es evaluar el potencial de biolixiviación fúngica autóctona y bioaumentada de metales y metaloides de sedimentos contaminados en la región minera de Santo Domingo, Chontales. Los experimentos se realizaron usando sedimentos de desecho (lomas) del Plantel “La Estrella” que se ubican en el Botadero y sedimento del río que recibe los desechos líquidos del Plantel, localmente conocido como “La Estrella”. Ambos sedimentos resultaron contaminados principalmente por Mercurio y Plomo y en menor escala por As, Cd, Cu y Zn, excediendo las directrices Canadienses de calidad de sedimentos para la protección de la vida acuática. Los experimentos de lixiviación se hicieron percolando agua a través de sedimentos contaminados enriquecidos con carbohidratos baratos (melaza y bagazo de caña de azúcar). Los géneros de hongos autóctonos identificados fueron: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Curvularia* y *Penicillium*. Los ácidos orgánicos generados por los hongos se identificaron como oxálico, succínico, propiónico y acético, siendo el de mayor concentración el oxálico para ambas muestras. Se determinó la actividad lipasa-esterasa del sustrato complejo para evaluar la dinámica de la actividad microbiana a lo largo de los experimentos, comprobándose de que ésta aumenta al progresar la lixiviación de metales y metaloides por la acción fúngica. Concluimos que existe potencial autóctono de bio-lixivación fúngica en los sedimentos de interés mediante la acción de los ácidos oxálico, propiónico, succínico y acético, los cuales solubilizaron los metales y metaloides presentes. Los elementos mayormente lixiviados fueron: Plomo, Cobre, Cadmio y Zinc además del Oro que muestra una alta eficiencia de remoción. Con esta investigación se pretende contribuir a la generación de información sobre la calidad de los sedimentos mineros en la zona de estudio y ofrecer una alternativa ecológica y económica de tratamiento a éstos residuos mineros.

INTRODUCCIÓN

Nicaragua posee yacimientos minerales relevantes y de importante valor económico, los cuales aportan sustento a las comunidades inmersas dentro sus límites territoriales, sin embargo, en las últimas décadas éstas actividades mineras se han posicionado como las principales fuentes de contaminación para los recursos naturales de esas localidades (CIRA, 2006).

En casos específicos como el municipio de Sto. Domingo, en el Departamento de Chontales, existe afectación directa a fuentes de agua, al suelo, a la biota, al aire y por consecuencia al ser humano (Picado & Bengston, 2012).

Es el caso que nos ocupa, las actividades mineras a escala artesanal, implican la extracción de oro mediante amalgamamiento del mineral junto a un agregado químico, principalmente Mercurio (Hg), o una mezcla con Cianuro (CN). El producto residual generado en la molienda o “lama” se deposita en cercanías al lugar o “Rastras” expuestas a escorrentías que lo transportan a fuentes de aguas u otros receptores ecológicos. Estos residuos mineros generan riesgos a la salud ambiental y humana debido a que aumentan las concentraciones de elementos trazas potencialmente tóxicos como son el Plomo, Bario y Zinc (Pb, Ba y Zn, respectivamente). Este hecho, junto con la exposición y acumulación del mercurio (Hg) usado en el proceso, aumentan el potencial de contaminación por lixiviación hacia las aguas superficiales y subterráneas que son fuentes de abastecimiento de agua potable para las comunidades además de la bio-disponibilidad para plantas y animales de estos metales tóxicos (Espinoza & Espinoza, 2005).



Ante esta problemática surge la necesidad de brindar un tratamiento de descontaminación a los residuos mineros generados. Se han utilizado diversas técnicas convencionales para esto entre la que se distingue el uso de ácidos minerales, cuya principal desventaja es la destrucción del suelo o sedimento, los altos costos de los ácidos y la baja aceptación técnica y social. Una alternativa de remediación ecológica y más económica es la **biolixiviación**, técnica que consiste en emplear microorganismos fúngicos o bacterianos para disolver o extraer los metales y metaloides mediante la producción de ácidos orgánicos, como por ejemplo, ácidos cítrico, oxálico, tartárico, glucónico, succínico y fórmico (Schinner & Klauser, 2005). Gadd (2005) explica que los hongos pueden solubilizar compuestos minerales y metales (lixiviación heterotrófica) a través de varios mecanismos, incluyendo acidólisis, complexólisis, redoxólisis y acumulación en la biomasa, siendo la acidólisis por producción de ácidos orgánicos el mecanismo principal. Finalmente en un proceso de biolixiviación fúngica los metales y metaloides lixiviados de la percolación pueden recuperarse por métodos físico-químicos convencionales como precipitación, intercambio iónico o biosorción (Schinner & Klauser, 2005). Los parámetros a monitorear durante un proceso de biolixiviación son el pH de lixiviado y de los sedimentos tratados, el contenido de metales en lixiviados (para el cálculo de porcentajes de remoción), volúmenes y tiempo de lixiviación, concentración de sustrato, producción de ácidos orgánicos y adicionalmente la evolución de la concentración de oxígeno disuelto (Sabra, *et al* 2012). Schinner *et al* (2005) propone además la medición de actividades enzimáticas, ya que se ha comprobado la utilidad de éstas como indicadores de actividad microbiológica.

El propósito general de la presente investigación es evaluar el potencial de biolixiviación fúngica autóctona y bioaumentada de metales y metaloides de sedimentos contaminados en la región minera de Santo Domingo, Chontales. La presente investigación pretende contribuir a generar

información sobre la calidad de los sedimentos mineros en la zona de estudio y ofrecer una alternativa ecológica y económica de tratamiento a éstos residuos mineros.

Con el objetivo de evaluar el rendimiento general del tratamiento se han formulado cuatro hipótesis principales dispuestas de la siguiente manera: **(i)** El pH del lixiviado de los sistemas tratados con hongos heterotróficos será menor que el control abiótico debido a la presencia de ácidos orgánicos; **(ii)** La actividad enzimática de lipasa-esterasa del sedimento aumentará con el tiempo de lixiviación debido a que los metales inhiben las funciones de éstas enzimas; **(iii)** El contenido de ácidos orgánicos en el lixiviado deberá ser detectable para demostrar la lixiviación por acción de hongos heterotróficos sobre los sedimentos tratados; **(iv)** la concentración de metales y metaloides en los sedimentos disminuirá a lo largo de la percolación y aumentará en el lixiviado generado.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio y puntos de muestreo

Santo Domingo se ubica en el Departamento de Chontales, Nicaragua. La actividad minera es considerada el rubro principal de la economía, además de la agricultura y ganadería. Pertenece a la cadena montañosa del centro del país y posee numerosos afluentes que atraviesan su casco urbano (MARENA et al, 2006).



2.1.1 Micro localización del sitio de estudio

El sitio de estudio de la presente investigación es el denominado *Plantel la Estrella*, propiedad de la cooperativa Empresa Asociativa de Pequeños mineros de Santo Domingo (EAPEMIS) que está conformada por 182 socios según datos de 1997, por lo que se infiere que actualmente son más. Según datos del estudio de André, Rosen & Torstendahl, el Plantel La Estrella en 1997 procesaba 260 ton de minerales al mes y producía 2 kg de oro al mes indicando una recuperación de 50 – 60 %, sin embargo expresan que solo del 10 al 30 % es realmente capturado. El plantel se sitúa en la parte alta de Santo Domingo (Ver ilustración 1); justo en las afueras pasa un afluente del Río Sucio llamado La Estrella en donde se descargan las aguas residuales provenientes del procesamiento del oro acarreando grandes cantidades de Mercurio y material suspendido. El plantel la estrella opera con dos sistemas, el primero es con “Máquina” y el otro es con Rastra electromecánica utilizando, además de Mercurio, Cianuro, disuelto en un envase plástico, lo cual es aplicado mediante goteo continuo (cada 5 segundos) hasta que termina una sesión de molienda habitual. Los sedimentos o lamas son acumulados en las cercanías del plantel para ser utilizados en el relleno de terrenos y acondicionamiento de caminos, o posiblemente vendidos y/o regalados según demanda; esta situación propicia la dispersión de contaminantes (metales pesados) que amenazan la calidad de los cuerpos de agua (Benavides & Benavides, 2005). Este sitio en donde son acumulados las lamas o sedimentos se le ha denominado “Botadero La Estrella”, este corresponde el primer punto de muestreo (Coordenadas: 709577.97 E; 1357294.99 N).

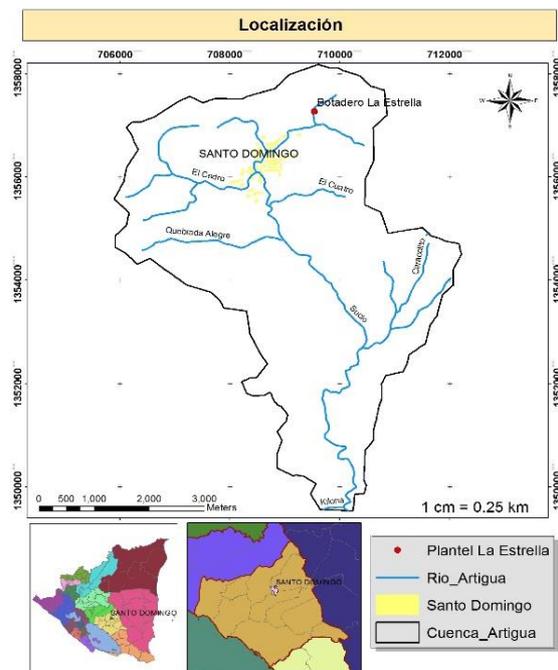


Ilustración 1. Localización del Área de Estudio: Plantel la Estrella

El segundo punto de muestreo son los sedimentos que se depositan en el riachuelo en el que se descargan las aguas residuales del Plantel, conocido localmente como “La Estrella” el cual es un afluente del Río Sucio o Artiguas (Coordenadas: 70957.25 E; 1357296.85 N).

2.2 Caracterización físico-química, biológica y de contaminantes de los sedimentos contaminados

Los dos sedimentos de interés fueron analizados para caracterizar su calidad desde el punto de vista físico-químico, biológico y de contaminantes metálicos, metaloides.

Los parámetros físico-químicos estudiados fueron: pH acuoso [CaCl₂, KCl] (ISO 10390:2005, método potenciométrico); Textura (Granulometría e Hidrometría ASTM 422-63 y Gravedad específica (ASTM 854-02)); Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC, Método de extracción con Cloruro de Bario, ICP-OES); Humedad (Método gravimétrico, 65 °C) y Materia orgánica (Método de pérdidas por ignición, 550°C). El análisis de metales y metaloides extractables totales en ambos sedimentos se hizo por digestión con Ácidos Nítrico y Clorhídrico diluidos 1:1 seguido del análisis por ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optic Emission Spectrophotometer) (USEPA, Métodos 6010 C y 200.7, 1994, 2000). También se analizaron los metales y metaloides totales lixiviables en agua destilada que son indicadores de la fracción biodisponible para las comunidades microbianas (Schinner, 1993).

Los metales y metaloides totales (digestión en agua regia) analizados son:

- Elementos mayores (%): Aluminio (Al₂O₃), Hierro (Fe₂O₃), Manganeso (MnO₂).
- Elementos menores (ppm): Cinc (Zn), Bario (Ba), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Plomo (Pb), Antimonio (Sb), Titanio (Ti), Vanadio (V).
- Elementos traza (ppb): Oro (Au), Mercurio (Hg), Arsénico (As), Plata (Ag), Cadmio (Cd), Berilio (Be), Níquel (Ni), Selenio (Se), Talio (Tl).

Los valores de metales y metaloides obtenidos fueron comparados con las directrices Canadienses para la calidad de sedimentos de agua dulce para protección de la vida acuática; se emplearon estas normativas internacionales ante la carencia de normas nacionales que regulen la calidad de los sedimentos.

2.3 Experimentos de Biolixiviación

El método empleado para los experimentos de Biolixiviación es el propuesto por Schinner (2005). La fase experimental consistió en el montaje de cuatro unidades percoladoras en filtros de Nalgene de 500 mL a los que se les agregaron 15 g de bagazo y una capa de 4-5 mm aserrín. Todos estos sustratos junto con los 150 g de muestra de sedimentos forman el sustrato complejo sometido a percolación.



Se utilizaron bombas peristálticas para suministrar los nutrientes (melaza) y agua como fluido de percolación a un flujo de 15 mL/h. Además se suministró vacío a lo largo de los 16 días del experimento cada 90 minutos durante 25 minutos para mejorar la percolación y asegurar condiciones aerobias para la población fúngica.

De las cuatro réplicas propuestas, el primer percolador (P1) se estableció como el Control Abiótico, el cual se diferencia del resto en que la muestra a lixiviar se esterilizó con el propósito de



cuantificar la lixiviación que ocurre naturalmente debido a la acción del agua y la melaza (lixiviación abiótica).

El resto de los percoladores 2, 3 y 4 se usaron para las muestras de sedimento por triplicado. Debido a que se pretendía evaluar y comparar la lixiviación fúngica autóctona y bioaumentada en ambas matrices (sedimento del Botadero la Estrella y Sedimento de río), se diseñó la realización de los experimentos en cuatro fases:

- 1) Biolixiviación Fúngica Autóctona de sedimento minero del Botadero La Estrella
- 2) Biolixiviación Fúngica Autóctona de Sedimento del Río.
- 3) Biolixiviación Fúngica Bioaumentada de sedimento minero del Botadero La Estrella
- 4) Biolixiviación Fúngica Bioaumentada de Sedimento del Río



2.3.1 Identificación y aislamiento de hongos autóctonos

Para la identificación de hongos se utilizó el método “Técnica de conteo por dilución en placa” modificado de Fernández, et al. (2006), en el cual se prepararon las placas dispersando cantidades pequeñas de sedimentos mineros en una caja de Petri estéril, en el cual se adicionó agar Saborou y se agitó levemente para dispersar las partículas. Esto permitió la identificación preliminar de hongos autóctonos.



2.3.2 Biolixiviación bioaumentada

Los experimentos de Biolixiviación fúngica bioaumentada difieren de los anteriores en que se inocularon hongos y se agregaron al inicio de la percolación (solución 10^8 esporas/mL) con el propósito de propiciar una mezcla de géneros, bajo el principio que un consorcio de hongos productores de ácidos orgánicos aumentarán la eficiencia de remoción de metales.



2.3.3 Optimización y estandarización de metodología analítica

Previo a la realización de los experimentos de lixiviación fúngica, el método de Schinner (2005) recomienda realizar pruebas de optimización de los ensayos debido a que la percolación y el crecimiento de los hongos dependen de las características físicas-químicas del sedimento o suelo a tratar (pH, textura, contenido de materia orgánica, CIC, metales). Por ello se diseñó una fase de experimentación previa en las que se evaluaron diversos parámetros como: flujo de melaza y agua evaluándose flujos de 20, 15 y 10 mL/h, duración del experimento (10 días), periodicidad de muestreo (toma de muestras cada 2 días). Además de realizar la caracterización de la melaza a utilizar como sustrato para los microorganismos. En esta fase previa, se realizó la estandarización de la metodología analítica, correspondiente al análisis de actividad enzimática, ácidos orgánicos y contenido de metales y metaloides en lixiviado y sedimento inicial.

2.3.4 Monitoreo de parámetros de biolixiviación

2.3.4.1 Monitoreo del contenido de metales, metaloides y no-metales

El monitoreo del contenido de metales y metaloides en suelo y lixiviado se realizó usando el equipo ICP-OES Agilent 700 Series (Inductively Coupled Plasma-Optic Emission Spectrophotometer). En el caso de las muestras de sedimento iniciales dispuestas en los percoladores se sometieron a digestión con ácidos clorhídrico y nítrico para el posterior análisis. Las muestras de lixiviado, tomadas cada 4 días por cada percolador, se preservaron con Ácido Nítrico para el posterior análisis por ICP-OES) (USEPA, Métodos 6010 C y 200.7, 1994, 2000).



2.3.4.2 Análisis de ácidos orgánicos

El monitoreo del contenido de ácidos orgánicos en el lixiviado tomado cada cuatro días se realizó con un equipo HPLC (High Performance Liquid Chromatography) usando un método similar a Vivier et al. (2012). La separación, identificación y cuantificación de los ácidos orgánicos se llevó a cabo al inyectar 10 μ L de muestra en un sistema de HPLC Perkin-Elmer Series 200 equipado con un detector UV/Vis (longitud de onda 210 nm) y una columna de intercambio iónico Supelcogel H L \times I.D. (250mm \times 4.6 mm), a un flujo de 0.6 mL/min, temperatura del horno de la columna 41 $^{\circ}$ C y H_2SO_4 4 mM como fase móvil.



Se emplearon estándares de ácidos orgánicos de ácido cítrico, tartárico, málico, succínico, acético, oxálico y propiónico (Sigma Aldrich) para la calibración del equipo. También se inyectaron estándares de las principales azúcares de la melaza (glucosa y fructosa) para sustraerlas de las áreas de algunos ácidos orgánicos que co-eluyeron con ellas.

2.3.4.3 Monitoreo de pH en lixiviado

El pH se midió basados en el método potenciométrico utilizando un pH-metro HACH SensiON2. La calibración del pH metro se realizó diariamente según las indicaciones del manual del fabricante.



2.3.4.4 Actividad enzimática de lipasa-esterasa en el sustrato complejo (sedimento+sustratos)

El método empleado para la determinación de la actividad enzimática lipasa-esterasa, fue el método colorimétrico de Margesin, Feller, & Hämmerle (2002), mediante el cual se emplea p-Nitrofenilbutirato (pNPB) como sustrato. Se cuantificó al medir el p-Nitrofenol (pNP) producido por la hidrólisis del sustrato a un pH de 7.25 al medir la absorbancia usando un espectrofotómetro Varian UV-Vis Cary 50 a una longitud de onda de 400 nm.



Las muestras fueron analizadas por triplicado y estaban conformados por pequeñas mezclas de sustrato complejo provenientes de los percoladores y los reactivos usados como sustratos. Las muestras analizadas fueron colectadas a las 0 horas, 4, 8, 12 y 16 $^{\circ}$ día de lixiviación.

Dentro de los materiales indicados para el método de análisis de actividad enzimática, se señalaba el uso de una centrifuga refrigerada, sin embargo se optimizó la forma de mantener baja la temperatura de los tubos para detener la reacción en un momento determinado. Así mismo se utilizó el equipo de agitación Vortex para homogenizar las muestras.





Cálculos, control de calidad analítico y análisis estadístico

La eficiencia de lixiviación se determinó utilizando la siguiente ecuación para cada metal de interés analizado (Seh-Bardan, *et al*; 2012):

$$\%Remoción = \frac{(Concentración\ metal\ en\ lixiviado) \times Volumen\ de\ Lixiviados}{(Concentración\ metal\ en\ sedimento) \times Cantidad\ de\ sedimento\ inicial\ seco} * 100$$

Los resultados y su estadística básica se calcularon por medio del software Microsoft-Excel (media, mediana y desviación estándar). Todos los lotes de análisis realizados incluyeron un grupo de requerimientos de control de calidad del procedimiento analítico, como por ejemplo, blancos de laboratorio (o del método), estándar subrogado, blanco enriquecido y una muestra analizada en duplicado, además de controles del instrumental utilizado para la cuantificación de los analitos. Las curvas de calibración fueron construidas con cuatro o cinco disoluciones de calibración y generalmente presentaron coeficientes de correlación lineal $R \geq 0,9950$ (o $R^2 \geq 0,9900$) para los analitos de interés. Los límites de detección fueron calculados para cada analito usando el método estadístico de Meier & Zünd. Se realizarán ANOVAs de efectos principales usando como factor los grupos de estudio (Control abiótico y réplicas de lixiviación fúngica) para determinar la significancia de la diferencia en los parámetros de interés (i.e. metales/metaloideos lixiviados, pH, actividad enzimática, ácidos orgánicos).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3 Caracterización inicial

Las características físicas y químicas del sedimento minero y sedimento del río son presentadas en la Tabla 3.1. Ambos sedimentos presentan pH ligeramente ácidos. El contenido de materia orgánica es la misma en ambas matrices por debajo del 0.5 %. El sedimento minero tiene textura franco arenosa mientras que el sedimento del río tiene textura Franco lo que indica que el sedimento minero tiene ligeramente una mayor permeabilidad que el sedimento del río.

Tabla 3.1. Características iniciales de sedimento minero y sedimento del río

Parámetro	Sedimento minero	Sedimento del Río
pH	6.11	6.24
Materia Orgánica (%)	0.31	0.31
Granulometría		
% Arena media	5	-
%Arena fina	51	45
% Limo	32	44
% Arcilla	12	11

3.4 Comparación de concentración de metales y metaloides con directrices Canadienses para la protección de la vida acuática

Las concentraciones de metales pesados y metaloides totales en el sedimento minero y sedimento del río son presentadas en la Tabla 3.2. El sedimento del río presenta concentraciones más altas en algunos de los metales (As, Cd, Cr y Cu) a excepción del Pb, Hg y Zn que presentan sus más altas concentraciones en el sedimento minero.

La discusión sobre el contenido de metales y metaloides en el lixiviado se centrará especialmente en los metales con niveles establecidos en las directrices Canadienses; además del oro y la plata, por ser metales preciosos.

El CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment), establece directrices de calidad de sedimento para la protección de la vida acuática que proveen de puntos de referencia con rigor científico para evaluar el potencial de observar efectos biológicos adversos en los ecosistemas acuáticos y se derivan de la información toxicológica disponible de acuerdo con el protocolo formal establecido por el Consejo Canadiense de Ministros de Medio Ambiente (CCME, 1999b). Estas directrices tienen dos componentes importantes a tener en cuenta para propósitos interpretativos: (1). la directriz interina (ISQG), que pueden ser interpretada como la concentración por debajo de la cual se predice que los efectos adversos sobre la biota ocurran raramente (nivel umbral de efecto), y (2). el nivel de efecto probable (PEL), que es la concentración por encima de la que se prevé que los efectos adversos sobre la biota ocurran frecuentemente. Por medio de estas componentes se pueden definir consistentemente tres rangos de concentraciones de químicos: (1) el intervalo de efecto mínimo en el que raramente se producen efectos adversos (i.e., menos del 25% de efectos adversos ocurren), (2) el intervalo de efectos posibles en el que de vez en cuando se producen efectos adversos (i.e., el comprendido entre los porcentajes del PEL y ISQG), y (3) el rango de efecto probable dentro del cual los efectos biológicos adversos ocurren con frecuencia (i.e., más del 50% de efectos adversos se producen). Las definiciones de estos rangos o intervalos se basan en la presunción de que el potencial para observar toxicidad de una sustancia química aumenta con la concentración de ésta en los sedimentos (citado en CCME, 1999b).

Los casos críticos en los que con mayor probabilidad van a ocurrir efectos biológicos adversos para ambos sedimentos son debidos al Mercurio y al Plomo, y al Cd en el caso del sedimento del río ya que sobrepasan los niveles recomendados por 9-19×, 8-11× y 60 %, respectivamente. Las probabilidades de que ocurran efectos adversos sobre la biota acuática serían > a 47, 36 y 42 % respectivamente. Basados en las concentraciones de Arsénico, Cobre y Zinc, existe muchas menores probabilidades (< 5 %) de que ocurran efectos adversos de manera frecuente. El cromo es el único metal cuya afectación a la vida acuática es de muy baja probabilidad.

Tabla 3.2. Concentraciones de metales y metaloides en el sedimento de desecho de la Planta “La Estrella” que es depositado en el Botadero y del Sedimento del Río comparados contra las directrices Canadienses para la protección de la vida acuática.

Elemento	Sedimento minero	Sedimento de Río (mg/kg)	ISQG (mg/kg)	PEL (mg/kg)	% <ISQG	ISQG < %<PEL	%>PEL
Arsénico	5.42 ± 1.39	7.19 ± 0.66	5.9	17	5	25	12
Cadmio	1.54 ± 0.01	5.52 ± 0.04	0.6	3.5	11	12	47
Cromo	5.81 ± 0.09	9.65 ± 0.23	37.3	90	2	19	49
Cobre	150.51 ± 0.12	185.43 ± 0.41	35.7	197	4	38	44
Plomo	1043.98 ± 32.32	730.21 ± 10.82	35	91.3	5	23	42
Mercurio	9.23 ± 1.58	4.40 ± 1.02	0.17	0.486	8	34	36
Zinc	226.32 ± 3.44	208.52 ± 0.15	123	315	5	32	36

*Los metales que sobrepasan las directrices interinas (ISQG) se resaltan en **violeta**, en **rojo** los que sobrepasan las de efecto probable (PEL).

3.5 Identificación y aislamiento de hongos autóctonos

Los géneros identificados y utilizados en los tratamientos fueron: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Monilia* y *Geotrichum*. Según la literatura consultada los géneros *Aspergillus* son hongos productores de Ácidos Orgánicos, potenciales para la Biolixiviación (Schinner et al, 2005; Wasay, 1998; Sabra et al, 2012; Gadd, 2005).



3.6 Resultados de Optimización y estandarización de metodología analítica

La fase experimental de Optimización duró 10 días. Posterior a los análisis de contenido de metales y metaloides en el lixiviado, se obtuvo que el 8° día de experimento ocurría la mayor lixiviación para la mayoría de los metales analizados. Por ello, para los experimentos definitivos se decidió prolongar más el tiempo de experimentación para evaluar si los hongos luego del 8vo día siguen con el potencial lixivante.

Con respecto a los flujos de suministro de melaza y agua de percolación, se obtuvo que el flujo de 15 mL/h era el más óptimo, ya que con 20 mL/h se saturaba el sustrato complejo en los percoladores, y en 10 mL/h, preocupaba que no hubiera mayor fuerza de arrastre (percolación) de los metales solubilizados.

Por otra parte, se observó necesario tratar previamente al sustrato (bagazo) sobre todo tamizarlo, ya que resultó ser un significativo interferente en los análisis de actividad enzimática y de metales pesados.

Por optimización de costos por análisis, se decidió realizar muestreo de lixiviado y sedimento+sustrato para actividad enzimática cada 4 días, es decir muestras del día 0, 4, 8, 12, y 16 y no los 2 días realizados en la fase de optimización.

Con respecto a la estandarización analítica, en el método de actividad enzimática se hizo pruebas empleando 0.1 g y 0.2g de muestras; resultando en base a la curva de calibración que con 0.1g de muestra se obtiene datos confiables, puesto que es la que proporcionó mayor correlación.

Se estimó el % de Sólidos de la melaza mediante el método adaptado de “Secado de arena en vacío” resultando un valor promedio de 82%. El método de biolixiviación indica un % de Sólidos menor del 75%; por lo que fue necesario diluir hasta alcanzar lo recomendando por Schinner (2002).

3.7 Ácidos orgánicos

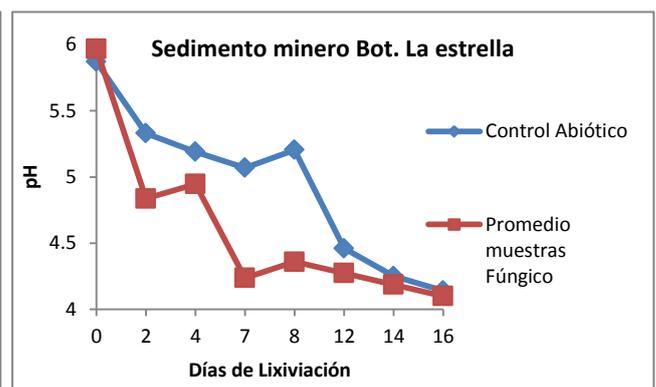
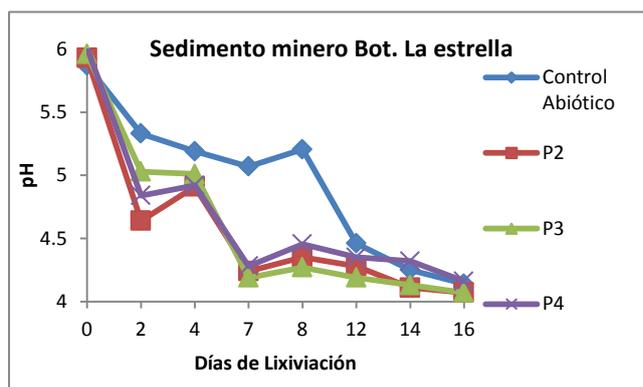
Los ácidos orgánicos detectados en lixiviados de sedimentos contaminados son presentados en la Tabla 3.4. Por el momento solo se han analizados de forma cualitativa, posteriormente se hará la cuantificación de los ácidos orgánicos producidos durante los experimentos.

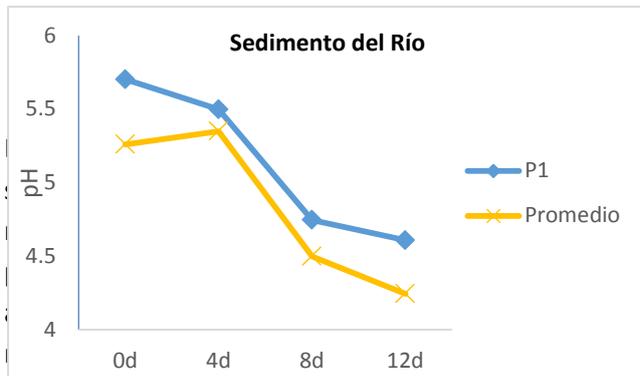
Los ácidos orgánicos oxálico, propiónico, succínico y acético fueron detectados en ambos sedimentos tratados con lixiviación fúngica. La producción de ácidos inició a partir del 4 día monitoreado. A Grosso modo, observándose a simple vista los cromatogramas preliminares, puede decirse la concentración de ácido oxálico pareciera ser la más alta en todos los casos seguida de succínico y propiónico, las concentraciones de ácido acético fueron las más bajas.

Tabla 3.4. Ácidos Orgánicos detectados cualitativamente

Sedimento Botadero La Estrella y Sedimento de Río
Ácido Oxálico
Ácido Succínico
Ácido Propiónico
Ácido Acético

3.8 Monitoreo de pH del Lixivado en Botadero La Estrella y Sedimento de Río



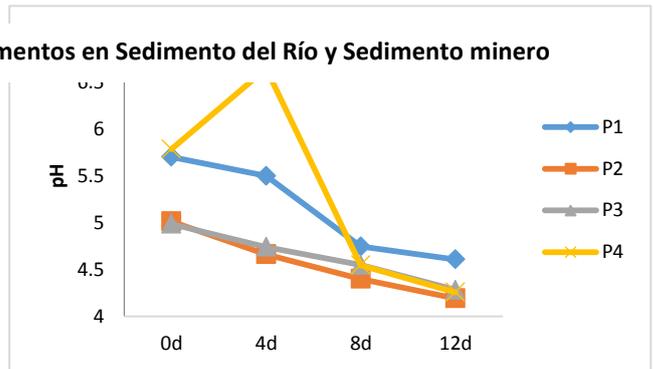


proceso de biolixiviación en sedimento minero y en ambos casos la distribución del valor del pH es el promedio de los demás percoladores que esto de los percoladores por la producción de gases. Según Gadd (2008) la solubilidad de los metales puede incrementar por la presencia de sustancias

las cuales formarán complejos solubles. El pH influye

Figura 2. Comportamiento del pH del Lixiviado de experimentos en Sedimento del Río y Sedimento minero

especiación y movilidad del metal. Esto aseguraría la solubilidad de la mayoría de los metales que en teoría han sido lixiviados y principalmente en forma de complejos.



3.9 Actividad enzimática Lipasa

3.9.1. Actividad de lipasa en Sedimento minero del Botadero La Estrella

Las muestras analizadas correspondieron a muestras de sedimento minero del Botadero la Estrella de los 4 percoladores (Control abiótico mas las muestras de Biolixiviación fúngica por triplicado) durante los 16 días de lixiviación cada 4; muestras de los días: 0h, 4, 8, 12 y 16 días.

De cada día se hizo la respectiva curva de calibración. La tabla 3.5 presenta el resumen de los datos de Actividad enzimática con las respectivas desviaciones estándares:

Tabla 3.5. Datos de Actividad enzimática (mg pNP/g sed x 10 min.)

			0d	4d	8d	12d	16d
Percoladores	Control Abiótico	P1	4.22 ± 0.76	11.64 ± 0.65	10.84 ± 3.65	12.22 ± 3.04	15.45 ± 0.06
		P2	3.55 ± 0.00	10.71 ± 1.34	6.75 ± 1.07	29.19 ± 7.06	18.40 ± 0.00
	Muestras Triplicado	P3	2.49 ± 0.40	7.66 ± 1.40	6.30 ± 1.16	17.59 ± 1.34	18.24 ± 0.00
		P4	4.87 ± 1.58	9.93 ± 0.17	12.53 ± 0.50	18.46 ± 0.74	21.52 ± 0.00
		Promedio	3.63 ± 1.19	9.44 ± 1.58	8.52 ± 3.48	21.75 ± 6.46	19.39 ± 1.85

El comportamiento de la actividad enzimática para las muestras y el control abiótico a lo largo del proceso de lixiviación es presentado en la Figura 3. Así mismo se presenta el promedio de las muestras tratadas con hongos vs el control abiótico. En los primeros 8 días, el comportamiento de la actividad enzimática en todas las muestras, incluyendo el control abiótico, son similares; manteniéndose valores entre los 3 mg pNP/g x10 min (actividad enzimática inicial) a 12 mg pNP/g x10 min en el 8vo día. La diferencia ocurre mayormente en el día 12, en el que las muestras de lixiviación fúngica presentan mayor actividad de lipasa (alcanzando un pico de 27 mg pNP/g x10 min) que el del control abiótico (cerca de 12 mg pNP/g x10 min). En el último día se presenta una diferencia mayor no tan significativa con respecto al control abiótico.

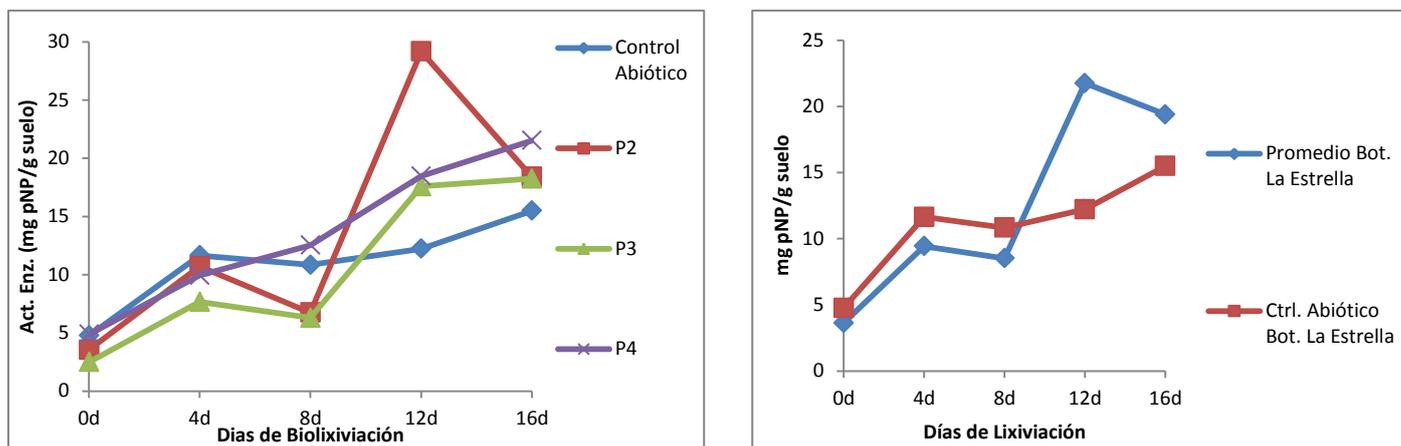


Figura 3. Comportamiento de Actividad enzimática en muestras Biolixiviación Botadero la Estrella. Muestras replicas y Promedio de muestras vs Control Abiótico

Ocurre una marcada diferencia entre ambos comportamientos (Promedio vs Control Abiótico), implicándose que la actividad aumenta conforme el proceso de lixiviación progresa; siendo menor la actividad enzimática en el control abiótico. La explicación del comportamiento creciente puede deberse tanto al aumento de cantidad de sustrato ya que el bagazo y melaza pueden contener algunos compuestos grasos afines a la lipasa; o bien puede deberse a la disminución del contenido de metales pesados que inhiben a la lipasa. Margesin (2002) menciona que algunos metales tales como Hg, Cd y Cu son de los que más impacto ocasionan en la actividad de la lipasa; en menor magnitud lo hacen el Ni, Zn y Pb. Como se mostrará más adelante, el Pb, Cu y Zn son de los principales metales lixiviados por acción de los hongos autóctonos ocurriendo mayor lixiviación a partir del 8^a día; este hecho explicaría el aumento de la actividad de la lipasa a partir del 8^a día ante la disminución de inhibidores en el sedimento minero en tratamiento.

3.9.2. Actividad de lipasa en Sedimento del río

En la segunda fase de experimentación se realizó el mismo procedimiento con la diferencia que las muestras tratadas provenían de sedimento del río dispuestas en los percoladores, siendo el primer percolador (P1) el control abiótico o muestra tratada con Lixiviación abiótica.

La Tabla 3.6, presenta los datos de actividad enzimática y desviación estándar durante el proceso de experimentación. Cabe mencionar, que este experimento duró 12 días debido a problemas externos correspondientes a actividad sísmica en el país siendo suspendido justamente en el 13vo día.

Tabla 3.6. Datos de Actividad enzimática en sedimento del río (mg pNP/g sed x 10 min.)

			0d	4d	8d	12d
Percoladores	Control Abiótico	P1	3.12 ± 0.00	3.55 ± 0.43	16.38 ± 0.98	15.96 ± 4.14
	Muestras Triplicado	P2	3.86 ± 0.00	3.48 ± 1.22	13.58 ± 2.80	27.01 ± 3.45
		P3	5.65 ± 0.28	3.67 ± 0.00	5.27 ± 0.36	25.23 ± 1.06
		P4	5.36 ± 0.19	3.48 ± 0.26	10.22 ± 1.13	26.31 ± 3.26
		Promedio	4.96 ± 0.96	3.54 ± 0.11	9.69 ± 4.17	26.18 ± 0.89

El comportamiento de la actividad enzimática en las muestras de los percoladores se presenta en la Figura 4, además del comportamiento promedio de actividad de lipasa en muestras con lixiviación fúngica vs la lixiviación abiótica. En los primeros 4 días no sufre alteración significativa, manteniéndose prácticamente en todas los Percoladores, con valores alrededor de los 4 mg pNP/ g x 10min. Al octavo día aumenta de manera similar en las muestras así como en el control abiótico, logrando un valor pico de 16 mg pNP/ g x 10min aproximadamente. Sin embargo, la diferencia se observa en el día 12, en el que la actividad de lipasa en el control abiótico se mantiene, pero en las muestras de lixiviación fúngica aumenta alcanzando un pico de 27 mg pNP/ g x 10min. Lo que indica que probablemente en el día 12 se produce la mayor lixiviación acumulativa de metales pesados por acción de los hongos.

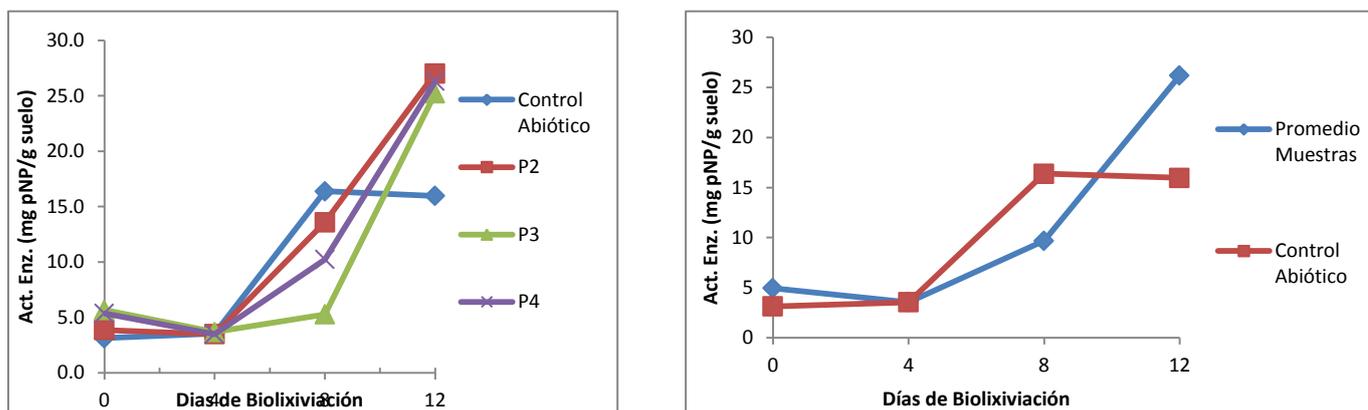


Figura 4. Comportamiento de Actividad enzimática en muestras Biolixiviación Sedimento del Río. Muestras replicas y Promedio de muestras vs Control Abiótico

En cuanto al promedio de la actividad enzimática de las muestras, se observa una diferencia significativa en el comportamiento con respecto al control abiótico. La incongruencia podría mencionarse en los datos del día 8, en el que la actividad enzimática en el control abiótico resulta significativamente mayor al promedio en las muestras tratadas con hongos. Sin embargo, en el 12vo día, la actividad enzimática lipasa en las muestras aumenta drásticamente alcanzando valores mayores de los 25 mg pNP/ g x 10min, mientras en el control abiótico se mantiene constante en valor aproximado de 16 mg pNP/ g x 10min.

Margesin, (2002) estudió la inhibición de algunos metales pesados en la actividad enzimática de la lipasa en el suelo. Estudió los efectos del Ni, Zn, Pb, Hg, Cu y Cd. Encontró que Hg^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} tuvieron los impactos más altos en la actividad. También descubrió la diferencia de impactos con respecto a las propiedades físicas del suelo. Para suelos con bajo contenido de arcilla y humus ocurrió el mayor impacto por inhibición con metales, lo que sugiere que los metales no se adsorbían como en caso del suelo con alto contenido de estos; lo que indica que están más libres de interferir y de interactuar con la actividad enzimática de la población microbiana presente. Esto concierne al caso sobre la diferencia entre las actividades entre el sedimento del río y sedimento minero; ya que el sedimento minero presenta menor contenido de partículas finas (limo y arcilla) y por tanto la acción de los metales con las enzimas es más inhibitoria que en el sedimento del río, ocasionando menor actividad que en el sedimento, aunque también podría explicarse por la lixiviación de metales como Pb, Cd y Zn; además del Au como se explicará más adelante.

3.10 Contenido de metales lixiviados

3.10.1. Lixiviado de Sedimento minero del Plantel La Estrella

El comportamiento del contenido de metales y metaloides durante el proceso de biolixiviación es presentado en la Figura 5. El Cd, Cu, Ag, Se, Zn, Hg y Au presentan comportamientos similares en el lixiviado provenientes de las muestras tratadas con hongos autóctonos; iniciando con bajos contenidos en los primeros 4 días; alcanzando en el 8vo día la máxima cantidad lixiviada, seguido de una disminución en los días subsiguientes. En cambio, en el control abiótico las cantidades lixiviadas se mantienen muy bajas y casi constante durante el proceso, a excepción del Au y el Zn, en donde presenta un comportamiento irregular y creciente a partir del 4° día pero no mayores a los lixiviados por acción fúngica. El Pb, presenta comportamiento creciente, iniciando con bajos contenidos en los primeros 4 días, y alcanzando el máximo en el 8vo día, pero a diferencia del Cd, Cu, Ag, Se, Zn y Au, no disminuye drásticamente, si no que se mantiene la cantidad lixiviada en los siguientes días, alcanzando una ligera disminución en el día 16.

Hernández (2011) cita varios estudios en los que se reportan metales como Al, Fe, Ni, Pb, Cd, Cu y Zn como los principales metales lixiviados por acción de hongos filamentosos como el *A. niger*. También se menciona la lixiviación de Cu, Zn y Co del esquisto negro o piedra negra, un mineral de bajo grado (low ore grade). Explica que *A. niger* produciendo ácidos orgánicos como cítrico, oxálico y málico fueron efectivos para la solubilización de metales como Cu, Cd, Pb y Zn principalmente; lo que explicaría el comportamiento en la biolixiviación en sedimentos mineros en el que uno de los principales ácidos orgánicos identificados es el Ácido Oxálico.

El contenido de Hg en el lixiviado indica un pico de cantidad lixiviada en el día 8°, sin embargo el contenido en el control abiótico no muestra diferencia significativa en su comportamiento con respecto a las muestras tratadas con hongos autóctonos, pese a presentar la menor cantidad lixiviada; Wasay (1998) logró obtener porcentajes de remoción de Mercurio que se aproximan al 90% mediante uso de *Aspergillus Niger* para suelos contaminados de tipo arcilloso franco en condiciones de pH de rangos entre 4 a 6, mencionando que en el 4to día de experimentación ocurrió el pico de mayor cantidad de Hg lixiviado en un experimento de 21 días explicando que probablemente una pequeña cantidad del mercurio sufrió complejación por ácidos orgánicos pero la mayor parte se lixivió por partículas coloidales elementales. En el presente caso probablemente ocurrió un proceso similar.

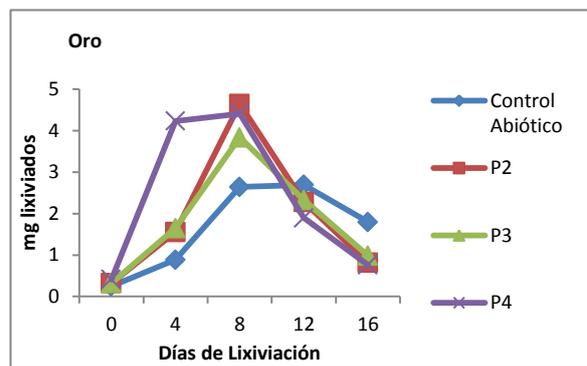
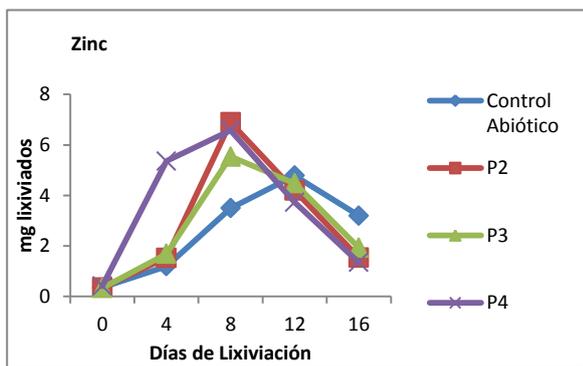
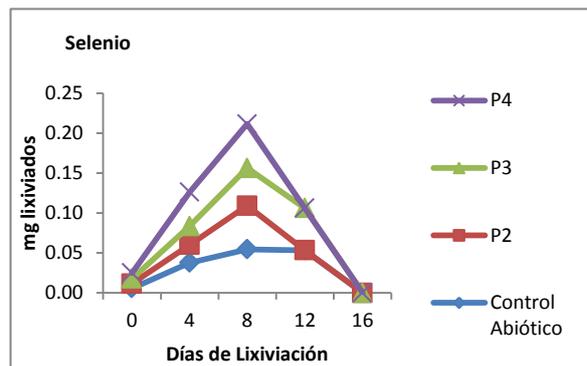
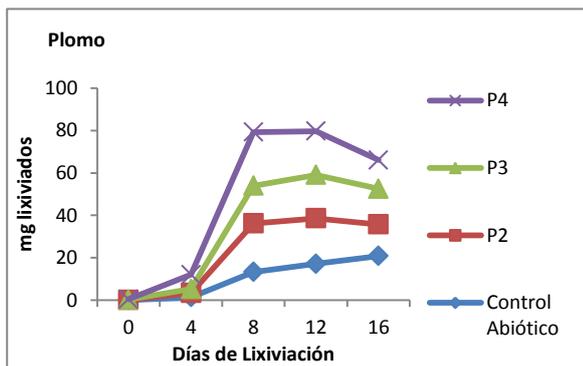
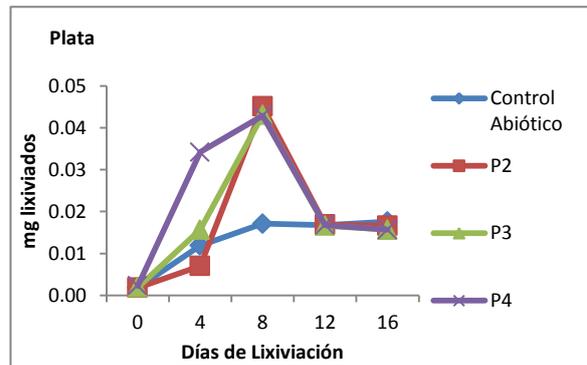
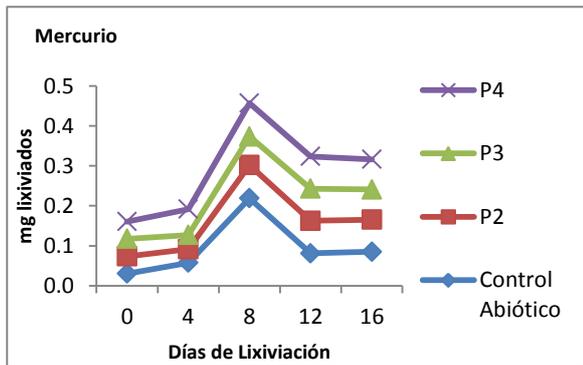
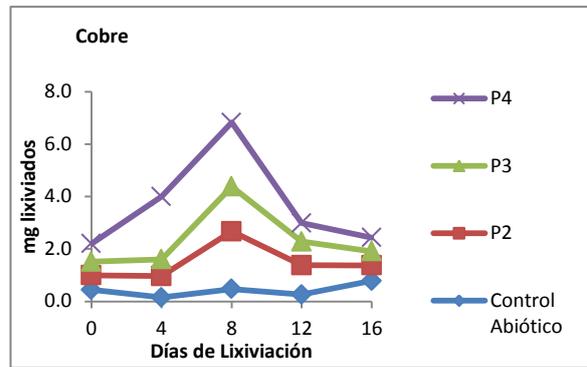
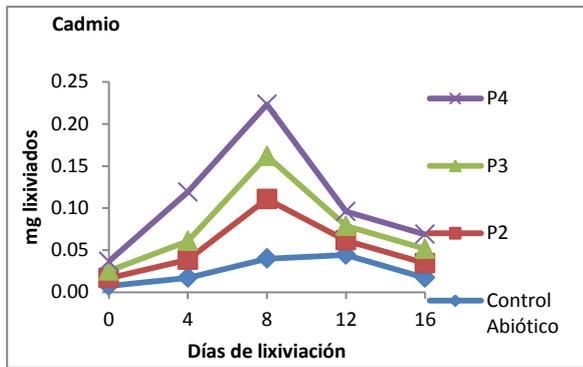


Figura 5. Comportamiento de contenido neto de metales y metaloides en Lixiviado vs tiempo

El contenido total de metales lixiviados durante el periodo de biolixiviación se presenta en la Tabla 3.7 y de manera grafica en la Figura 6. Estos datos resultan de la suma acumulativa del contenido de metales en el lixiviado en los días recolectados. En contenido neto, el Pb resultó ser el de mayor cantidad lixiviada, seguido por el Zn. En general sigue el siguiente orden de cantidad neta lixiviada: Pb >> Zn > Au > Cu > Tl > Hg > Cd > Se.

Tabla 3.7. Cantidad de metales lixiviado total (mg).

	Cd	Cu	Pb	Hg	Se	Tl	Zn	Ag	Au
Control Ab.	0.13	2.11	52.42	0.47	0.15	1.58	13.03	0.07	8.27
P2	0.14	5.29	61.36	0.32	0.08	1.44	14.51	0.09	9.62
P3	0.12	4.29	56.86	0.31	0.13	1.37	13.98	0.09	9.11
P4	0.17	6.76	66.32	0.35	0.10	1.58	17.43	0.11	11.71

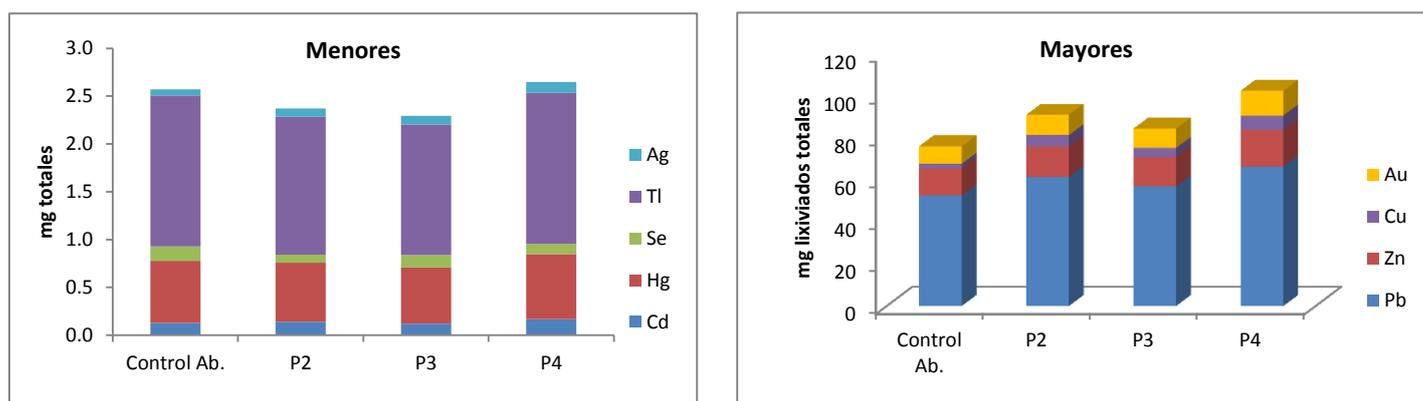


Figura 6. Cantidad neta lixiviada de metales y metaloides de interés

Lixiviado en sedimento del río

La Figura 7 presenta el comportamiento de los metales y metaloides en el lixiviado de las muestras de sedimento del río. El Cd, Zn, Ag, Au y Se, comparten comportamientos similares; con baja lixiviación inicial abiótica pero aumentando y alcanzando la máxima cantidad lixiviada en el 8vo día; y decreciendo en los días subsiguiente (12vo día). De estos metales el caso de Ag, resulta particular ya que se encuentra la mayor cantidad lixiviada en el control abiótico que en las muestras tratadas con hongos productores de ácidos orgánicos; lo que sugiere que los ácidos no solubilizan plata o bien alguna fracción se precipitó ya que la Ag a pH bajos se encuentra en estado iónico Ag^+ , sin embargo este ión se reduce fácilmente a metal libre como sucede en la deposición de espejos de plata por agentes reductores orgánicos. Se ha reportado que los ácidos orgánicos trabajan como agentes reductores en algunos casos brindando las respectiva sal resultante sobre todo el Ácido Oxálico resultando en Oxalato de Plata; también compuestos como la glucosa y otros polisacáridos actúan como agentes reductores (Corzo, 2012). Además, es muy probable la presencia de otros agentes reductores en la melaza utilizada como sustrato.

El Hg y el Cu, presentan comportamiento similares en los cuales se alcanza la máxima cantidad lixiviada en el día 4; y en días subsiguientes se alcanzan valores debajo del Límite de detección (<LD) para el caso del Cu, y No detectados (ND) en el caso del Hg. No se observa diferencias entre la cantidad lixiviada en el control abiótico que en las muestras por triplicado tratadas con lixiviación fúngica. El comportamiento del contenido de Pb en el lixiviado es diferente, siendo creciente durante todo el proceso; puede asegurarse que el mejor comportamiento de lixiviación ocurre con el Pb.

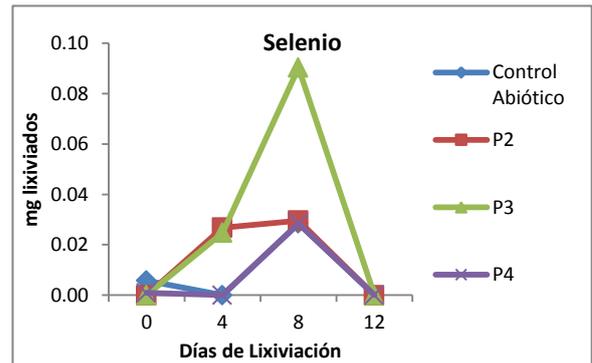
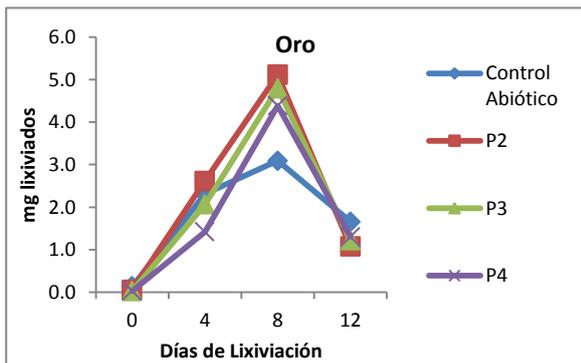
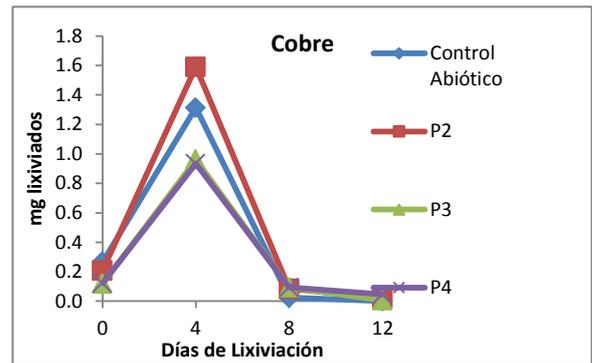
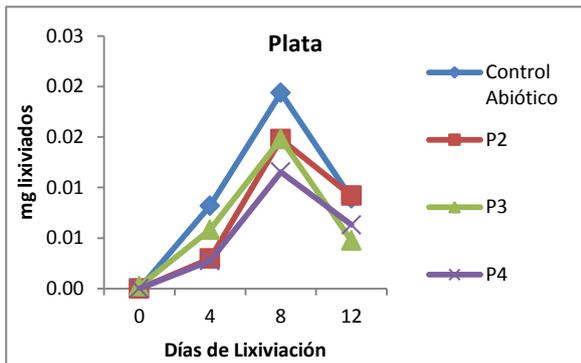
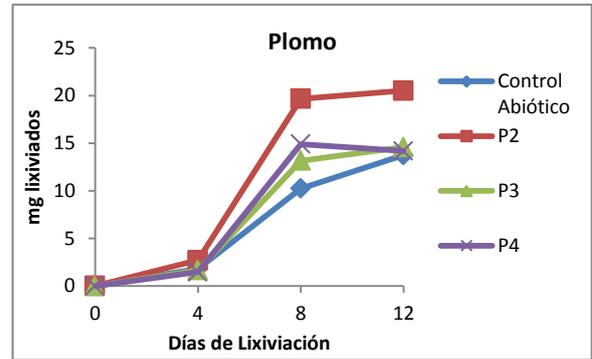
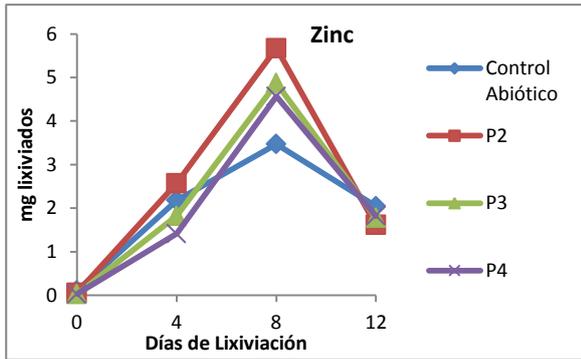
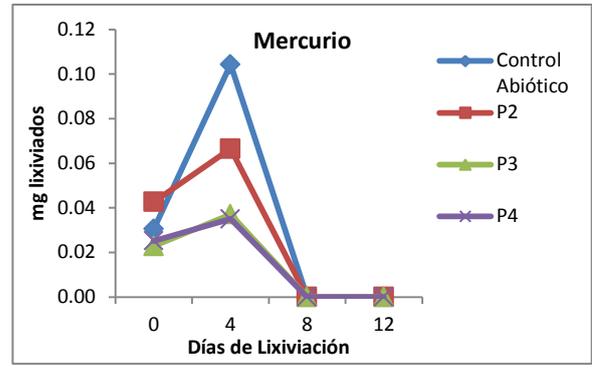
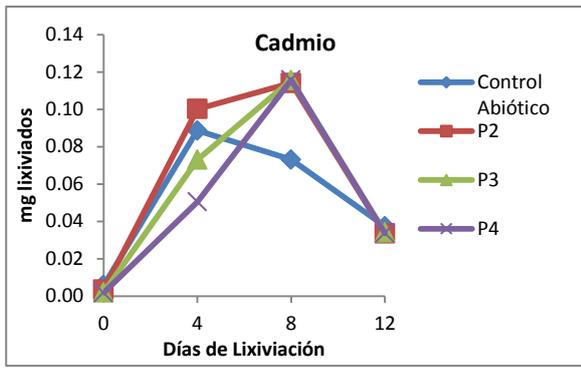


Figura 7. Comportamientos de contenido de metales y metaloides vs días de lixiviación en Sedimento del Río

El contenido total de miligramos lixiviados de metales de interés en el sedimento del río es presentado en la Tabla 3.8. El metal con mayor lixiviado neto generado es el Pb con valores cercanos a los 30 y 40 mg. Le sigue el Zn y Au. El orden es el siguiente: Pb>>Zn>Au>Cu>Tl>Cd>Hg>Se>Ag. Se debe recordar que el sedimento del río presenta para la mayoría de los metales las mayores concentraciones con respecto al sedimento minero del botadero. Por otra parte los valores de Ag lixiviado probablemente no sean los realmente lixiviados, ya que alguna fracción del total pudo haber precipitado por agentes reductores orgánicos como glucosa y/o ácidos orgánicos.

Tabla 3.8. Cantidad total lixiviada de metales (mg)

	Pb	Cd	Cu	Zn	Ag	Au	Hg	Se	Tl
Control Abiótico	25.80	0.20	1.60	7.80	0.04	7.20	0.13	0.03	1.02
P2	42.90	0.25	1.90	9.92	0.03	8.86	0.11	0.06	1.17
P3	29.40	0.22	1.18	8.49	0.03	8.12	0.06	0.12	1.01
P4	30.56	0.20	1.20	7.83	0.02	7.14	0.06	0.03	0.87

Porcentajes de Eficiencias de Biolixiviación

Remoción por lixiviación fúngica en Sedimento minero del Bot. La Estrella

Se calcularon los porcentajes de eficiencia de remoción de metales por lixiviación fúngica y lixiviación abiótica. Los porcentajes de remoción según los percoladores y los metales de interés son presentados en la Tabla 3.9. El Pb, Cd, Zn, Au y Se presentan los porcentajes de remoción promedio más significativos con aproximadamente 40, 60, 42, 72 y 42 % respectivamente. Para los metales antes mencionados se observa diferencia entre la remoción por lixiviación abiótico y por lixiviación fúngica. Las remociones de Cu, Cr, Hg y V no sobrepasan los 25%.

La Tabla 3.10, presenta las eficiencias fúngicas o dicho de otro modo, el % de remoción que aporta los hongos sobre la lixiviación abiótica. La mayor diferencia con respecto a los promedios de parte de la lixiviación fúngica es sobre el oro y el cobre, aportando un 15% de lixiviación, lo cual se comprobó con el comportamiento del metal en el lixiviado, se debe remarcar la importancia económica de estos metales. Le sigue el cadmio con 11.45 % de lixiviación aportada por hongos y el Plomo con 10.38 %. Para el caso como Cromo, mercurio, plata y selenio, no parece haber participación de lixiviación fúngica sobre estos metales.

Tabla 3.9. Porcentaje de Remoción de metales en el botadero La Estrella-Lixiviación fúngica autóctona

	Plomo	Cadmio	Cobre	Cromo	Zinc	Plata	Oro	Mercurio	Selenio	Vanadio
Control Abiótico	29.50	49.01	8.49	25.11	32.38	1.94	52.04	13.66	43.87	12.06
P2	39.39	63.15	22.77	21.83	38.82	3.02	66.18	10.87	37.79	16.72
P3	36.16	46.30	18.99	22.55	37.81	2.86	64.38	8.09	29.01	16.16
P4	44.10	71.94	30.58	29.09	48.62	2.45	84.04	12.67	61.41	18.63
Promedio de triplicados	39.88	60.46	24.11	24.49	41.75	2.78	71.53	10.54	42.73	17.17

Tabla 3.10. Porcentaje aportado por acción Fúngica (Resta del % Promedio de triplicados -% Remoción control abiótico)

	Plomo	Cadmio	Cobre	Cromo	Zinc	Plata	Oro	Mercurio	Selenio	Vanadio
Promedio	10.38	11.45	15.63	-	9.37	0.84	19.49	-	-	5.11

Remoción por lixiviación fúngica en Sedimento del río

Los porcentajes de remoción de metales y metaloides en sedimento del río se muestran en la Tabla 3.11. El metal mayormente lixiviado es el Oro con un promedio de 75%. El Pb, Cd, Zn fueron lixiviados a niveles de 36, 56, 30 % respectivamente. Casos como Cr, Cu, Hg y V no sobrepasan los 10 % de remoción.

Tabla 3.11. Porcentaje de Remoción de metales en el Sedimento del Río-Lixiviación fúngica autóctono

	Plomo	Cadmio	Cromo	Cobre	Zinc	Plata	Oro	Mercurio	Selenio	Vanadio
Control Abiótico	25.25	46.32	2.32	6.30	26.12	1.19	79.77	12.67	-	4.65
P2	44.91	60.16	3.53	7.65	34.44	0.96	102.90	6.23	59.06	8.48
P3	30.86	54.42	4.16	4.86	29.91	0.90	95.75	2.90	70.58	8.37
P4	31.32	53.23	3.60	4.83	26.35	0.72	80.32	5.24	-	6.43
Promedio De Triplicados	35.69	55.94	3.76	5.78	30.23	0.86	75.04	4.79	43.21	7.76

La Tabla 3.12 muestra la eficiencia que aporta la actividad fúngica sobre la lixiviación abiótica. El mayor aporte es obtenido en el Au, seguido por el Pb y el Cd. En metales como el V, Zn y Cr el aporte es mínimo; y en Cu, Ag, Hg y Se el promedio es menor que en el control Abiótico.

Tabla 3.12. Porcentaje de Eficiencia Fúngica (Resta del % Promedio fúngico total -% Remoción control abiótico)

	Plomo	Cadmio	Cromo	Cobre	Zinc	Plata	Oro	Mercurio	Selenio	Vanadio
Promedio	10.44	9.61	1.44	-	4.12	-	13.22	-	-	3.11

Discusión

Wasay (1998) alcanza niveles de remoción de metales con *Aspergillus n.* en suelos contaminados en dependencia de la textura del suelo. Reporta que para Cr, Pb y Hg en suelos arcillosos franco alcanza remociones de 37, 85 y 91 % respectivamente. En suelo de textura franco, suelos más permeables, reporta niveles de remoción de Cd y Pb en 99 y 83 % respectivamente; y en suelo arenosos limoso, Cd, Cu, Pb y Zn alcanzaron niveles de lixiviación de 99, 94, 58 y 99 % respectivamente. Estos niveles son alcanzados por inoculación única de *Aspergillus n.* En nuestro caso de lixiviación fúngica autóctona (sin inoculación) se alcanzan niveles de lixiviación significativos comparándolos con el estudio de Wasay (1998); Pb, Cd, Zn, Au y Se son los metales principalmente lixiviados con porcentajes de remoción mayores del 30% en ambos sedimentos en estudio.

Sabra, Dubourguier, & Hamieh (2012) obtuvieron remociones de 44 %, 12 %, 1.6 % y <2 % para Zn, Cu, Cd y Pb respectivamente, en sedimentos dragados. Comparando estos valores con los obtenidos en la presente investigación para sedimento del río se observa ciertas similitudes, sobretodo en los bajos valores para el Cu; de manera general la Tabla 3.13 presenta la comparación entre los Porcentajes de remocion de metales según ambos sedimentos tratados con hongos autóctonos. Se presenta de manera gráfica en la Figura 8. Se lixivia menos metales en el sedimento del río que en el sedimento minero del botadero la estrella (excepto por el Au), esto puede explicarse por la textura del sedimento, por la posible diferencia de especies químicas en que se encuentren los metales en ambas matrices. El sedimento del río tiende a ser menos permeable por presentar mayor fracción de partículas menores y por ello capturar mas a los metales.

Tabla 3.13. Porcentajes de remoción en sedimento minero y sedimento del río. Comparación.

Metal	Sedimento del Río	Sedimento Minero
Pb	35.69	39.88
Cd	55.94	60.46
Cr	3.76	24.11
Cu	5.78	24.49
Zn	30.23	41.75
Ag	0.86	2.78
Au	92.99	71.53
Hg	4.79	10.54
Se	64.82	42.73
V	7.76	17.17

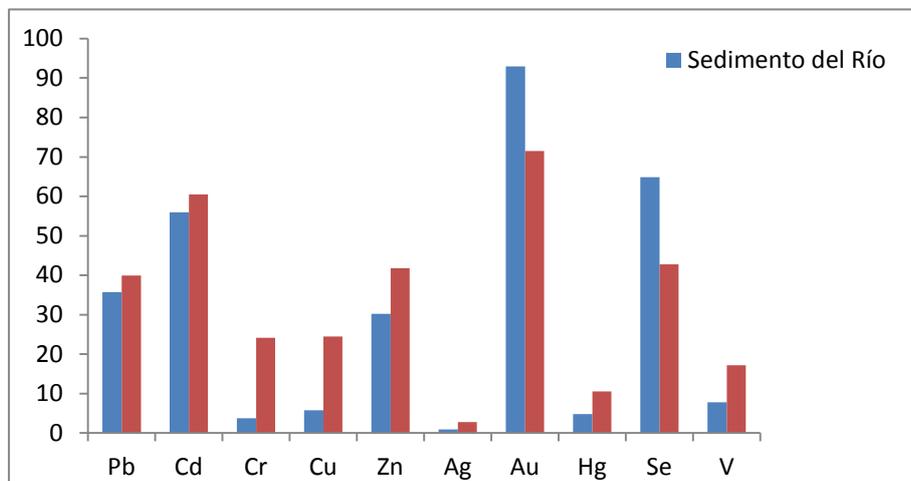


Figura 8. % De Remoción fúngica de metales en sedimento minero y sedimento del río.

El hecho que el Au sea de los de mayor remoción obtenido expresa la viabilidad y opcionabilidad de recuperar metal precioso para aprovechamiento economico, aportando no solo funcionalidad de remediación a la tecnica. El caso de las bajas remociones de Ag, se mencionó que puede deberse a la precipitación debido a agentes reductores presentes en el lixiviado tales como polisacardidos y los mismo acidos organicos producidos. Cd, Pb y Hg son los principales contaminantes en el sedimento del río confirmandose altas probabilidades de ocasionar efectos adversos a los organismos acuáticos riverinos, sin embargo se observa que para Cd y Pb se logran remociones de 56 y 36 % respectivamente lo que aportaría significativamente a la recuperación de calidad de sedimentos

para protección de la vida acuática. El Cd, Pb, Cu, Zn y Hg son los metales principales cuyas concentraciones en el sedimento minero del botadero exceden los valores guías de calidad de uso de suelo; en los experimentos se lograron remociones de 40 % para Pb, 60 % para Cd, 25 % para Cu, 42 % para Zn y 11% para Hg.

Conclusiones preliminares

Se logró optimizar parámetros de percolación, contenido de sustrato (melaza) que permitieron mejorar el proceso de la biolixiviación fúngica en los sedimentos bajo estudio.

Se identificó a nivel de género los hongos autóctonos que se aprovecharon para el proceso de lixiviación fúngica de metales y metaloides.

Se logró determinar la eficiencia de lixiviación fúngica autóctona (por el momento) en base al % de remoción de metales en sedimentos mineros y sedimento del río contaminado. Encontrándose que para el caso del sedimento minero se lixivía con altas eficiencias el cobre, cadmio y plomo, tres metales que sobrepasaban la norma de calidad de suelo internacional. Para el caso del sedimento del río, se lixivía en significativos % de remoción, el Cadmio, Zinc y Plomo.

La lixiviación fúngica se ha podido relacionar con la producción de ácidos orgánicos presentes en el lixiviado, identificándose ácido oxálico, propiónico y succínico como los principales, para ambos sedimentos tratados. A su vez, la actividad enzimática ha funcionado como indicador biológico de la eficiencia de remoción de contaminantes, ya que en ambos experimentos analizados la actividad enzimática lipasa ha aumentado conforme transcurre el proceso de lixiviación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Vivier, M., et al. (2012) *Optimisation of an HPLC method for the simultaneous quantification of major sugar and organic acid in grapevine berries*. Metieland: Steltembosch University.

CIRA/UNAN-Managua; MARENA; INIFOM. (2006). *Diagnóstico ambiental de la subcuenca alta de los ríos Siquia y Mico*. Managua: MARENA.

Espinoza Benavides, T. M., & Espinoza Benavides, L. S. (2005). *Tesis: Impacto de la minería en la calidad del agua en la microcuenca del Río Artiguas. Énfasis en metales pesados*. Managua: UCA.

Gadd, G. M. (1999). Fungal Production of Citric and Oxalic Acid: Importance in Metal Speciation, Physiology and Biogeochemical Processes. *Advances in Microbial Physiology*, 47-92.

Gadd, G. M. (2004). Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma*, 109-119.

Maksaev, V. (2009). Impacto ambiental de la actividad minera. Recuperado el 8 de Agosto de 2013, de Centro de computo de Universidad de Chile: <http://www.cec.uchile.cl/~vmaksaev/IMPACTO%20AMBIENTAL%20DE%20LA%20ACTIVIDAD%20MINERA.pdf>

Picado, F., Mendoza, A., Cuadra, S., Barmen, G., Jakobsson, K., & Bengtsson, G. (2010). Ecological, Groundwater, and Human Health Risk Assessment in a Mining Region of Nicaragua. *Risk Analysis*, 916-933.

André, L., Rosen, K., & Torstendahl, J. (1997). *Minor field study of mercury and lead pollution from gold refining in Central Nicaragua*. Lulea: Lulea University of Technology.

- Benavides, T. M., & Benavides, L. S. (2005). *Impacto de la minería en la calidad del agua en la microcuenca del Río Artiguas. Énfasis en metales pesados*. Managua: UCA.
- Caldwell, B. A. (2005). Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiología*, 637-644.
- Cerón Rincón, L. E., & Ramírez Valencia, E. (2011). Actividad microbiana en suelos y sedimentos en el sistema Córdoba Juan Amarillo, Bogotá D.C. *Rev. Acad. Colomb. Cienci*, 349-361.
- Díaz Ramírez, I. J., Priego-Rangel, S., Focil Monterrubio, R. L., & Escalante Espinosa, E. (2009). *Efecto de la concentración de hidrocarburos e inoculación de microorganismos degradadores sobre la actividad Lipasa y Deshidrogenasa durante la biodegradación en suelo*. Tabasco: UJAT.
- Fernández Linares, L. C., Rojas Avelizapa Š, N. G., Roldán Carrillo, T. G., Ramírez Islas, M. E., Zegarra Martínez, H. G., Uribe Hernández, R., . . . Arce Ortega, J. M. (2006). *Manual de técnicas de suelos aplicada a la remediación de sitios contaminados*. México, D.F: D.R.
- Giller, K. E., Witter, E., & McGrath, S. P. (1998). Toxicity of Heavy Metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 1389-1414.
- Gupta, R., Gupta, N., & Rathi, P. (2004). Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 763-781.
- Margesin, R., Feller, G., & Hämmerle, M. (2002). A colorimetric method for the determination of lipase activity in soil. *Biotechnology Letters*, 27-33.
- Martínez, M. M. (2009). Medición de la calidad de un suelo biorremediado a través de la actividad enzimática de : lipasa, deshidrogenasa y ureasa. Coatzacoalcos-Minatitlán: Universidad Veracruzana.
- Montejo Martínez, M., Torres López, C., Martínez Toledo, Á., & Tenorio López, J. A. (2011). 1. Técnicas para el análisis de Actividad Enzimática en suelos. En M. d. Cuevas Díaz, *Métodos Exotóxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos* (págs. 19-45). México: INE-SEMARNAT.
- Ochoa, V., Hinojosa, B., Gómez Muñoz, B., & García Ruiz, R. (2007). *Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos*. Andalucía: Revista de Universidad de Jaén.
- Sabra, N., Dubourguier, H.-C., & Hamieh, T. (2012). Fungal leaching of heavy metals from sediments dredged from the Deûle Canal, France. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 10-18.
- Schinner, F., & Klausner, T. (2005). 6 Feasibility Studies for Microbial Remediation of Metal-Contaminated Soil. En R. Margesin, & F. Schinner, *Manual for Soil Analysis-Monitoring and Assessing Soil Bioremediation* (págs. 155-159). Berlin: Springer.
- Seh-Bardan, B. J., Othman, R., & Husin, A. (2012). Bioleaching of heavy metals from mine tailings by *Aspergillus fumigatus*. *Bioremediation Journal*, 34-41.
- Sharma, R., Chisti, Y., & Chand Banerjee, U. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 627-662.
- Xu, X.-h., Liu, C.-y., Li, R.-y., & Wang, X.-r. (2013). Impacts of cadmium stress on soil microbial and enzyme activities under laboratory conditions. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 1730-1734.
- Zambrano Monroy, B. (2011). *Thesis: Lipasas como biomarcadores en la degradación de Alcanos y Aromáticos*. San Luis Potosí: UASLP.