



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS SOBRE LODOS
DE RELAVE CONTAMINADOS UTILIZANDO *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa*,
*Trichoderma harzianum***

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERAS EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTOR: María de los Ángeles Montalvo Maldonado
María Emilia Chapalbay Machuca
TUTOR: Laura Elizabeth Huachi Espín**

**Quito-Ecuador
2023**

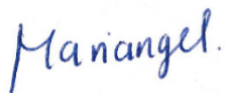
CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, María de los Ángeles Montalvo Maldonado con documento de identificación N° 1751403351 y María Emilia Chapalbay Machuca con documento de identificación N° 1718414590 manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 09 de agosto del año 2023

Atentamente,



María de los Ángeles Montalvo
Maldonado
1751403351



María Emilia Chapalbay Machuca
1718414590

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, María de los Ángeles Montalvo Maldonado con documento de identificación No. 1751403351 y María Emilia Chapalbay Machuca con documento de identificación No. 1718414590, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: “Evaluación de la Biorremediación de metales pesados sobre lodos de relave contaminados utilizando *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trichoderma harzianum*”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

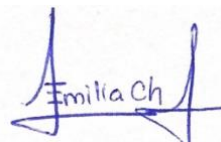
En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 09 de agosto del año 2023

Atentamente,



María de los Ángeles Montalvo
Maldonado
1751403351



María Emilia Chapalbay Machuca
1718414590

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Laura Elizabeth Huachi Espín con documento de identificación N° 1711113744, docente de la Universidad Politécnica Salesiana declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACIÓN DE LA BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS SOBRE LODOS DE RELAVE CONTAMINADOS UTILIZANDO *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trichoderma harzianum*, realizado por María de los Ángeles Montalvo Maldonado con documento de identificación N° 1751403351 y por María Emilia Chapalbay Machuca con documento de identificación N° 1718414590, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 09 de agosto del año 2023

Atentamente,



Ing. Laura Elizabeth Huachi Espín, MSc.

1711113744

Dedicatoria y agradecimiento

A mis padres Karina y Rusbel por darme la oportunidad de avanzar con mi vida profesional y su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

Emilia Chapalbay

A mi madre Sandra y mis abuelos Luz y Gustavo por la dedicación y apoyo incondicional brindado en el transcurso de mi vida para alcanzar cada uno de mis triunfos a lo largo del camino.

Maria Montalvo

Agradecemos a nuestra tutora de tesis Ing. Laura Huachi, por todo el apoyo y colaboración brindada durante el desarrollo y culminación de este proyecto.

Al grupo de investigación NUNKUI WAKAN por el financiamiento del proyecto.

A nuestras técnicas de laboratorio Ing. Erika Paredes y a Ing. Elizabeth Yugsi por impartir sus conocimientos, tiempo, paciencia y sobre todo su amistad incondicional.

A nuestros amigos por hacer este recorrido más fácil y llevadero con cada risa y apoyo en todo momento.

A nuestros profesores por implantar valores y conocimientos para llegar a ser grandes profesionales.

Resumen

En Ecuador, la minería ha provocado un aumento de contaminación ambiental dado al mal manejo de residuos resultantes de la extracción minera, los residuos denominados lodos de relave, están compuestos en su mayoría por metales pesados que contaminan el medio ambiente generando graves impactos ambientales debido a la toxicidad de los compuestos. El presente trabajo se lo realizó con el objetivo de evaluar la biorremediación de metales pesados en lodos de relave minero utilizando *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Trichoderma harzianum*.

En el ensayo se evaluó la capacidad de biorremediación, de los tratamientos T1 (lodo + metales + *Trichoderma harzianum*); T2 (lodo + metales + *Aspergillus niger*); T3 (lodo + metales + *Pseudomonas aeruginosa*); T4 (lodo + metales + *Trichoderma harzianum* + *Aspergillus niger* + *Pseudomonas aeruginosa*) y frente al testigo T0 (lodo + metales), aplicados sobre los lodos de relave tres veces a la semana y distribuidos en un diseño experimental DBCA.

El análisis estadístico se realizó un modelo generalizado mixto con familia gamma y Tukey al 5% y se obtuvieron variables sin significancia entre temperatura y humedad, para las variables de pH y conductividad eléctrica con significancia, por lo que el uso de los microorganismos es una alternativa de mejora.

El uso de *T. harzianum* mostró una mejora de remoción en Aluminio ya que el resultado inicial fue de 1641 mg/kg y el final de 1249 mg/kg, por lo que el uso de este microorganismo es efectivo. *A. niger* obtuvo buenos resultados en remoción de Zinc presentando valores iniciales de 4888 mg/kg y final de 3319 mg/kg, *P. aeruginosa* obtuvo buenos resultados en remoción de Cobre presentando valores iniciales de 3542 mg/kg y final de 1059 mg/kg. La biomasa de los microorganismos estudiados presentó valores favorables sobre todos los metales.

La biorremediación de lodos de relave es una alternativa rentable ya que es económica y amigable para el medio ambiente, ayudando en la remoción de residuos peligrosos en grandes concentraciones resolviendo los problemas de impacto ambiental.

Palabra claves: Remoción, relave, lodos, microorganismos, hongos, bacterias.

Abstract

In Ecuador, mining has caused an increase in environmental pollution due to the mismanagement of waste resulting from mining extraction, the waste called tailings sludge, is composed mostly of heavy metals that pollute the environment, generating serious environmental impacts due to the toxicity of the compounds. The present work was carried out with the objective of evaluating the bioremediation of heavy metals in mine tailings sludge using *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Trichoderma harzianum*.

The bioremediation capacity of the T1 treatments (mud + metals + *Trichoderma harzianum*) was evaluated in the trial; T2 (sludge + metals + *Aspergillus niger*); T3 (sludge + metals + *Pseudomonas aeruginosa*); T4 (sludge + metals + *Trichoderma harzianum* + *Aspergillus niger* + *Pseudomonas aeruginosa*) and against the control T0 (sludge + metals), applied to the tailing's sludge three times a week and distributed in a DBCA experimental design.

The statistical analysis was carried out using a generalized mixed model with the gamma and Tukey family at 5% and variables without significance were obtained between temperature and humidity, for the variables of pH and electrical conductivity with significance, so the use of microorganisms is an improvement alternative.

The use of *T. harzianum* showed an improvement in Aluminum removal since the initial result was 1641 mg/kg and the final result was 1249 mg/kg, so the use of this microorganism is effective. *A. niger* obtained good results in Zinc removal presenting initial values of 4888 mg/kg and final values of 3319 mg/kg, *P. aeruginosa* obtained good results in copper removal presenting initial values of 3542 mg/kg and final values of 1059 mg/kg. The biomass of the microorganisms studied presented favorable values over all metals.

Tailing's sludge bioremediation is a profitable alternative since it is economical and friendly to the environment, helping to remove hazardous waste in large concentrations, solving environmental impact problems.

Keywords: Removal, tailings, sludge, microorganisms, fungus, bacteria.

Índice de contenidos

1.	Introducción.....	1
2.	Fundamentación teórica.....	4
2.1.	Antecedentes de la minería en el Ecuador.....	4
2.1.1.	Tipos de minería en Ecuador	5
2.1.2.	Procesos mineros.....	6
2.2.	Lodos de relave	7
2.2.1.	Composición de lodos	8
2.2.2.	Metales	8
2.2.3.	Relaveras	9
2.3.	Impacto Ambiental de lodos de relave contaminados con metales pesados	10
2.4.	Técnicas para reducir impacto ambiental	10
2.5.	Biorremediación para metales en lodos de relave	13
2.5.1.	Estrategias de biorremediación	13
2.6.	Microorganismos.....	15
2.6.1.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
2.6.2.	<i>Trichoderma harzianum</i>	17
2.6.3.	<i>Aspergillus niger</i>	19
2.7.	Legislación ambiental.....	21
2.7.1.	Constitución del Ecuador	21
2.7.2.	Ley de Minería	21
2.7.3.	Reglamento Ambiental de Actividades Minera (RAAN)	22
2.7.4.	Texto Unificado de legislación secundaria del ministerio de ambiente (TULSMA)	22
2.7.5.	Norma de calidad ambiental de recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados	23
3.	Materiales y métodos.....	25

3.1.	Fase de campo	25
3.1.1.	Georreferenciación	25
3.1.2.	Muestreo.....	25
3.2.	Fase de Laboratorio	25
3.2.1.	Análisis físico - químico de los lodos	25
3.2.2.	Elaboración de medios de cultivo	25
3.2.3.	Diluciones seriadas	26
3.2.4.	Siembra de microorganismos.....	26
3.2.5.	Purificación de hongos y bacterias.....	26
3.2.6.	Identificación macroscópica de microorganismos	27
3.2.7.	Identificación microscópica de microorganismos.....	27
3.2.8.	Conservación de microorganismos	28
3.2.9.	Preparación de la solución para conteo de esporas	28
3.2.10.	Conteo de esporas	28
3.2.11.	Preparación de inóculos	30
3.2.12.	Inoculación del tratamiento.....	30
3.2.13.	Diseño experimental	30
3.2.14.	Tratamientos.....	31
3.2.15.	Variables del ensayo	32
4.	Resultados esperados y discusión	33
4.1.	Identificación de <i>Trichoderma harzianum</i>	33
4.1.1.	Características macroscópicas.....	33
4.1.2.	Características microscópicas	33
4.2.	Identificación de <i>Aspergillus niger</i>	34
4.2.1.	Características macroscópicas.....	34
4.2.2.	Características microscópicas	35
4.3.	Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35

4.3.1. Características macroscópicas.....	35
4.3.2. Características microscópicas	36
4.4. Cinética de crecimiento en masificación de hongos: <i>A niger</i> y <i>T. harzianum</i>	36
4.5. Cinética de crecimiento en masificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
4.6. Análisis estadístico de las variables del ensayo	38
4.6.1. Temperatura	38
4.6.2. Humedad	39
4.6.3. Conductividad eléctrica.....	40
4.6.4. pH.....	41
4.7. Remoción de metales pesados	43
5 Conclusiones y recomendaciones	46
5.1 Conclusiones.....	46
5.2 Recomendaciones	47
6 Bibliografía.....	48
7 Anexos	59

Índice de figuras

Figura 1. Características macroscópicas y microscópicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
Figura 2. Características macroscópicas y microscópicas de <i>Trichoderma harzianum</i>	18
Figura 3. Características macroscópicas y microscópicas de <i>Aspergillus niger</i>	20
Figura 4. Conteo de esporas en los cuadrantes 1,2,3,4,5 para conteo de esporas	29
Figura 5. Diseño de bloques completamente al azar DBCA de cuatro repeticiones	31
Figura 6. Características microscópicas de <i>Trichoderma harzianum</i>	33
Figura 7. Características microscópicas de <i>Aspergillus niger</i>	35
Figura 8. Características microscópicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Figura 9. Curva de crecimiento radial de <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Aspergillus niger</i>	36
Figura 10. Curva de crecimiento lineal de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en reproducción masiva.....	37

Índice de tablas

Tabla 1. Métodos de biorremediación.....	12
Tabla 2. Tratamientos aplicados a las unidades de experimentación para hongos y bacterias.	31
Tabla 3. Características macroscópicas de <i>Trichoderma harzianum</i>	33
Tabla 4. Características macroscópicas de <i>Aspergillus niger</i>	34
Tabla 5. Características macroscópicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
Tabla 6. Promedio de temperatura de los tratamientos	38
Tabla 7. Promedios de humedad de los tratamientos	39
Tabla 8. Promedios de conductividad eléctrica de los tratamientos	40
Tabla 9. Promedios de pH de los tratamientos.....	41
Tabla 10. Análisis de remoción de metales pesados en lodos de relave	43

Índice de fórmulas

Fórmula 1. Número de esporas por mL	29
Fórmula 2. Número de esporas totales.....	29

Índice de anexos

Anexo 1. Enfermedades y daños ambientales ocasionados por metales pesados provenientes de la minería	59
Anexo 2. Metabolismo de <i>P. aeruginosa</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>A. niger</i>	60
Anexo 3. Criterios Calidad de Suelo. Norma de calidad Ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados del libro VI Anexo 2.	62
Anexo 4. Fases durante el estudio.....	63
Anexo 5. Morfología de posibles microorganismos en las muestras de lodos de relave.....	65
Anexo 6. Conteo de esporas.....	66
Anexo 7. Resultados de concentración de metales pesados al inicio y final	67
Anexo 8. Datos de variables pH, Conductividad (mS/cm), Humedad (%) y Temperatura (°C)	76
Anexo 9. Gráficas de Análisis estadístico.....	77

1. Introducción

La actividad minera del Ecuador ha crecido aceleradamente en los últimos cuatro años donde se registró el 72% de la superficie minera expandida, provocando el aumento de la contaminación por metales pesados, afectando principalmente a la flora y la fauna (Araujo et al., 2022). Generalmente las minas están ubicadas en sectores aledaños a ríos o zonas rurales, donde se realizan los procesos de extracción y lixiviación que generan piscinas de desechos en gran magnitud, los residuos forman relaves que son eliminados en suelos generando un grave impacto ambiental por la cantidad de componentes tóxicos que contienen (Garzón et al., 2017) La contaminación ambiental que genera la actividad minera es un problema a nivel global, que afecta a los ecosistemas siendo el resultado de las sociedades modernas que generan el agotamiento de los recursos naturales no renovables y no existe un concepto de una minería sostenible (Rivera et al., 2021).

Los residuos son denominados lodos de relave, que son subproductos no valiosos resultantes de los procesos de extracción minera que contienen: microorganismos, materia orgánica y micronutrientes, pero en su mayor composición son los metales pesados (Díaz & Quintero, 2020).

Los metales pesados son compuestos inorgánicos que se encuentran de forma natural en la zona parental del suelo que afectan a la biodiversidad potencialmente tóxicos en concentraciones bajas, el mal manejo y la irresponsabilidad dada por los humanos ha ocasionado efectos bioquímicos que deterioran al ambiente provocando cambios como: la reducción de cultivos por infertilidad de suelos y la ingesta de estos contaminantes generan enfermedades serias en los humanos (Curutchet, 2021).

El origen de los metales pesados puede ser de varias fuentes, entre las principales están los desechos industriales, minería, pesticidas y fertilizantes, gracias a las características inoloras e incoloras es difícil lograr identificar su presencia en suelos y aguas (Vispo, 2017). Una concentración de metales pesados altamente tóxicos como el Arsénico (As), Aluminio (Al), Cobre (Cu), entre otros, pueden generar riesgo a la salud provocando enfermedades como cáncer al pulmón o riñón, afecciones al sistema nervioso y óseo (Serpa, 2017) (Ver Anexo 1).

En Ecuador constantemente se están desarrollando actividades basadas en el desarrollo sustentable y responsabilidad integral para este sector (Carrasco & León, 2018). Para mantener una minería sustentable se está desarrollando metodologías de biorremediación que reduzcan el impacto ambiental. Hoy en día las nuevas tecnologías han desarrollado alternativas en base a la remediación biológica tomando características de plantas y microorganismos que actúan a favor de la degradación de contaminantes de suelos y aguas, dejando de lado los tratamientos tradicionales por sus altos costos y baja eficiencia por lo que se recurren a tratamientos biológicos (Aguirre et al., 2021; Hernandez, 2021).

La biorremediación hace referencia a un conjunto de metodologías basadas en el conocimiento, técnico y científico desarrollado por la biotecnología para la limpieza y descontaminación de suelos o fuentes acuáticas en las que la presencia de desechos provenientes de diferentes actividades antropogénicas, genera efectos negativos sobre las condiciones naturales de un ecosistema, y mediante la acción dirigida, principalmente microorganismos es posible recuperar las características del ambiente, se logra mediante la degradación del contaminante en una forma menos tóxica, siendo un proceso rentable por su bajo costo, eficacia y amigable con el ambiente (Chiriví et al., 2019).

Los géneros de hongos como *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. actúan como agentes biológicos que purifican al suelo de tóxicos contaminantes debido a la presencia natural propia del suelo. El metabolismo interno de cada hongo es capaz de captar metales, estudios mencionan que géneros fúngicos pueden degradar entre 85% y 90% de metales pesados como Mercurio (Hg), Cadmio (Cd), Azufre (S), Aluminio (Al) y el Cromo (Cr) (Cañizares, 2015; Hernandez, 2021; Juárez, 2020). Por otro lado, *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria destacada por su capacidad catabólica y de fácil adaptación, es un excelente agente contra metales pesados. Diversos estudios han demostrado que degrada hasta el 93% de metales pesados como Plomo (Pb), Zinc (Zn), Arsénico (As) y Cadmio (Cd) (Chellaiah, 2018; Luján, 2019). El objetivo de este proyecto es evaluar la biorremediación de metales pesados en lodos de relave minero utilizando *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Trichoderma harzianum*. Basándose en la Hipótesis Nula (Ho) “La biorremediación con *Aspergillus*

niger, *Pseudomonas aeruginosa* y *Trichoderma harzianum* no son eficientes para lodos de relaves mineros” y la Hipótesis Alternativa (Ha) “La biorremediación con *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Trichoderma harzianum* son eficientes para lodos de relaves mineros”

Mediante este estudio se pretende valorar las herramientas de Temperatura, humedad, conductividad eléctrica y pH para conocer las condiciones del suelo y aplicar una solución viable con la ayuda de bibliografía, así mismo, generar información sobre lodos de relave y alternativas de almacenamiento y tratamiento de residuos mineros mediante técnicas biotecnológicas como la biorremediación.

2. Fundamentación teórica

2.1. Antecedentes de la minería en el Ecuador

El contexto histórico sobre la minería del Ecuador abarca los antecedentes de las culturas, Valdivia, que entre los años 3500 a 1800 A.C. realizaban excavaciones para extraer arcilla y barro, utilizado para la elaboración de piezas de cerámica de uso convencional. Las culturas como la Machalilla y Chorrera mejoraron las técnicas de extracción de materiales, dando inicio a la extracción de oro (Au) y plata (Ag), y la primera cultura en usar platino (Pt) en sus obras fue la cultura Tolita. Estos eventos han dejado desde la época de conquista un escenario que refleja una herencia enfocada en la minería básica que pasa a dominio de la Real Corona de España, cambiando la cultura y cosmovisión de los indígenas, explotando los metales por métodos de separación o fundición, siendo técnicas perjudiciales para el medio ambiente como para los trabajadores. Llegando a su fin en la época de la independencia, donde se pasa el dominio de las mineras hacia el Estado; Los niveles de producción diarios que puede generar una mina, está establecido por la Ley de Minería citada en su texto de "Norma de Calidad Ambiental del Recurso suelo y Criterios de Remediación para Suelos Contaminados del libro VI Anexo 2", que las clasifica en cuatro fases: artesanal, pequeña, mediana y a gran escala, siendo la minería artesanal la que cuenta con un mayor número de explotaciones (Burbano, 2021).

En el punto central referente en la sierra ecuatoriana, existen minas tanto legales como ilegales de las cuales aproximadamente el 35 % no son reguladas por el Ministerio del Ambiente del país (Ministerio del Ambiente, 2016a), esto implica que la mayoría de estas acumulan y no tratan los residuos de relave por falta de espacio, conocimientos técnicos y tecnologías (Cuenca et al., 2021). El mal manejo de los residuos inorgánicos provoca daños tanto en la salud de quienes trabajan en las minas, la población circundante a la zona de influencia, debido a la producción de grandes cantidades de residuos inorgánicos como relaves complicando su acción de remediación e incrementando la bioacumulación (Duany et al., 2022).

La explotación minera se encuentra principalmente en el sur del país, afectando a territorios rurales de la zona de los Andes; según el informe presentado por Ministerio del Ambiente (2016), se observa que en el Ecuador existen 7245 concesiones mineras reguladas por la ARCERNNR (Agencia de Regulación y Control de Energía y Recursos Naturales no Renovables), de las cuales 3380 minas se dedican a la metalúrgica, 1000 a cielo abierto donde 672 están ubicadas en la provincias de El Oro y Azuay, donde el auge de la minería es un gran punto de vulnerabilidad para los campesinos, dada la introducción de inversiones extranjeras privadas y la explotación de recursos del suelo (Beltrán & Gómez, 2015).

La provincia de El Oro es afectada por la contaminación ambiental que ocasiona la minería ilegal, reduciendo la posibilidad de conservar los recursos naturales y disminuir los residuos; Zaruma y Portovelo son las provincias más afectadas ya que de manera tradicional extraen el oro basado en tratamientos a base de cianuro y mercurio, causando una contaminación principalmente en el agua cuyo uso es destinado a la población; la industria minera genera residuos como: rocas sobrecarga, ganga, plásticos, productos químicos, lodos, drenajes ácidos de minas (AMD), drenaje ácido de roca (ARD) (Burbano, 2021)

2.1.1. Tipos de minería en Ecuador

A. Artesanal: Realiza actividades mineras efectuada por trabajo individual, comunitario o familiar, el número de obreros que labora en este tipo de minas dependerá del tamaño de las vetas, entre 15 a 30 personas. Utilizan herramientas y máquinas de simple uso, generalmente hechas a mano debido a que la técnica de extracción es muy tradicional (falta capacitación, falta de educación, tecnología básica, etc.) y es conocida como ilegal usando sustancias como el cianuro (CN-) y mercurio (Hg) que son adquiridas de manera clandestina ocasionando contaminación al ambiente y no se miden los daños. En el Ecuador existen 3377 concesiones (ARCERNNR, 2023; Vásconez & Torres, 2021).

B. Pequeña: Por lo general esta mina no excede las 10 personas, pertenecientes a una sola comunidad entre familiares o amigos, se enfocan en lechos de los ríos (aluvial). Utilizan herramientas como

excavadoras, bombas de succión y elementos de transporte. De la minería artesanal se deriva la pequeña minería por lo que comparten características básicas en cuanto al tratamiento de desechos y a los escasos recursos tecnológicos que abarcan las comunidades que explotan los metales. En el Ecuador existen 1977 concesiones (ARCERNNR, 2023; Vásconez & Torres, 2021).

C. Mediana: Al ser una producción más amplia se requiere de hasta de tres turnos en una jornada, se necesita personal extra y el número de obreros depende de la producción necesaria, no excede de 300 personas, incluyendo a; un operador de explosivos, al igual que grúas y carros transportadores, exige una implementación de una mayor tecnología y para el transporte del material se utilizan maquinarias pesadas como volquetas y cargadoras de cuchara. En el Ecuador existen 152 concesiones (ARCERNNR, 2023; Banco central, 2023; Vásconez & Torres, 2021).

D. Gran escala: Este tipo de mineras son pioneras y aún desconocidas en el país, hace referencia a la extracción de metales del subsuelo, por lo que necesita altas tecnologías y requiere una alta inversión de capital, son operadas por corporaciones transnacionales que cuenta con inversión extranjera (Teijlingen, 2019). El personal de estas minas sobrepasa los 500 trabajadores dado a que los proyectos mineros generalmente son grandes y usan extensas superficies siendo proyectos a cielo abierto. La maquinaria que utiliza está establecida en la ley, siendo estas similares a las de la minería mediana. En el Ecuador existen 367 concesiones, 1087 de libre aprovechamiento (ARCERNNR, 2023; Banco central, 2023; Vázquez et al., 2017).

2.1.2. Procesos mineros

A. Prospección: se inicia el reconocimiento general del área donde se ubican irregularidades geológicas minerales (Paganini, 2022).

B. Exploración: se limita a un área más restringida, se delinea las dimensiones y la riqueza mineral del depósito. Se utilizan técnicas como: Muestreos de zanjas, caminos, túneles y sondajes diamantinos (Paganini, 2022).

C. Beneficio: estudio de los minerales extraídos para conocimiento de utilidad y leyes por aplicar (Auquilla et al., 2021).

D. Fundición: separación de metales de concentrados producidos y minerales correspondientes del beneficio. Se utilizan técnicas como: exposición a altas temperaturas (Auquilla et al., 2021).

E. Refinación: se convierten los productos obtenidos en metales completamente puros (Auquilla et al., 2021).

F. Comercialización: negociación para la compraventa de productos mineros resultantes (Auquilla et al., 2021).

G. Cierre: se ejecutan actividades de restauración en áreas afectadas. Se utilizan técnicas como: Tratamientos físico-químicos y Tratamientos Biológicos (Auquilla et al., 2021).

2.2. Lodos de relave

Según Garzón y colaboradores (2017), todos los tipos de minerías cuentan con un depósito de residuos, por lo que, una vez extraídos los metales preciosos, los residuos pasan por un proceso de molienda y se producen partículas muy finas que, al ser mezcladas con agua, generan un líquido lodoso a los que se denominan lodos de relaves mineros.

Los lodos de relave son subproductos residuales no valiosos resultantes de diferentes sólidos disueltos en agua provenientes de procesos de extracción como la lixiviación, que se utiliza principalmente para extracción de oro, cobre, plata, azufre que se desechan en forma de lodos considerándose como el último residuo no tratable de una minera (Diaz & Quintero, 2020). Estudios demuestran que, en una extracción de cobre, solo el 2% del material extraído es utilizado, mientras el 98% es descartado como residuo sin valor; relaves (Teijlingen,2019).

La minería a gran escala deposita los lodos en pozas especiales utilizando áreas cuyas superficies son de gran tamaño y la capacidad volumétrica va acorde a la producción de la explotación minera, mientras la minería mediana dispone lugares en la superficie dentro de la misma mina, y la minería informal o pequeña descarta sus residuos en el río sin tratamiento previo, siendo un delito de contaminación de aguas, a pesar de que puede tener concesiones y permisos ambientales. En la mayoría de estos casos los lodos que son generados a partir de la minería se han entregado sin ningún

tipo de tratamiento previo llegando a presas o terrenos e incluso disponiéndose en lagunas y rellenos sanitarios (Amador et al., 2015; Domínguez, 2013).

2.2.1. Composición de lodos

Consiste en roca molida y agua predomina con un 50% el tamaño del limo (0.002- 0.062 mm) seguido de la arcilla (0.002mm) con un 20% del tamaño y finalmente con menos del 20% la arena (0.062 mm), y contienen entre 45% y 50% de agua (Ortega, 2020).

La composición de los residuos varía dependiendo del tipo de minería que se explore, por lo general en los procesos metalúrgicos de extracción de oro se encuentran los denominados minerales de ganga como: cuarzo, feldespatos, biotita, clorita y yeso, también los minerales de mena que generalmente son: pirita, bornita y molibdenita (Ramírez, 2017).

Los minerales de ganga son también denominados como “minerales primarios” siendo aquellos que se forman antes de ser depositados en relaves, pueden ser hipógenos y supérgenos y los minerales de mena son los “minerales secundarios” siendo estos los que se forman dentro de los relaves (Jambor, 1994). Además, contienen químicos que son aplicados en el proceso como cianuro, arsénico, plomo, cadmio, zinc y mercurio, y existe la posibilidad de que estos elementos generen reacciones químicas cuando entran en contacto con el agua y oxígeno, generando ácidos más tóxicos (Teijlingen, 2019).

A parte de estar conformado por microorganismos, micronutrientes, materia orgánica y alto contenido de metales y metaloides que superan los límites permisibles de diferentes normas a nivel mundial (Díaz & Quintero, 2020).

2.2.2. Metales

Un metal pesado es un elemento químico metálico con alta densidad específica mayor a 5 g cm³ y son considerados elementos potencialmente tóxicos en concentraciones bajas. Los metales pesados más comunes encontrados en lodos de relave son el Plomo (Pb), Zinc (Zn), Arsénico (As), Mercurio (Hg), Cadmio (Cd), Aluminio (Al), Cromo (Cr) y no metales como el Azufre (S) (Serpa, 2017).

Generalmente los metales pesados se los encuentra como componentes naturales terrestres en forma de minerales u otros compuestos, actualmente la fundición de metales, la galvanoplastia, producción

de energía y combustibles y en general la actividad humana ha dado como resultado que se presenten en suelos y corrientes acuáticas siendo ya propios del medio (Beltrán & Gómez, 2016).

Según Covarrubias & Peña (2017), los metales pesados se han convertido en compuestos imprescindibles para el posterior desarrollo de plantas, animales y microorganismos; las concentraciones de estos compuestos van a determinar el rol de importancia para ejercer reacciones bioquímicas que ayudan con el crecimiento de los mismos, sin embargo estos en altas concentraciones pueden influir biológicamente y formar compuestos inestables convirtiéndolos en agregados letales y tóxicos (Beltrán & Gómez, 2016).

Según Pinzón (2019), los metales se han convertido en las únicas sustancias que no pueden ser eliminados completo, sino que éstas son modificadas o transformadas de un estado de oxidación a otro menos complejo. La acumulación de metales pesados persiste en sedimentos como lodos y suelos, esta presencia en altas cantidades y en diversas formas llegan a ser tóxicas y dañinas en la salud de los organismos vivos, principalmente en la contaminación de alimentos que se acumulan en tejidos y órganos de animales y plantas (Patel, 2015).

2.2.3. Relaveras

Los depósitos de relaves son aquellos que mantienen separados a los residuos mineros del ambiente mediante presas o diques, son importantes ya que puede almacenar a los relaves en forma de pulpa, siendo seguro y evitando la emisión de olores, llegando a la conclusión de que cada deposito debe ser único, clasificados y evaluados continuamente, cosa que no realizan las minas del país (Espinoza, 2022).

Existen tres tipos de diseños de relaveras; “aguas abajo”, “eje central” y “aguas arriba”. El diseño del depósito varía entre proyectos y las características del material almacenado, en Ecuador depósitos que se utiliza frecuentemente es el denominado Upstream (aguas arriba) ya que es un método que requiere construcción, este método almacena el relave con dirección aguas arriba y usa los mismos depósitos como base (*Safety of Tailings Dams*, 2019).

2.3. Impacto Ambiental de lodos de relave contaminados con metales pesados

El uso de grandes zonas naturales para la realización de proyectos mineros ataca directamente a la cobertura vegetal interrumpiendo sus ciclos naturales lo que genera un desequilibrio y causa la destrucción y disminución de la biodiversidad provocando la extinción de fauna endémica de la zona, también alteran las fuentes hídricas con descargas de contaminantes que también altera a la fauna y flora acuática (Teijlingen,2019).

Uno de los impactos menos conocidos es la calidad del aire y el ruido que ocasionan las minas con el uso de maquinarias pesadas que rompen las rocas para su extracción generando grandes nubes de polvo y liberación de gases tóxicos. Todos los impactos son generados por la minería a gran escala y está relacionado con los diques de depósitos de relaves (Chambers & Higmans, 2015).

El uso de estos depósitos “aguas arriba” a pesar de ser el método más utilizado no es muy seguro dado a que no cuenta con una estabilidad segura por su inclinación periférica, la que debe ser controlada, lo que provoca la infiltración de agua y tiene mala respuestas ante la actividad sísmica (*Safety of Tailings Dams*, 2019).

Uno de los principales riesgos de los diques que contienen relaves es el colapso de estos, que resultaría en el derrame de millones de metros cúbicos de relaves contaminados en el ambiente, generando un grave impacto en los ecosistemas llegando a ser catastróficos hasta el punto de ahogar personas en el lodo y contaminando ríos siendo inadecuados para su uso y generando enfermedades (Teijlingen,2019). Este impacto del colapso sucedió en el 2019 en Chile y fue denominado como “Desastre de Brumadinho” siendo uno de los mayores desastres mineros del país con 235 personas fallecidas (Emerman, 2018).

2.4. Técnicas para reducir impacto ambiental

A. Tratamientos fisicoquímicos: Para la determinación de las demandas química y bioquímica de oxígeno, se utilizan técnicas espectrofotométricas, mientras que para los sólidos se utiliza el método gravimétrico o el volumétrico. Los metales pesados se analizan mediante absorción atómica (Amador et al., 2015). En ciertos países como Perú, se comprueba el uso de Geo tubo, un

textil flexible compuesto por filamentos de polipropileno, que degrada de manera biológica los metales presentes en lodos de relaves, que cumplen la normativa propuesta para la manipulación de los tóxicos (Rodriguez & Vizcardo, 2019).

En Colombia se utilizan métodos físicos como la absorción de metales por fijación y métodos químicos como la extracción de metales con quelantes como el EDTA (ácido etilendiamina-tetraacético) aumentando la movilidad en la fase líquida de los lodos de relave, además se han empleado nuevas tecnologías como el espesamiento de los relaves, separando los materiales sólidos y los semisólidos de los acuosos, es decir una técnica que usa la gravedad para provocar una mezcla bifásica, donde las partículas sólidas se asientan creando una pulpa espesa en la parte inferior y la fase líquida en la parte superior, esta técnica permite eliminar el agua por lo que se reduce el volumen del residuo (Beltrán & Gómez, 2016); Según Cañizares (2015) en Perú, el tratamiento de remediación con dolomita es un método de purificación y precipitación de los efluentes, que lo usan para reducir la concentración de metales pesados.

- **Intercambio iónico y catiónico:** Su capacidad catiónica (CIC) se ve afectada en la biodisponibilidad del metal y dependerá de la materia orgánica y tipo de suelo, cuando se tiene un alto contenido de (CIC) el suelo contiene baja toxicidad mientras que un suelo con baja (CIC) la toxicidad aumenta, mientras que la biodisponibilidad de un metal con pH ácido aumenta gracias a los iones libres pero esta biodisponibilidad se ve afectada cuando existe una formación de minerales de fosfato insoluble (Beltrán & Gómez, 2015).
- **Filtración por membrana:** Es el proceso alternativo utilizado para el tratamiento de aguas residuales, la membrana se convierte en una barrera que bloquea el paso de componentes contaminantes como iones, compuestos orgánicos e inorgánicos. La industria química quiebra azeótropos usados para solventes orgánicos, el área médica la usa para la dosificación de medicamentos, además de la industria biotecnológica ambiental en el tratamiento de aguas municipales (Ribeiro et al., 2007).

B. Tratamientos biológicos

- **Biodegradación:** utiliza bacterias que metabolizan contaminantes del suelo convirtiéndolos en productos con presencia de nutrientes, es una técnica que no genera daños y cuenta con bajos costos (Gambini, 2018).
- **Digestión anaerobia:** consta de una fase que forma ácidos volátiles y otra fase en la que bacterias anaerobias generan gas metano partiendo del ácido generado previamente.
- **Digestión aerobia:** utiliza aireación para el desarrollo de microorganismos generando que estos realicen auto-oxidación, reduciendo material celular (Oropeza, 2006).
- **Biotransformación:** relación que existe entre el microorganismo y el metal presente, evaluando la variación microbiana, debido a la alta resistencia sobre la toxicidad metálica (Gambini, 2018).
- **Biorremediación:** es un proceso o grupo de tratamientos para eliminar los contaminantes del medio ambiente, restaurando así el entorno natural original y evitando una mayor contaminación, se aplica a cualquier sistema o proceso en el que se empleen métodos biológicos para transformar contaminantes en el suelo, aguas o lodos (Chiriví et al., 2019). Ver Tabla 1.

Tabla 1. Métodos de biorremediación

Método	Descripción	Procesos
<i>In situ</i>	Proceso natural intrínseco que consiste en aplicar nutrientes y oxígeno para estimular a los diferentes organismos presentes en el medio contaminado para degradar la materia inorgánica.	La atenuación natural (proceso intrínseco, actúa sin intervención humana), el bioventeo (suministra aire y nutrientes a un área contaminada mediante tuberías), la bioestimulación (aumenta la actividad de las bacterias endógenas de suelos contaminados proveyéndoles de nutrientes, oxígeno, etc.) y la bioaumentación (se añaden microorganismos al ambiente contaminado).
<i>Ex situ</i>	Se centra en extraer y trasladar suelos o aguas de su lugar de origen para su posterior descontaminación.	El landfarming (remueve el suelo contaminado y vierte en una cama preparada), el compost (degradar residuos orgánicos por medio del metabolismo microbiano anaerobio), biopilas (mezclan suelos contaminados con suelos tratados para luego airearlos) y el uso de la tecnología de biorreactores (trata materiales sólidos o aguas contaminadas).

Fuente: (Cota et al., 2018; Hernandez, 2021)

2.5. Biorremediación para metales en lodos de relave

Es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de diferentes organismos vivos como plantas y microorganismos, ya sean hongos, bacterias o levaduras, para lograr eliminar, mineralizar, degradar, transformar y desintoxicar los contaminantes presentes en el ambiente como metales pesados llevándolos a formas más inocuas y menos tóxicas, contrarrestando las múltiples afecciones ambientales (Chiriví et al., 2019).

2.5.1. Estrategias de biorremediación

2.5.1.1. Fitorremediación

Es una técnica ampliamente utilizada por sus propósitos duales con el ecosistema, rentabilidad e innovadora utilización de especies vegetales para lograr extraer, degradar, contener e inmovilizar a los contaminantes, esta técnica principalmente busca capturar los agentes mediante una remediación natural *in situ*, se aplica para tratar suelos, aguas y lodos (Chiriví et al., 2019). Los mecanismos utilizados son: Fitoextracción (raíces absorben contaminantes y los acumula en tallos y hojas), Fitoestabilización (reduce movilidad de los contaminantes y no permite la migración hacia el agua subterránea) y Fitovolatilización (las raíces absorben los contaminantes, se transportan por la xilema y los libera a la atmosfera en formas menos tóxicas) (López & Morales, 2022).

Las interacciones entre plantas y compuestos inorgánicos constituyen una gran ventaja con respecto a otros métodos, las plantas biotransformadoras con resultados de entre 85% y 95% de efectividad son: *Muhlenbergia Angustata* y *Alopecurus Magellanicus* var. *Bracteatus* absorben contaminantes como Plomo (Pb) y Arsénico (As); *Eichhornia crassipes* Mart., *Lemna minor* L., *Azolla pinnata* y *Thalia geniculata* para Cadmio (Cd), Cromo (Cr) y Mercurio (Hg) (Beltrán & Gómez, 2016; D. Torres et al., 2010; Y. Torres et al., 2021).

2.5.1.2. Ficorremediación

Consiste en aprovechar la cinética de consumo de nutrientes presente en microalgas para la degradación de contaminantes como los metales pesados presentes en medios acuosos o gaseosos (Jácome et al., 2021). El uso de fotobiorreactores es importante en el proceso de tratamiento con estos

microorganismos para poder condicionar parámetros como la temperatura y la unidad de cosechado del sistema para lograr una sinergia entre la población inmersas y su posterior crecimiento de biomasa (Cuenca et al., 2021; Domiguez et al., 2020).

Los géneros más reconocidos en el tratamiento de medios residuales contaminados de compuestos inorgánicos con resultados de remoción de hasta el 95% son: *Scenedesmu* sp. y *Tetraselmis* sp. para Cromo (Cr), Aluminio (Al) y Zinc (Zn), *Chlorella* sp. y *Espirulina* sp. para Arsénico (As), Plomo (Pb) y Cromo (Cr). y *Microspora* para amonio (NH_4^+) y Cromo total (Cr), (Cuenca et al., 2021; Domiguez et al., 2020; Hernandez, 2021; Jácome et al., 2021).

2.5.1.3. Biorremediación microbiana

Consiste en emplear microorganismos para la descontaminación de diferentes ambientes logrando la transformación de los contaminantes en sus formas menos tóxicas y son muy efectivas en fuentes hídricas (Chiriví et al., 2019). Según Cañizares (2015), los microorganismos se caracterizan por su uso como biosorbentes de metales pesados, siendo una de las mejores alternativas para la recuperación de suelos (lodos de relave) y fuentes hídricas. Algunos microorganismos producen su propio alimento utilizando los metales pesados como fuente de carbono (Curutchet, 2021). La biosorción es independiente del metabolismo y es uno de los procesos más importantes en esta técnica. La estructura celular de un microorganismo logra atrapar iones presentes en los metales pesados para luego absorberlos en la unión de la pared celular; el equilibrio cinético y la composición del metal en la célula dará cuenta de la cantidad de metal sorbido en el microorganismo (Chiriví et al., 2019).

A continuación, se mencionan los principales microorganismos involucrados en la biorremediación de metales pesados con resultados entre 90 y 95% de efectividad. Hongos; *Trichoderma viridae* y *Fusarium oxysporum* para Cadmio (Cd) y Zinc (Zn); Bacterias: *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus* sp. para Cadmio (Cd), Cromo (Cr), Zinc (Zn), Plomo (Pb), Arsénico (As) y Mercurio (Hg), Levaduras: *Cryptococcus* sp. para Níquel (Ni) y Zinc (Zn) (C. Cervantes et al., 2006; Chellaiah, 2018; Chiriví et al., 2019; Giraudo et al., 2013; Hernandez, 2021).

2.5.1.4. Micorremediación

Se refiere al uso de setas mohos y levaduras como degradadores o removedores de toxinas del ambiente; los hongos filamentosos y mohos tienen gran efectividad de degradación en superficies sólidas como suelos y lodos, debido al crecimiento micelial y la acción enzimática hidrolítica secretadas en el mismo medio (Chiriví et al., 2019; Medaura et al., 2013).

La micorremediación transforma la acción enzimática metabólica en sustancias más inocuas logrando su conjugación siendo una de las opciones más óptimas para la extracción, transporte y almacenaje de diferentes compuestos tóxicos, los hongos son capaces de colonizar diferentes sustratos con sus hifas y se caracterizan por su consecuente aumento de biomasa, además de que soportan factores de estrés asociado a factores ambientales como la baja disposición de nutrientes, agua y pH que para otros microorganismos como las bacterias es complicado (Padilla et al., 2021; Sobrero et al., 2022). Por otro lado, las levaduras ocupan el mecanismo de biosorción bajo la influencia de factores relacionado con la superficie celular, y las características que presente el metal, su modo de acción se centra en la pared celular que se convierte en un puerto de unión con el metal debido a la carga superficial que presenta con intercambio iónico influido por el pH del medio.

Los géneros de hongos y setas más utilizadas son: *Aspergillus* sp. para Hierro (Fe), Cobre (Cu), Zinc (Zn) y Aluminio (Al), *Trichoderma* sp. para Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Cadmio (Cd) y Níquel (Ni), *Agaricus* para Cadmio (Cd) y Plomo (Pb), *Fusarium* sp. para Plata (Ag), Cobre (Cu), Zinc (Zn) y Plomo (Pb) (Apaza et al., 2021; Apaza & Valderrama, 2020; Medaura et al., 2013; Rodríguez, 2022; Santos et al., 2017); mientras que las levaduras más estudiadas son: *Cryptococcus agrionensis* para Cobre (Cu), *Lecythoptora* sp. para Zinc (Zn) y Arsénico (As), *Sacharomyces cerevisiae* para Plomo (Pb) (Giraud et al., 2013; Moreno & Ramos, 2018).

2.6. Microorganismos

2.6.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Es una bacteria Gram negativa derivada de la denominación de la palabra aeruginoso, que significa “El color del cobre oxidado” dado su nombre por el color azul-verdoso que lo caracteriza en las

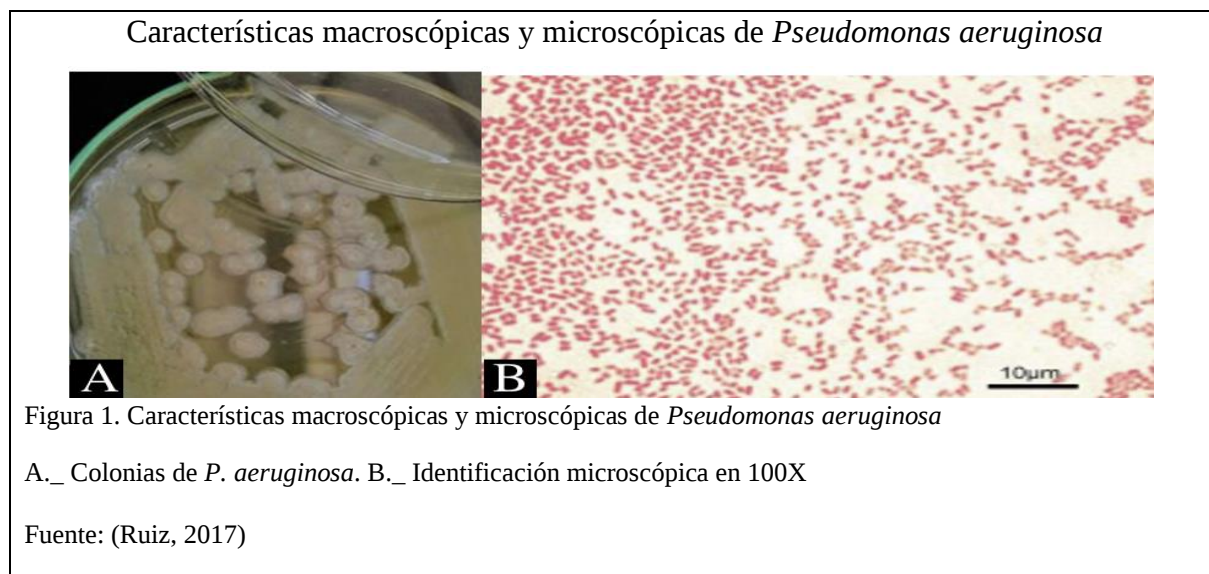
colonias del cultivo. Es muy fácil de encontrarla tanto en ambientes terrestres como acuáticos e incluso en tejidos vegetales y animales. Además, presenta un rol destacado en la biorremediación gracias a la gran capacidad catabólica, la fácil adaptación y los requerimientos abióticos de baja exigencia (Luján, 2019).

Su clasificación es la siguiente: Reino: Monera; División: Proteobacteria; Clase: Gamma Proteobacteria; Familia: Pseudomonadaceae; Género: *Pseudomonas*; Especie: *aeruginosa*. (Slabbinck et al., 2010).

2.6.1.1. Características macroscópicas y microscópicas

- **Macroscópicas:** Son colonias aplanadas, grandes y lisas, en ocasiones su silueta tiene forma con bordes sierra con un ligero brillo metálico. Las colonias de crecimiento lento se denominan puntiiformes (Pico et al., 2017).
- **Microscópicas:** Se trata de un bacilo recto o ligeramente curvado Gram negativo, con un tamaño de 2–4 x 0.5-1 micras, y móvil gracias a la presencia de un flagelo polar, presentan filamentos pequeños denominados Pili, localizados en el exterior con flagelo que ocupan para poder desplazarse en medios semisólidos, además de adherirse a superficies (Santambrosio et al., 2009)

Ver Figura 1.



2.6.1.2. Metabolismo

P. aeruginosa se caracteriza por vivir en un ambiente hostil o tóxico para poder combatir los contaminantes mediante los mecanismos de adaptación de estas así estos alteran su fenotipo y genotipo para poder mantenerse en el entorno para poder mantener la población y por tanto pueden eliminar biológicamente metales pesados peligrosos por diferentes mecanismos como la biotransformación, la biorreducción, la biosorción o la bioacumulación (Fernández et al., 2018).

Según Luján (2019), su uso se encuentra dentro de un amplio rango de compuestos orgánicos e inorgánicos que hacen parte de su metabolismo, esta le permite aprovechar diferentes sustratos considerados tóxicos, como los hidrocarburos alifáticos y aromáticos y la composición de metales pesados debido a la resistencia antimicrobiana y detergente que estas bacterias presentan.

La interacción entre bacterias y metales pesados se centra en la movilización e inmovilización de estos bajo la producción de polímeros extracelulares y la liberación de diferentes sideróforos. Existen diferentes investigaciones con respecto a *Pseudomonas* donde se menciona que estas generan ácidos orgánicos e inorgánicos que suelen ser capaces de extraer los metales pesados presentes en un sustrato sólido (Chang, 2020).

Las bacterias Gram negativas son capaces de unir iones metálicos en la membrana externa que es parte de la pared celular de estas bacterias en este caso sucede que los cationes son elementos que estabilizan la estructura molecular de la membrana debido a la unión a iones metálicos va a reducir las cargas repulsivas que van a existir entre los constituyentes buscando la degradación de los metales (Quispe & Coral, 2018; Suárez & Reyes, 2002) Ver Anexo 2.

2.6.2. *Trichoderma harzianum*

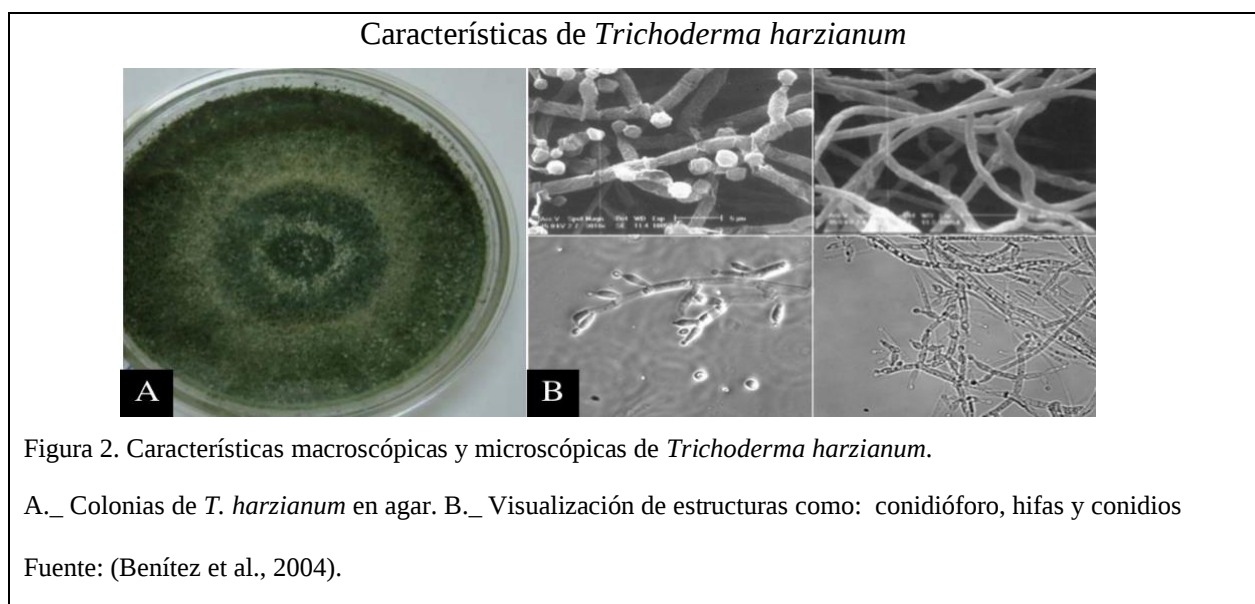
Las especies del género *Trichoderma* son de los hongos más utilizados en cuanto al proceso de biorremediación, es uno de los microorganismos más comunes en la naturaleza, con un alto potencial de colonización (Kacprzak et al., 2014). Son hongos saprofitos típicos de suelos, Deuteromycete de estado sexual Hypocrea. Esta especie de hongo es un aerobio facultativo conocido por ser un agente

biológico para el control de plagas en plantas, tratamientos en semillas y aplicaciones en suelos para la purificación de tóxicos contaminantes (Castro & Rivillas, 2012).

Reino: Fungí; División: Ascomycota; Clase: Hyphomycetes; Familia: Moniliaceae; Género: *Trichoderma*; Especie: *harzianum*. (Muñoz, 2016).

2.6.2.1. Características macroscópicas y microscópicas

- **Macroscópicas:** Las colonias suelen crecer de manera rápida, al inicio el micelio es sumergido y eventualmente con micelio aéreo hialino aracnoideo, lanoso, apelmazado de forma variable, según sobre la cepa y el medio de cultivo. El reverso incoloro o beige, amarillo, ámbar, rojizo opaco o amarillo verdoso. Olor mayormente pronunciado o débil, característico del género, sugiriendo coco o alcanfor. Conidiación derramada o en penacho o formándose pústulas compactas; típicamente en tonos verdes, o con menor frecuencia blanco, gris o marrón (Kubicek & Harman, 1998).
- **Microscópicas:** Posee conidióforos hialinos de medida 62.5-69 μm de largo por 3-4.7 de ancho, son erectos, ramificados, con masas de esporas apicalmente en las fiálidas verticiladas asimétricas de entre 6.3-15.6 μm de largo por 2.7 – 3.4 μm de largo. Conidias fialosporosas, hialinas, globosas, subglobosas u ovadas, unicelulares de tamaño 12.5-10 μm . (Benítez et al., 2004; Muñoz, 2016; Romero et al., 2009). Ver Figura 2.



2.6.2.2. Metabolismo

Informes muestran que *T. harzianum* puede estimular el crecimiento de las plantas hasta en un 300%, así como protegerlos de factores de estrés, especialmente patógenos, además produce ácidos orgánicos tales como ácido glucónico, ácido fumárico y ácido cítrico, que pueden disminuir el pH del suelo y permitir la disolución de fosfato, así como macro y micronutrientes como hierro, manganeso y magnesio, que son necesarios para metabolismo de las plantas (Kacprzak et al., 2014). Los miembros pertenecientes al género *Trichoderma* tienen un gran potencial al momento de sintetizar y lograr liberar enzimas como las celulasas, quitinasa, xilanasas y polisacarasa que son aprovechadas en los diferentes procesos industriales. Utiliza la vía de Glucólisis para poder metabolizar carbohidratos y poder conseguir energía para sus procesos metabólicos, dado así la interacción de este microorganismo está sujeta a la mineralización de los metales que gracias a la vía glucolítica (Ver Anexo 2) logra inmovilizar los compuestos inorgánicos favoreciendo la quelación, acumulación y biosorción cambiando el estado de oxidación de los metales pesados (Mesa et al., 2020).

2.6.3. *Aspergillus niger*

Es un hongo filamentoso saprófito, puede estar compuesto por hifas o levaduras, presentes en una sola célula, comúnmente produce un moho negro en vegetales o crece en cultivos ricos en heno y compostaje; es uno de los géneros más abundantes en la naturaleza y requieren entre el 70% al 90% de humedad relativa. Es utilizado a nivel industrial para la obtención de enzimas como la catalasa o glucosa oxidasa (Martínez et al., 2013).

Su clasificación es: Reino: Fungí; División: Ascomycota; Clase: Eurotiomycetes; Familia: Trichocomaceae; Género: *Aspergillus*; Especie: *niger* (Arenas, 2008)

2.6.3.1. Características macroscópicas y microscópicas

- **Macroscópicas:** Presenta colonias que crecen de manera rápida y pueden tener un diámetro de entre 4 a 5 cm que ayuda en su identificación, en sus inicios sus micelios son de color blanquecino hasta tornar color negro a pardo oscuro, su aspecto es polvoriento y en el reverso suele ser incoloro o amarillento (Québec, 2019).

• **Microscópicas:** Bajo el microscopio se puede observar la producción de hifas especializadas, los conidióforos, encargados de la producción de esporas. Entre sus características se destaca el conidióforo es largo y puede medir hasta 3mm, es de forma hialino que presenta cabezas aspergilaes, subesferas que miden de 25 a 100µm de color negro con dos series radiadas de largo total entre 1.5 a 3mm. Estas estructuras cuentan con tres partes, la vesícula, es el extremo apical hinchado, estipe, se encuentra bajo la vesícula con forma cilíndrica, y la célula pie, la cual se encuentra al final, generalmente suele estar separado por septos (Arenas, 2008; Québec, 2019; Villaveces, 2019). Ver Figura 3.



2.6.3.2. Metabolismo

La interacción entre los hongos y los metales se da a partir de procesos de captación iónica, este tipo de microorganismos inmoviliza a los de compuestos inorgánicos mediante mecanismo bioquímicos y fisiológicos que logran cambiar el estado de oxidación y favorecer la acumulación, detoxificación y mineralización de los metales presentes en diferentes medios. La captación del metal se da por la biomasa fúngica, se puede dar por dos vías: en el primer modo la actividad metabólica es independiente y logra involucrar las uniones de los iones a la pared celular mientras que el otro modo logra captar los compuestos orgánicos dentro de la célula y depende del metabolismo (Duca et al., 2012).

El metabolismo de *A. niger* es intervenido por la utilización de diversas fuentes de carbono, en Vía de transporte de compuestos dentro de *Aspergillus niger*, la red metabólica se basa en el modelo estructurado del microorganismo donde se incorpora el ciclo de ácidos tricarboxílicos (CAT - ciclo de ácidos tricarboxílicos), la ruta de las pentosas-fosfato (PF), la ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), la capacidad de biosorción dependiente del pH y la concentración de los metales presentes en la solución dependen de la reacción que se da en la biomasa que se produce de manera agrupada dentro de la asimilación del microorganismo para la acumulación de compuestos inorgánicos y su posterior degradación (Reyes et al., 2013). Ver Anexo 2.

2.7. Legislación ambiental

2.7.1. Constitución del Ecuador

Art. 1.- Los recursos naturales no renovables del territorio del Estado pertenecen a su patrimonio inalienable, irrenunciable e imprescriptible (Constitución de la República del Ecuador, 2021).

Art. 407.- Se prohíbe la actividad extractiva de recursos no renovables en las áreas protegidas y en zonas declaradas como intangibles, incluida la explotación forestal. Se prohíbe todo tipo de minería metálica en cualquiera de sus fases en áreas protegidas, centros urbanos y zonas intangibles (Constitución de la República del Ecuador, 2021).

Art. 408.- Son de propiedad inalienable del Estado los recursos naturales no renovables y, yacimientos minerales; así como la biodiversidad y su patrimonio genético (Constitución de la República del Ecuador, 2021).

2.7.2. Ley de Minería

Art. 16.- La exploración y explotación de los recursos mineros estará basada en una estrategia de sostenibilidad ambiental pública que priorizará la fiscalización, contraloría, regulación y prevención de la contaminación y remediación ambiental, así como el fomento de la participación social y la veeduría ciudadana.

Art. 17.- Derechos mineros. - Por derechos mineros se entienden aquellos que emanan tanto de los títulos de concesiones mineras, contratos de explotación minera, licencias y permisos, como de las

autorizaciones para instalar y operar plantas de beneficio, fundición y refinación, y de las licencias de comercialización.

Art. 56.- Explotación ilegal de minerales. - Incurrirán en explotación ilegal de sustancias minerales quienes realicen las operaciones, trabajos y labores de minería en cualquiera de sus fases sin título alguno para ello o sin el permiso legal correspondiente.

2.7.3. Reglamento Ambiental de Actividades Minera (RAAN)

Art. 74.- Manejo de desechos peligrosos. - Todos los desechos con características corrosivas, reactivas, tóxicas, inflamables o biológicas infecciosas serán considerados como desechos peligrosos y su gestión se sujetará a lo dispuesto en el Reglamento para la Prevención y Control de la Contaminación por Sustancias Químicas Peligrosas, Desechos Peligrosos y Especiales, o aquel que lo reemplace, así como la normativa ambiental aplicable. Está prohibida la contaminación de cuerpos de agua y suelos por desechos peligrosos (Ministerio del Ambiente, 2016).

Art. 82.- Límites permisibles. - Para garantizar la calidad del aire, suelo y aguas superficiales y subterráneas, el titular minero planificará y ejecutará el desarrollo de sus actividades acatando estrictamente lo establecido en las normas vigentes para tal efecto (Ministerio del Ambiente, 2016).

Art. 116.- Localización y construcción de depósitos de relaves. - Para la construcción de piscinas o depósitos de relaves, se elegirán sitios técnicamente recomendables, con topografía favorable, fuera de áreas en las que se haya detectado fallas sísmicas, o la existencia de corrientes subterráneas de agua vulnerables a contaminación. Las piscinas o depósitos de relaves deberán tener suficiente capacidad de almacenamiento para poder captar y sedimentar los relaves en ellos depositados, de tal forma que no se produzcan rebosamientos a los drenajes naturales. En ningún caso se destinarán zonas que se hayan identificado como de alta sensibilidad biofísica para la ubicación de piscinas o depósitos de relaves (Ministerio del Ambiente, 2016b).

2.7.4. Texto Unificado de legislación secundaria del ministerio de ambiente (TULSMA)

El acuerdo ministerial 61 del Registro Oficial Edición Especial 316 de 04-May.-2015 establece:

Párrafo II

Art 212.- Calidad de suelos. Para realizar una adecuada caracterización de este componente en los estudios ambientales, así como un adecuado control, se deberán realizar muestreos y monitoreos siguiendo las metodologías establecidas en el Anexo II y demás normativa correspondiente.

La Autoridad Ambiental Competente y las entidades del Sistema Nacional Descentralizado de Gestión Ambiental, en el marco de sus competencias, realizarán el control de la calidad del suelo de conformidad con las normas técnicas expedidas para el efecto. Constituyen normas de calidad del suelo, características físico-químicas y biológicas que establecen la composición del suelo y lo hacen aceptable para garantizar el equilibrio ecológico, la salud y el bienestar de la población (Ministerio de Ambiente, 2015).

Art. 213.- Tratamiento de Suelos Contaminados. Se lo ejecuta por medio de procedimientos validados por la Autoridad Ambiental Competente y acorde a la norma técnica de suelos, de desechos peligrosos y demás normativa aplicable. Los sitios de disposición temporal de suelos contaminados deberán tener medidas preventivas eficientes para evitar la dispersión de los contaminantes al ambiente (Ministerio de Ambiente, 2015).

2.7.5. Norma de calidad ambiental de recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados

Según el Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica (2015), en su texto "Norma de Calidad Ambiental del Recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados del libro VI Anexo 2", menciona en sus requisitos que la prevención de contaminación del suelo se centra en las buenas prácticas de manejo y se evitará el traslado de problemas contaminantes desde el agua y aire al recurso suelo.

La agencia de regulación y control minero se ha convertido en el organismo técnico administrativo más importante en cuanto a la regulación de contaminación ecológica ambiental de suelos y aguas en el Ecuador. La vigilancia estatal ha buscado la auditoria de la intervención de las fases mineras que realiza una empresa de acuerdo a sus titulares de derechos mineros en cuanto a la acumulación de residuos metalúrgicos para tomar precauciones que eviten la contaminación de aire, agua, suelos y

biota de lugares usados como depósitos de residuos cumpliendo los límites permisibles y los parámetros establecidos por la legislación ambiental (Badillo, 2009).

El texto unificado de legislación ambiental del MAE Libro VI de calidad ambiental menciona que: Sedimentos, lodos y sustancias sólidas provenientes de sistemas de potabilización de agua y de tratamiento de desechos y otras tales como residuos del área de la construcción, cenizas, cachaza, bagazo, o cualquier tipo de desecho doméstico o industrial, no deberán disponerse en aguas superficiales, subterráneas, marinas, de estuario, sistemas de alcantarillado y cauces de agua estacionales secos o no, y para su disposición deberá cumplirse con las normas legales referentes a los desechos sólidos no peligrosos (Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica, 2015).

El monitoreo de suelos contaminados hace referencia que cualquier acción causante de contaminación al suelo será remediada mediante criterios específicos en la zona afectada, además la entidad ambiental el monitoreo de las zonas debe tener planes de contingencia para un correcto accionar. Los factores indicativos de contaminación son relevantes según la Norma de Calidad Ambiental del Recurso suelo, el distrito encargado del medio ambiente según la perturbación y denominación impuesta. La constitución del Ecuador ha impuesto normativas específicas de concentraciones permitidas en el suelo tal como se observa en el Anexo 3.

3. Materiales y métodos

3.1. Fase de campo

3.1.1. Georreferenciación

Se realizó una georreferenciación 22 puntos al sur de la Sierra Ecuatoriana, guardando confidencialidad con el nombre de la empresa minera por motivos de privacidad (Ver Anexo 4).

3.1.2. Muestreo

Se tomó en cuenta la Norma NTE INEN-ISO 10381-4: 2014-01.” *Calidad del Suelo. Muestreo. Parte 4: Guía de procedimiento para la Investigación de sitios naturales, casi naturales y cultivados*”. Para la extracción de la muestra se realizó 9 cuadrantes en la zona, tomando 18 muestras con profundidades desde la superficie hasta los 0.5 m y desde los 0.5 m hasta 1 m del mismo cuadrante, cada muestra tenía un peso de 22 kg, las cuales fueron transportadas y entregadas en los laboratorios de la UPS (Universidad Politécnica Salesiana). Finalmente se agruparon en 3 costales y se tomó las muestras para analizar (Ver Anexo 4).

3.2. Fase de Laboratorio

3.2.1. Análisis físico - químico de los lodos

La determinación cuantitativa de metales se realizó al inicio, y al final del ensayo. Se llevó a cabo en el laboratorio GRUNTEC. La técnica utilizada fue el método EPA 6020B y EPA IO-3.5 para aguas, suelos y sedimentos, basados en la normativa legal para metales con límites máximos y mínimos permisibles.

Se enviaron 3 muestras de lodos de relaves a los cuales fueron sometidas a un pretratamiento para vaporizar, atomizar e ionizar compuestos metálicos. Los compuestos se detectaron y cuantificaron por espectrometría de masas (Ver Anexo 4).

3.2.2. Elaboración de medios de cultivo

Se utilizó medios de cultivo: PDA (Potato dextrosa agar) y SDA (Sabouraud dextrosa agar) para el crecimiento de hongos y Agar estándar para el crecimiento de bacterias, se realizó un litro de cada

medio siguiendo las instrucciones del proveedor, se autoclavó por 45 min, para los medios PDA y SDA, una vez temperados, se le agregó con una jeringa y microfiltro una solución de cloranfenicol (5 mL en 1 L) y en cabina de flujo se dispensó en cajas Petri de plástico, se conservaron en refrigeración hasta su uso (Ver Anexo 4).

3.2.3. Diluciones seriadas

Se realizaron diluciones de base 10 con una solución madre 10^0 , se colocó 80 mL de solución salina al 0.9 % estéril en un frasco boeco de 100 mL y se agregó 20 mL de la de muestra de lodo de relave, se agitó durante 1 minuto, este proceso se llevó a cabo con todas las muestras.

Posteriormente se tomó 1 mL de la solución madre con una micropipeta de 100 μ L - 1000 μ L y se colocó en un tubo de ensayo con 9 mL de solución salina al 0.9 % y se llevó al vortex y se obtuvo la dilución 10^{-1} UFC/mL, después se tomó 1 mL de la solución y se colocó en otro tubo de ensayo que contenían 9 mL de solución salina al 0.9 % obteniendo así la dilución, y se realizó el proceso sucesivamente hasta obtener la dilución 10^{-9} UFC/mL (Ver Anexo 4).

3.2.4. Siembra de microorganismos

Con una micropipeta se tomó 100 μ L de cada dilución y se sembró directamente sobre la superficie del medio de cultivo realizado previamente, extendiendo la muestra con ayuda de un asa de digralsky, este procedimiento se realizó por duplicado. Se sellaron las cajas con Parafilm y se incubó a 36 °C por 48 horas para bacterias y a 26 °C por 5-6 días para hongos (Ver Anexo 4).

3.2.5. Purificación de hongos y bacterias

Para hongos se realizó la técnica de resiembra con hisopo y jeringa, donde se tomó una pequeña cantidad de la superficie con un hisopo y se procedió a estriar sobre el medio de cultivo, y en otros casos se utilizó una jeringa con la cual se tomó un pedazo de hongo con agar y se lo implantó en medio del agar de una nueva caja Petri, se colocó cloranfenicol (5 mL en 1 L) para evitar el crecimiento de bacterias, se incubaron las cajas y se procedió a identificar las cepas encontradas.

Una vez reconocido las cepas de hongos de interés, en este caso *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp., se realizó una purificación más específica con la técnica de microcultivo, que consistió en colocar en

una caja Petri estéril, puntas para generar un soporte, y encima se ubicó un portaobjetos con un corte de medio PDA + una solución cloranfenicol (5 mL en 1 L).

Desde una caja sembrada con *T. harzianum* se tomó un poco de muestra con un asa de siembra y se sembró en la superficie del agar, se cubrió con un el portaobjetos y se añadió 10 mL de agua estéril en la base interna de la caja Petri, posteriormente se selló con Parafilm y se incubó por 5 días a 27 °C. De igual manera se realizó con *A. niger*.

Para bacterias se utilizó la técnica de siembra por estría, se tomó un poco de la cepa identificada y con un asa de siembra se realizó un estriado en la superficie del medio de cultivo, se utilizó medio TSA y agar estándar y se incubó por 24h a 36 °C.

Para *P. aeruginosa* se procedió a activar un hisopo de la cepa ATCC 27853 en medio TSA y se incubó a 36 °C por 24 h (Ver Anexo 4).

3.2.6. Identificación macroscópica de microorganismos

Para la identificación macroscópica de hongos y bacterias, se tomó en cuenta características como la forma de las colonias, color, olor, y crecimiento sobre caja en el haz y en el envés.

3.2.7. Identificación microscópica de microorganismos

Para la identificación microscópica de hongos se usó la técnica de impronta, en la cual se colocó en un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol y con un pedazo de cinta adhesiva se tomó un poco del micelio del hongo y se lo colocó en el portaobjetos, se cubrió con un cubreobjetos, se llevó al microscopio y se visualizó con lentes 10 X, 40X, 100X en este lente se colocó una gota de aceite de inmersión.

Para bacterias se realizó la técnica de tinción Gram, donde se realizó un frotis con agua destilada del cultivo y se fijó con calor, el frotis fijado se lo tiñó con cristal violeta durante 1 min, se lavó con agua, se cubrió con Lugol durante 1 min y se lavó nuevamente con agua destilada, se decoloró con una mezcla de alcohol cetona, se escurrió y cubrió con safranina durante 1 min. Finalmente se lavó con agua destilada y se dejó secar. Posterior las placas fueron observadas en el microscopio con el lente

de 100X con aceite de inmersión, donde se visualizó la forma de la bacteria y presencia o ausencia de filamentos (Ver Anexo 4).

3.2.8. Conservación de microorganismos

- **Conservación de *T. harzianum* y *A. niger***

Se utilizó tubos de polipropileno estéril que contenían 1.5 mL de solución v/v compuesta de glicerol al 10% y agua destilada. Se dispensó el inóculo de cada hongo y se refrigeró a 5 °C durante 4 semanas hasta su uso.

- **Conservación de *P. aeruginosa***

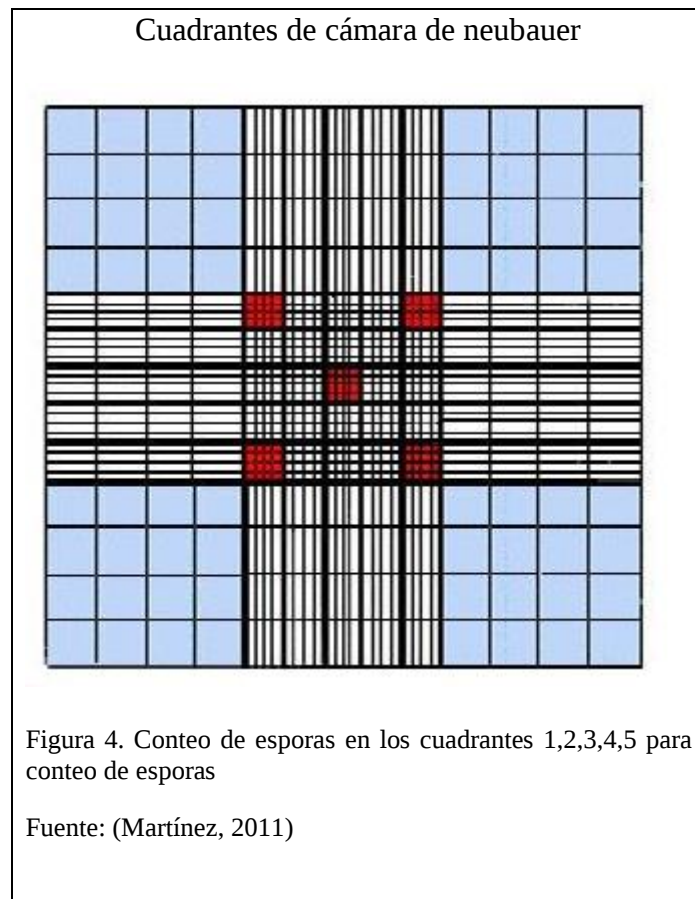
Se tomó con el asa de siembra varias colonias de *P. aeruginosa* de una caja petri y se dispensó en el medio del tubo vial CRYOBANCK, se lo agitó por 3 min para que la bacteria se adhiriera a las perlas, posteriormente se removió el medio de cultivo del tubo con una jeringa estéril y se congeló a una temperatura de -80 °C durante 4 semana hasta su uso (Ver Anexo 4).

3.2.9. Preparación de la solución para conteo de esporas

En un tubo se colocó 9 mL de solución salina estéril y se agregó un raspado de la conservación previa de *T. harzianum*, se agitó hasta obtener una solución homogénea y se procedió a realizar diluciones desde 10^0 hasta 10^{-4} UFC/mL para hongos, posteriormente se realizó el conteo de esporas. Lo mismo se aplicó en *A. niger* y para *P. aeruginosa* con diluciones hasta 10^{-6} UFC/mL.

3.2.10. Conteo de esporas

Con una micropipeta se tomó 30 µL de la suspensión de cada hongo realizada previamente, se colocó en el centro de la cámara de Neubauer, se colocó un cubreobjetos y se llevó a visualizar en el microscopio electrónico, se tomó en cuenta el cuadrante del centro y los cuadrantes de las cuatro esquinas y el centro respectivamente (Figura 4).



El número de esporas por mL y número de esporas totales fueron determinados por las fórmulas:

Fórmula 1. Número de esporas por mL

$$\text{Esporas / mL} = \# \text{ de esporas contadas} \times 25.000 \times \text{factor de dilución.}$$

Fuente: (Martínez, 2011)

Fórmula 2. Número de esporas totales

$$\text{Esporas totales} = \text{esporas / mL} \times \text{Vol. de la suspensión original de esporas.}$$

Fuente: (Martínez, 2011)

3.2.11. Preparación de inóculos

Los inóculos fueron elaborados en el sitio de montaje del experimento, área cubierta sometida a condiciones ambientales. Cada muestra se agitó durante 5 y se filtró para retirar los residuos sólidos del agar.

- **Hongos**

Se utilizó un envase plástico con capacidad 5 L y se colocó 1 L de agua y 3 cajas Petri con *T. harzianum* de concentración 10^{-4} UFC/mL. De igual manera se realizó para *A. niger*.

- **Bacteria**

Se utilizó un envase plástico con capacidad 5 L y se colocó 1 L de agua y 3 cajas Petri con *P. aeruginosa* de concentración 10^{-6} UFC/mL.

- *P. aeruginosa* + *A. niger* + *T. harzianum*

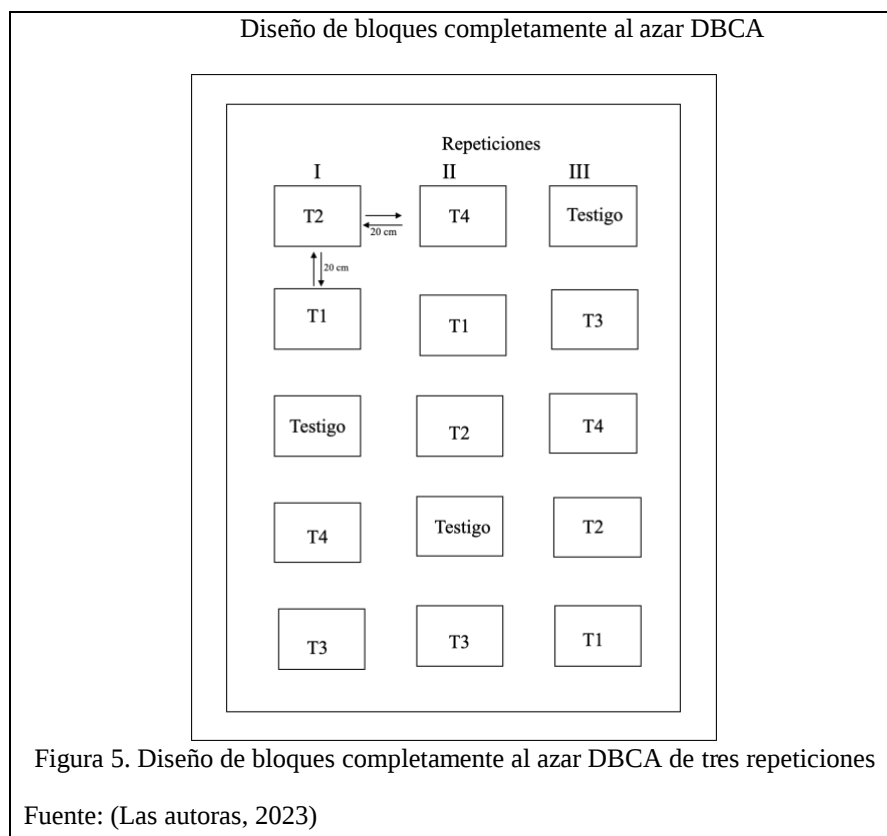
Por último, se tomó 1 L de agua en un envase plástico de capacidad 5 L y se colocó 1 caja sembrada de *T. harzianum* de concentración 10^{-4} UFC/mL, 1 caja sembrada de *A. niger* de concentración 10^{-4} UFC/mL y 1 caja sembrada de *P. aeruginosa* de concentración 10^{-6} UFC/mL.

3.2.12. Inoculación del tratamiento

Se vertió sobre 1 muestra de lodo de relave 250 mL del inóculo preparado posteriormente y se mezcló volteando los lodos, este procedimiento se llevó a cabo en todas las repeticiones propuestas. Se ejecutó con cada inóculo (*T. harzianum*, *A. niger*, *P. aeruginosa* y todos juntos). Se realizó tres veces por semana durante 3 meses con la misma cantidad y a la misma hora.

3.2.13. Diseño experimental

Se utilizó un DBCA (diseño de bloques completos al azar) con tres repeticiones (Figura 5). Para los análisis de varianza se usó el modelo generalizado mixto (GLMM's) con familia gamma, análisis de clustering y se aplicó Tukey 5% para los resultados con significancia.



3.2.14. Tratamientos

El montaje del experimento se realizó al norte de Quito en el sector de Pusuquí, se colocó 2 kg de muestra de lodo en cajas plásticas con capacidad de 4 L, las cajas fueron ubicadas en una zona cubierta expuesta a condiciones de oscuridad y temperatura ambiente. Para la aplicación de tratamientos se realizó de la siguiente manera. Ver Tabla 2.

Tabla 2. Tratamientos aplicados a las unidades de experimentación para hongos y bacterias.

No. Tratamiento	Tipo de tratamiento	Peso lodo/mL de inóculo/concentra ción
T0	Lodo solo	
T1	lodo + metales + <i>Trichoderma harzianum</i>	2 kg + 250 mL + 10^{-4} UFC/mL para los dos hongos y 10^{-6} UFC/mL para bacterias.
T2	lodo + metales + <i>Aspergillus niger</i>	
T3	lodo + metales + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
T4	lodo + metales + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Aspergillus niger</i> + <i>Trichoderma harzianum</i>	

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

3.2.15. Variables del ensayo

Las variables fueron monitoreadas bajo condiciones de oscuridad y temperatura ambiente

- **Temperatura**

Se utilizó un termómetro para la toma de datos y fueron expresados en centígrados (°C). Las condiciones de control consistieron en cubierta de plástico negro en forma de paredes en el área de montaje. Se tomó los datos tres veces a la semana a la misma hora.

- **Humedad**

Se utilizó un hidrómetro para la toma de datos y fueron expresados en porcentaje (%). Las condiciones de control consistieron en la aplicación de agua potable y volteos en cada muestra. Se tomó los datos tres veces a la semana a la misma hora.

- **pH**

Se pesó 5 g de lodo y se agregó 25 mL de agua potable en un recipiente de 100 mL y se agitó vigorosamente por aproximadamente 10 min y se dejó reposar hasta que la suspensión se asiente. Las condiciones de control consistieron en la aplicación de Cal di hidratada (50 g en 100 mL), se colocó durante dos semanas. Se usó un pH-metro, los datos se obtuvieron una vez que la lectura se estabilizó.

- **Conductividad eléctrica**

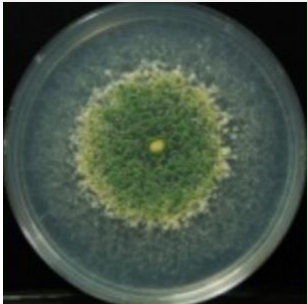
Se midió con un conductímetro, el cual fue introducido en los lodos se relave por 1 min, se expresó en mS/cm. Las condiciones de control consistieron en la aplicación de Cal di hidratada (50 g en 100 mL), se colocó durante dos semanas. Se monitoreo tres veces a la semana a la misma hora.

4. Resultados esperados y discusión

4.1. Identificación de *Trichoderma harzianum*

4.1.1. Características macroscópicas

Tabla 3. Características macroscópicas de *Trichoderma harzianum*

<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	Caracterización
Fotografía obtenida en el laboratorio	Fotografía bibliográfica	
		Textura: Arenosa Superficie: Filamentosa Reverso: Blanco-Verde Color: Verde Forma: Anillos concéntricos
(Autores, 2023)	(Martínez, 2015)	

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Tabla 3 se observa la fotografía de *Trichoderma harzianum* obtenidas del laboratorio y que comparadas con la bibliografía de Martínez (2015), un crecimiento micelial en forma de anillos concéntricos y esporulación densa de color verde oscuro, comparando con la fotografía de Martínez (2015) que afirma las características de coloración y forma de *T. harzianum*, comprobando la especie aislada.

4.1.2. Características microscópicas

Características de *Trichoderma harzianum*

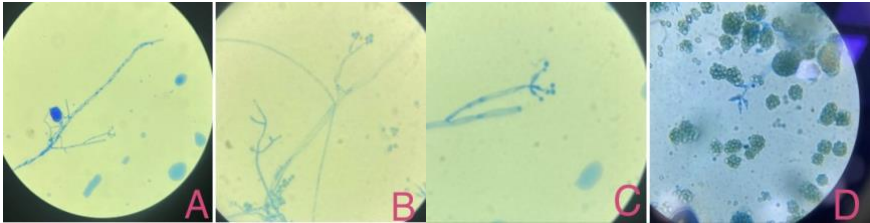


Figura 6. Características microscópicas de *Trichoderma harzianum*
A) Estructura en 40 X; B) Conidióforos; C) Conidios; D) Esporas.

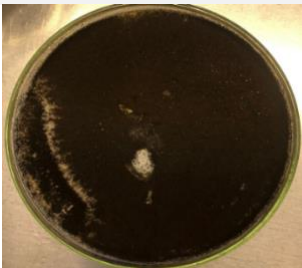
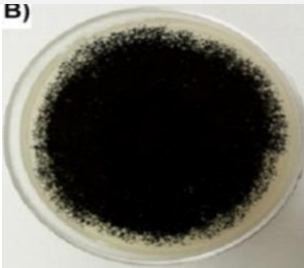
Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Figura 6 se observan características como: hifas alargadas, conidióforos erectos, ramificados no verticilados en grupo, fiálides en forma de botella, conidios globosos de tonalidad verde, lo que coincide con lo encontrado por Loayza (2017) que menciona que, las ramificaciones de las hifas son de 6 mm de diámetro, fiálides alargadas y conidios unicelulares globosos de color verde que miden 4 mm de diámetro.

4.2. Identificación de *Aspergillus niger*

4.2.1. Características macroscópicas

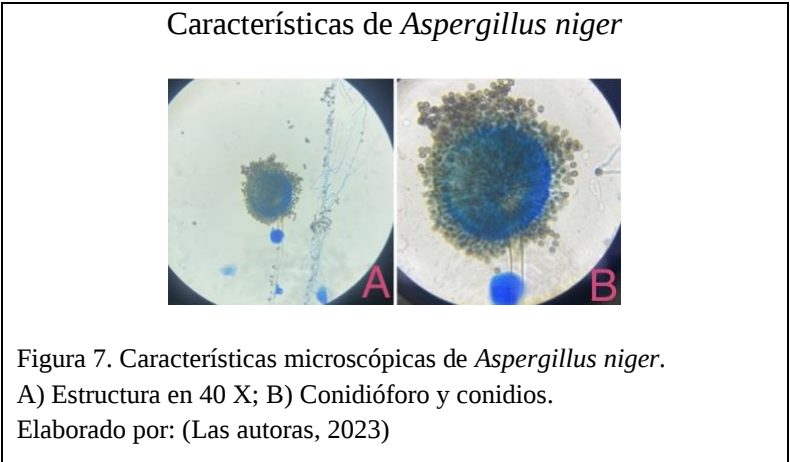
Tabla 4. Características macroscópicas de *Aspergillus niger*

<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Caracterización
Fotografía obtenida en el laboratorio	Fotografía bibliográfica	
		Textura: Arenosa Superficie: Esporulada Reverso: Crema Color: Negro Forma: Circular continua
(Autores,2023)	(Québec, 2019)	

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Tabla 4 en la columna de la izquierda se observa la fotografía tomada en el laboratorio de la columna de la izquierda se evidencia que a los 6 días de incubación a 26 °C presenta un crecimiento micelial en forma de colonias densas - granuladas de color negro de diámetro de 5cm, características que coinciden según lo expresado por Québec (2019) que afirma las características de coloración y forma de *A. niger*.

4.2.2. **Características microscópicas**

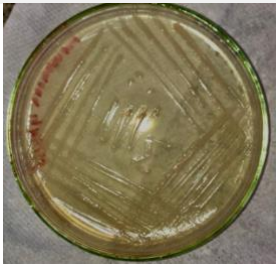
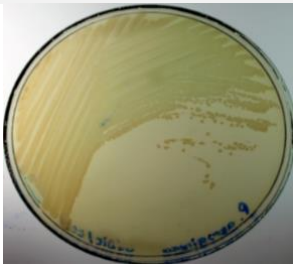


En la Figura 7 se encontraron características como: conidióforos hialinos, en formas de globo de color negro, de identificó la vesícula, el estipe y la célula pie que está separada por septos, fueron comparadas con claves taxonómicas de Québec (2019) que mencionan conidióforos lisos de 3 mm de largo, hialinos con conidios color negro y varias formas como eclipses, lisos y globosos.

4.3. **Identificación de *Pseudomonas aeruginosa***

4.3.1. **Características macroscópicas**

Tabla 5. Características macroscópicas de *Pseudomonas aeruginosa*

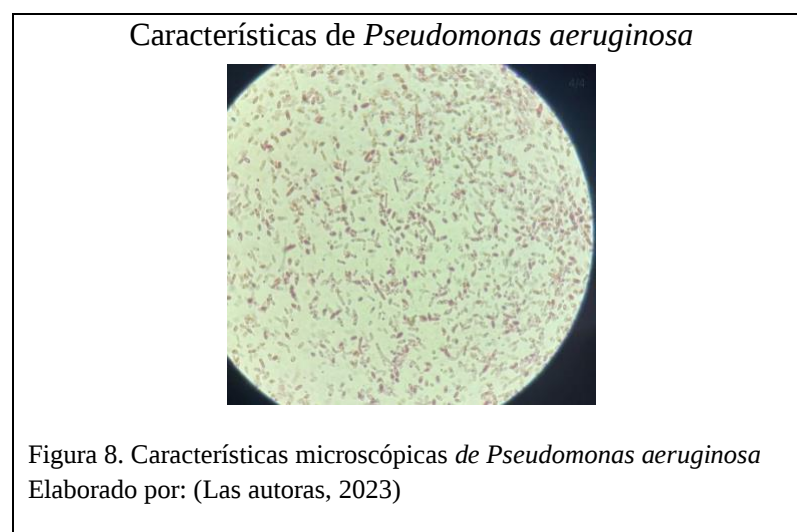
<i>P. aeruginosa</i> Fotografía obtenida en el laboratorio	<i>P. aeruginosa</i> Fotografía bibliográfica	Caracterización
 (Autores,2023)	 (Pico et al., 2017)	Elevación: Convexa Margen: Liso Colonia: Redonda Textura: Cremosa Color: Blanco formando pigmentos amarillos-verdosos (Pioverdina).

En la Tabla 5 se observa un crecimiento masivo de colonias con características de color crema, morfología redonda, brillante sin bordes, así se corrobora que la morfología típica de *Pseudomonas aeruginosa* es plana y alargada con una leve elevación en el centro, también se observó una

pigmentación amarilla - verdosa del género, que coinciden según lo expresado por Pico y colaboradores (2017).

4.3.2. Características microscópicas

Se observaron características como: coloración rosácea indicativo de Gram negativa, forma de bacilo recto y algunos curvados y presencia de flagelo polar por su movimiento constante, lo que coincide con lo encontrado por Mora (2019) que mencionan bacilos en forma de bastón con una dimensión de $0.6 \times 2 \mu\text{m}$ con una disposición en pares o cadenas cortas. Ver Figura 8.



4.4. Cinética de crecimiento en masificación de hongos: *A. niger* y *T. harzianum*

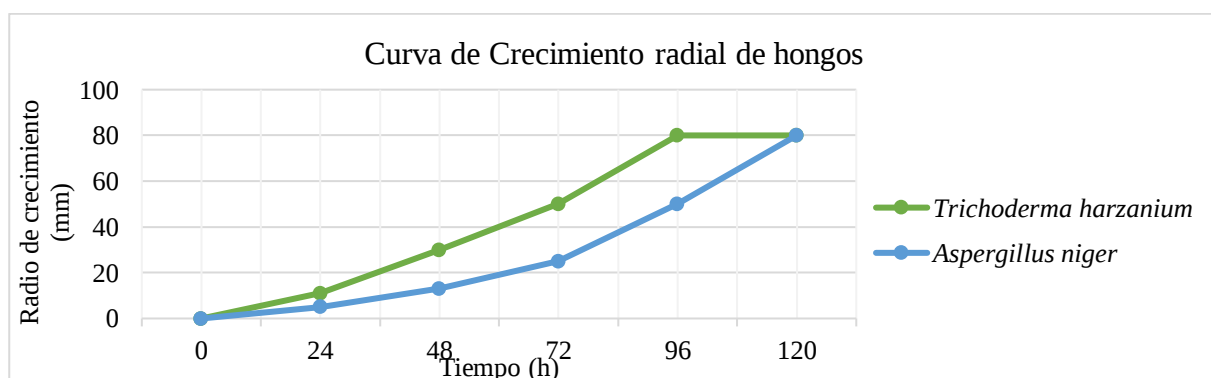


Figura 9. Curva de crecimiento radial de *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger*

Elaborado por: (Las autoras, 2023).

En la Figura 9 se observa que el crecimiento de los hongos tiene un comportamiento lineal constante. *T. harzianum* presenta su fase exponencial a las 24h alcanzado su máximo crecimiento a las 96 h, mientras que *A. niger* inicia su fase exponencial a las 24 horas y alcanza su máximo crecimiento a las

120 h, siendo mayor que *T. harzianum* mostrando las diferencias en las horas de crecimiento. El crecimiento de estos dos hongos se dio en condiciones similares a nivel de laboratorio de temperatura con 26 °C y humedad lo que demuestra su desarrollo en condiciones óptimas, cabe indicar que *A. niger* en su fase exponencial alcanza más días y a la vez es más agresivo que *T. harzianum* según la literatura. Según Vega & Hernández (2020), al someter a *T. harzianum* a condiciones óptimas de temperatura (26 °C) en 72 horas se obtiene el 96% de crecimiento radial mientras que *A. niger* alcanza el 88% de su desarrollo total, soportando lo mencionado anteriormente.

4.5. Cinética de crecimiento en masificación de *Pseudomonas aeruginosa*

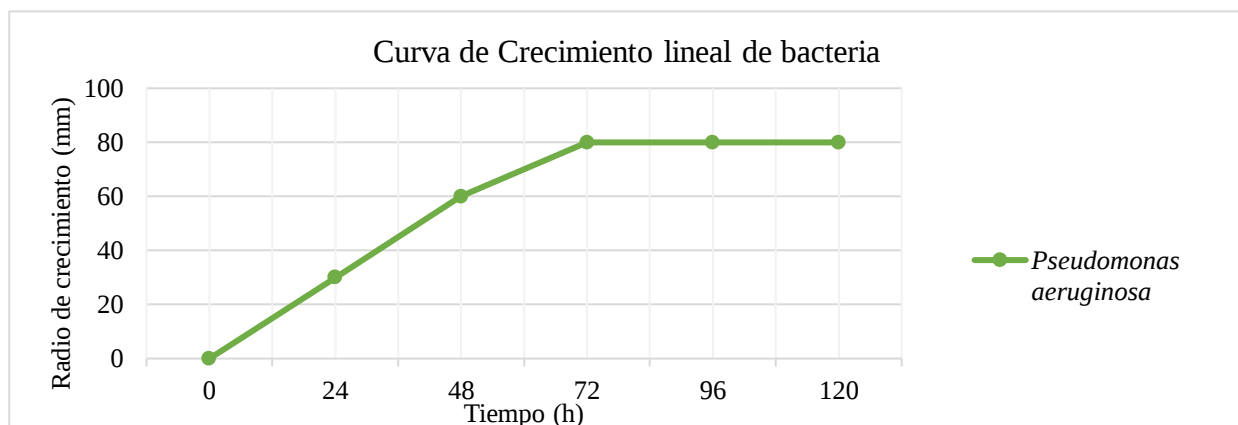


Figura 10. Curva de crecimiento lineal de *Pseudomonas aeruginosa* en reproducción masiva

Elaborado por: (Las autoras, 2023).

En la Figura 10 se denota que el crecimiento de *P. aeruginosa* llega a su fase exponencial en un tiempo de 70 h aproximadamente y se estabiliza en su fase estacionaria a las 72 horas, presentando un cambio de coloración en el medio TSA de color verde - amarillento. Según Mora (2019), la presencia de minerales en el medio como el hierro ayudan a la liberación de Pioverdina la cual se mezcla con el pigmento piocianina que origina el color verde característico, que es un indicador de la fase exponencial de la bacteria a las 48 horas. La permeabilidad de la capa externa de los Gram negativos se da por la presencia de una proteínas denominadas purinas, actuando como canales que permiten la difusión de los iones (Ruiz, 2017).

4.6. Análisis estadístico de las variables del ensayo

4.6.1. Temperatura

Tabla 6. Promedio de temperatura de los tratamientos

	$\bar{X}$ Temperatura (°C)	Estimados	Valores. p	Significancia
Intercept	-	2.82	0.00	-
T1	17.07	0.01	0.41	S/N
T2	17.12	0.03	0.30	S/N
T3	17.16	0.05	0.20	S/N
T4	17.20	0.07	0.16	S/N
T0	16.91	0.00	0.43	S/N

NOTA: T0 (Lodo solo + metales); T1 (Lodo + metales + *T. harzianum*); T2 (Lodo + metales + *A. niger*); T3 (Lodo + metales + *P. aeruginosa*); T4(Lodo + metales + *P. aeruginosa* + *A. niger* + *T. harzianum*).

S/N: Sin significancia.

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Tabla 6 se observa que el rango de temperaturas establecido en los tratamientos oscila entre 16.91 °C y 17.20 °C, la más alta corresponde al T 4 (*P. aeruginosa* + *A. niger* + *T. harzianum*), seguido de T3 (*P. aeruginosa*) con 17.16 °C, T2 (*A. niger*) con 17.12 °C, T1 (*T. harzianum*) con 17.07, y finalmente T0 (Lodo solo) con 16.91 °C. Según Durairaj (2014), el rango para biorremediación de hongos y bacterias es de 15 °C a 45 °C ya que entre estos valores los microorganismos activan su metabolismo porque se encuentra en su fase mesófila de manera óptima influyendo en la velocidad de crecimiento y el transporte de nutrientes, confirmando que las temperaturas del estudio son adecuadas para el proceso de biorremediación.

La temperatura es importante en el proceso de degradación de metales pesados debido a que niveles adecuados ayudan en la adaptación de los microorganismos y la activación de su proceso metabólico, los valores presentados entre tratamientos no presentan variabilidad puesto que se controló las condiciones de exposición del sedimento. Según Lozano y colaboradores (2021), los microorganismos a temperaturas mayores a 17 °C producen cambios en la coloración del medio líquido de la muestra por la activación del metabolismos internos. El testigo no presentó cambios debido a la falta del inóculo por lo que la temperatura se mantuvo baja.

Lo valores P van en un rango de 0.16 a 0.43, siendo el testigo el valor de P más alto (0.43), los tratamientos son considerados similares y no cuentan con significancia lo que los hace estadísticamente iguales demostrándose en la gráfica de clustering (Ver Anexo 9). Por lo tanto, $p > 0.05$ acepta la hipótesis alternativa donde los tratamientos se consideran eficientes para la degradación de metales, ya que se encuentra dentro de los rangos de temperatura para una buena biorremediación.

4.6.2. Humedad

Tabla 7. Promedios de humedad de los tratamientos

	$\bar{X}$ Humedad (%)	Estimados	Valores.p	Significancia
Intercept	-	-1.324	0.00	-
T1	40.98	0.25	0.01	S/N
T2	41.05	0.25	0.01	S/N
T3	41.05	0.25	0.01	S/N
T4	41.10	0.25	0.01	S/N
T0	26.67	0.23	0.00	S/N

NOTA: T0 (Lodo solo+ metales); T1 (Lodo + metales + *T. harzianum*); T2 (Lodo + metales + *A. niger*); T3 (Lodo + metales + *P. aeruginosa*); T4(Lodo + metales + *P. aeruginosa* +*A. niger* + *T. harzianum*).

S/N: Sin significancia

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Tabla 7 se observa que el rango de humedad establecido en los tratamientos oscila entre 26.67 % y 41.10 %, la más alta corresponde al T 4 (*P. aeruginosa* +*A. niger* + *T. harzianum*), seguido de T3 (*P. aeruginosa*) y T2 (*A. niger*) con 41.05%, T1 (*T. harzianum*) con 40.98% y finalmente T0 (Lodo solo) con 26.67 %.

La muestra testigo presenta el porcentaje más bajo de humedad mismo que no contaba con actividad microbiana a comparación de los tratamientos T1, T2, T3 y T4 que cuentan con los porcentajes máximos de humedad posiblemente por las concentraciones de UFC/ mL, donde el agua trabaja como vehículo de oxígeno que permite realizar el proceso de biorremediación y actúa sobre el metabolismo de los microorganismos. Según Poalacin (2015) menciona que *T. harzianum* que un bajo contenido de humedad limita la difusión de los nutrientes mientras que alta humedad disminuye la porosidad de la superficie del sedimento dificultando la transferencia de oxígeno, la humedad para hongos filamentosos oscilan un rango de 20% a 70%. Según Loayza (2017), *A. niger* coloniza sedimentos altamente contaminados que tengan características de humedad relativa del 90% al 95% donde ocurre

la activación de su metabolismo liberando micotoxinas como método de defensa. Mientras que lo mencionado por Gómez y colaboradores (2008), una alta humedad en *P. aeruginosa* impide la transferencia de gases afectando el proceso de biorremediación mientras que una baja humedad reduce la actividad metabólica bacteriana, así este microorganismo responde a cambios ambientales modificando su membrana celular convirtiéndose en la mejor opción en cuanto a la biorremediación de sedimentos contaminados.

Lo valores P para el Testigo es de 0.00 mientras que para T1, T2, T3 y T4 es de 0.01, mostrado una diferencia, por lo tanto, $p < 0.05$ acepta la hipótesis nula donde los tratamientos se consideran no eficientes para la degradación de metales, ya que no cuentan con significancia demostrándose en la gráfica de clustering (Ver Anexo 9. Gráficas de Análisis estadístico).

4.6.3. Conductividad eléctrica

Tabla 8. Promedios de conductividad eléctrica de los tratamientos

	$\bar{X}$ Conductividad (ms/cm)	Estimados	Valores.p	Significancia
Intercept	-	2159	0.00	-
T1	8.01	- 0.29	0.24	*
T2	6.20	-0.48	0.01	S/N
T3	5.38	-0.62	0.00	*
T4	6.39	-0.45	0.02	S/N
T0	15.02	-0.09	0.43	*

NOTA: T0 (Lodo solo+ metales); T1 (Lodo + metales + *T. harzianum*); T2 (Lodo + metales + *A. niger*); T3 (Lodo + metales + *P. aeruginosa*); T4(Lodo + metales + *P. aeruginosa* +*A. niger* + *T. harzianum*).

S/N: Sin significancia; *: Significancia

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Tabla 8 se observa que el rango de conductividad establecido en los tratamientos oscila entre 8.69 ms/cm y 5.38 ms/cm, la más alta corresponde al T1 (*T. harzianum*), seguido de T4 (*P. aeruginosa* +*A. niger* + *T. harzianum*) con 6.39 ms/cm, T2 (*A. niger*) con 6.20 ms/cm, T3 (*P. aeruginosa*) con 5.38 ms/cm y finalmente T0 (Lodo solo) con 15.02.

El testigo presentó el valor más alto, debido a la salinidad presente en los sedimentos por lo que conducen más corriente eléctrica que impiden el paso de nutrientes para el crecimiento de los microorganismos, los valores iniciales de conductividad presentaron un rango de 15.00 mS/cm sobrepasando el valor máximo permisible de conductividad en sedimentos de 3 mS/cm, condición

que impide la adaptación de microorganismos, por este motivo se procedió a realizar un pretratamiento utilizando catalizadores que aportan una reacción positiva sobre esta variable y ayudan a estabilizar el sedimento. Según Cuervo (2019), la Cal di hidratada mantiene las relaciones catiónicas en niveles idóneos, eleva la capacidad de intercambio iónico, bajando la salinidad del suelo y suministra calcio y azufre aumentando drásticamente su concentración en los lodos. Al finalizar el estudio, se notó que al aplicar Cal di hidratada durante un periodo de 9 días se disminuyó un 33.33 % con respecto a la conductividad inicial. Posterior a la aplicación del pretratamiento y el inóculo, T1 presentó valores altos de conductividad siendo una limitante para activación del metabolismo de *T. harzianum*. A diferencia de los tratamientos T2, T3 y T4 presentaron disminución positiva lo que permitió la activación de los metabolismos. Romero y colaboradores (2009) constata que la conductividad disminuye debido al crecimiento de los microorganismos, cosa que se comprobó a lo largo del experimento asegurando que el pretratamiento de Cal di hidratada y los inóculos de microorganismos transformaron las sales convirtiéndolas en energía para activar sus metabolismos. El Testigo y T1 cuentan con valores $p > 0.05$ por lo que se acepta la hipótesis nula donde los tratamientos no son eficientes para la degradación de metales, mientras que T2, T3 y T4 cuentan con valores $p < 0.05$ por tanto se acepta la hipótesis alternativa donde los tratamientos se consideran eficientes para la degradación de metales, por lo que son estadísticamente diferentes lo que se demuestra en la gráfica de clustering (Ver Anexo 9).

4.6.4. pH

Tabla 9. Promedios de pH de los tratamientos

	$\bar{X}$ pH (1-14)	Estimados	Valores.p	Significancia
Intercept	-	-0.80	0	-
T1	2.03	0.64	0	*
T2	2.87	0.83	0	*
T3	2.24	0.65	0	*
T4	2.43	0.69	0	*
T0	1.57	0.60	0	*

NOTA: T0 (Lodo solo+ metales); T1 (Lodo + metales + *T. harzianum*); T2 (Lodo + metales + *A. niger*); T3 (Lodo + metales + *P. aeruginosa*); T4(Lodo + metales + *P. aeruginosa* +*A. niger* + *T. harzianum*).

S/N: Sin significancia; *: Significancia

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Tabla 9 se observa que el rango de pH establecido en los tratamientos oscila entre 2.87 y 1.57, la más alta corresponde a T2 (*A. niger*), seguido de T4 (*P. aeruginosa* + *A. niger* + *T. harzianum*) con 2.43, T3 (*P. aeruginosa*) con 2.24, T1 (*T. harzianum*) con 2.03 y finalmente T0 (Lodo solo) con 1.57. El testigo presentó un pH ácido debido a la abundante presencia de iones de hidrógeno, Según Covarrubias y colaboradores (2015), en un pH ácido los metales son móviles en forma de especies iónicas y forman carbonatos o fosfatos insolubles, además afecta al suelo en los requerimientos nutricionales afectando la toxicidad perdiendo la funcionalidad del suelo ya que este debería tener un pH de 4 a 5.

Además, los años de acumulación de los sedimentos provocan la deficiencia de nutrientes y la actividad microbiana, por lo que se procedió a utilizar el pretratamiento de Cal di hidratada mencionado previamente para subir valores de pH. Los tratamientos T1, T2, T3 y T4 no mostraron cambios ya que las condiciones de disponibilidad en nutrientes, porosidad, humedad y tiempo no fueron óptimas para la adaptación de Cal di hidratada. Según Kluepfel & Lippert (2017) , recomiendan aplicar materiales que tengan alguna forma de limo para bajar niveles de acidez ya que al tener una textura más fina el incremento de pH se acelera, de igual manera se constata que la aplicación de catalizadores se debe realizar a bajas temperaturas por al menos 4 a 5 meses. El pH influye sobre el metabolismo de los microorganismo dificultando su desarrollo, sin embargo, Cervantes y colaboradores (2017) mencionan que algunas bacterias crecen a pH bajos (3) y ciertos hongos se desarrollan en pH bajos (1), a pesar de que el rango óptimo de pH para bacterias es de 6 a 8.5 y hongos de 5 a 7.

Los valores de P en todos los tratamientos es de 0 por tanto se acepta la alternativa donde los tratamientos se consideran eficientes para la degradación de metales, sin embargo, no se descarta la hipótesis nula donde los tratamientos no se consideran eficientes para la degradación de metales debido a que los valores de pH no se encuentran dentro de los rangos óptimos para suelos, por lo tanto son diferentes estadísticamente demostrándose en la gráfica de clustering (Ver Anexo 9. Gráficas de Análisis estadístico9).

4.7. Remoción de metales pesados

Tabla 10. Análisis de remoción de metales pesados en lodos de relave

Compuesto	Inicial mg/kg	Final mg/kg					Límite mg/kg
		T0	$\bar{X}$ T1	$\bar{X}$ T2	$\bar{X}$ T3	$\bar{X}$ T4	
Al	1641	5134	1249	2121	1560	2179	N/A
As	230	188	158	232	149	174	12
S	17498	32632	23504	75781	18333	25948	250
Ba	316	49	671	364	308	62	200
Ca	4253	3026	8905	5610	12667	8048	N/A
Cu	3542	7023	1550	2825	1059	3520	25
Pb	2122	1849	2064	2638	1888	1674	19
Zn	4888	8003	2823	3319	1433	4422	60

NOTA: T0 (Lodo solo+ metales); T1 (Lodo + metales + *T. harzianum*); T2 (Lodo + metales + *A. niger*); T3 (Lodo + metales + *P. aeruginosa*); T4(Lodo + metales + *P. aeruginosa* + *A. niger* + *T. harzianum*).

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

En la Tabla 10 se indica los valores de remoción finales de concentración de metales pesados más relevantes en cada muestra.

Tratamiento 1 (T1) con *T. harzianum* presentó una remoción positiva de Aluminio presentando un valor inicial de 1641 mg/kg siendo un valor alto a pesar de que cuenta con una normativa de límites permisibles que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 1249 mg/kg. Según Ospina & Cardona (2020), este mineral de mayor presencia en el sector minero debido a que es uno de los elementos con más demanda en el sector minero para la fabricación de textiles, aluminio metálico y químicos para clarificación de agua. Seguido de una efectividad en la remoción de Cobre presentando un valor inicial de 3542 mg/kg valor que sobrepasa el límite permisible establecido de 25 mg/kg que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 1550 mg/kg. Delgado y colaboradores (2018), su presencia en los sedimentos está dispuesta en forma de sulfuros y sulfosales que están compuestas en su mayoría por Azufre, elemento que también se encuentra presente en los sedimentos, el mismo que es utilizado en el proceso de lixiviación en cianuro que

oxida al oro y facilita su extracción, las muestras extraídas cuentan con 51 años de antigüedad lo que lo convierte en un contaminante más tóxico. *T. harzianum* al ser un hongo de fácil adaptación en pH ácidos, los metales ingresan a la vía glucolítica del mismo acumulando y bajando la oxidación del compuesto en los lodos (Mesa et al., 2020). A diferencia del Testigo (T0) al permanecer a condiciones ambientales iguales, pero no presentar inoculación de ningún microorganismo los valores de concentración final aumentaron significativamente con respecto a la muestra Inicial con un valor de 5134 mg/kg, posiblemente por el uso de reactivos de laboratorio al momento de realizar los respectivos análisis.

Tratamiento 2 (T2) con *A. niger* presentó una remoción positiva de Cobre presentando un valor inicial de 3542 mg/kg que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 2825 mg/kg.

Becerra & Niño (2021), mencionan que la biorremediación realizada con una biomasa de *A. niger* degrada hasta un 69 % en 24 h, sin embargo, en el presente estudio dadas las condiciones del sedimento el hongo necesita nutrientes que se incorporen a su metabolismo ya que es un degradador de materia orgánica y por tanto la degradación de metales pesados es muy baja. Zinc presentó un valor inicial de 4888 mg/kg valor que sobrepasa el límite permisible establecido de 60 mg/kg que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 3319 mg/kg. Según Pérez y colaboradores (2021), su presencia se da debido a que es utilizado en los procesos de lixiviado para extraer metales preciosos, y luego es desechado al suelo, el suelo no absorbe el zinc si no que este se adhiere acumulando una gran cantidad en la superficie.

Tratamiento 3 (T3) con *P. aeruginosa* presentó una remoción positiva de Cobre presentando un valor inicial de 3542 mg/kg que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 1059 mg/kg y Zinc presentó un valor inicial de 4888 mg/kg que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 1433 mg/kg. Datos que coinciden con lo dispuesto por Paredes y colaboradores (2021) que además mencionan la importancia de su metabolismo de degradación que capta los metales y los convierte en su propia fuente de carbono. Además, Monge y colaboradores (2008), mencionan que la bacteria inmoviliza a metales como el Cu, Al, Pb y Zn mediante el proceso

de biosorción degradando en aguas el 50% de los compuestos y en suelos un 84%. Además, Pérez y colaboradores (2021), mencionan que la cantidad presente de Zn se degrada con la aplicación de bacterias del género *Pseudomonas* spp. logrando resultados de 91% de biosorción del metal.

En el tratamiento 4 (T4) con *T. harzianum* + *A. niger* + *P. aeruginosa* presentó una remoción positiva de Cobre presentando un valor inicial de 3542 mg/kg que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 3520 mg/kg y Zinc presentó un valor inicial de 4888 mg/kg que después de la aplicación del tratamiento el valor final disminuyó a 4422 mg/kg, el proceso se da debido a que la unión de los hongos y la bacteria ayuda a la creación de una barrera captadora de metales pesados que con la ayuda de óptimas condiciones de pH, humedad, temperatura y conductividad logran la degradación de compuestos inorgánicos. Según Hernández (2011), confirma que una biomasa de hongos y bacterias ayudan a la remoción de metales pesados como el As en un 30 %, Pb en un 40%, Al en un 90% y el Zn en un 43% sobre suelos que sobrepasan los límites permisibles con 110 %. *P. aeruginosa* es la que más degrada por la capacidad de adaptarse a ambientes hostiles, *T. harzianum* alcanza un nivel máximo de absorción de un 58% de Pb, 75% de Al y 30% de Zn. Por otro lado, *A. niger* es conocido por ser un lixivante de metales pesados, genera ácido cítrico mejorando las condiciones de su metabolismo siendo capaz de remover un 95% de compuestos inorgánicos.

Ba, es un metal que se oxida al contacto con el aire y logra fluir dentro del agua formando una capa externa que al ambiente húmedo logra inflamarse y concentrarse en mayor cantidad dentro de la muestra debido a las condiciones prestadas de un lodo de relave y siendo así más difícil de integrarse al metabolismo de los microorganismos aplicados (Poblet, 2019).

El Calcio (Ca) es utilizado en la industria minera como una fuente económica de cianuro ya que al ser agregado en solución se convierte en cianuro de calcio y se utiliza para la extracción de oro y plata, este puede ser usado en forma líquida y es absorbida por el suelo. Sin embargo, un alternativo de pre tratamiento es la aplicación de Cal di hidratado o comúnmente conocido como yeso ya que presenta cualidades de control de acidez en suelos, sin embargo, ocurre una saturación de Ca_2 lo que aumenta los rangos de presencia en todas las muestras con respecto a la muestra testigo (T0). Además,

contiene sales básicas que ayudan a disminuir disponibilidad de aluminio, hierro y manganeso mejorando la actividad microbiana, en especial para la fijación simbiótica de nitrógeno y favorecer la mineralización de la materia orgánica (Cuervo, 2019).

La biorremediación es una alternativa sustentable ya que es amigable con el medio ambiente y económica, su implementación debería ser una opción viable en países de América, en Chile utilizan la prensa de filtro para tratar lodos de relave la cual es un proceso de separación de sólido – líquido que permite la recuperación de agua (Rodríguez, 2022), mientras que países como Guatemala y El Salvador proponen la elaboración de relaveras filtradas en minas, sin embargo, la falta de tecnología en la zona minera y los limitantes legales lo convierten en una alternativa no viable (Emerman, 2022).

5 Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Se acepta la Hipótesis Nula (Ho) que menciona que, “*La biorremediación con Aspergillus niger, Pseudomonas aeruginosa y Trichoderma harzianum no son eficientes para lodos de relaves*

mineros” dada las condiciones que presentaban los lodos, la falta de nutrientes no permitió el desarrollo del metabolismo de cada microorganismo.

- La industria minera no gestiona los desechos de residuos, una de las razones principales es que no existen normativas o leyes específicas sobre lodos de relave que fiscalicen su control.
- *P. aeruginosa* es el mejor tratamiento pese a las condiciones de temperatura, humedad y pH, ya que cuenta con un gran potencial biorremediador por su capacidad de adaptación en medios desfavorables.
- La aplicación de Cal di hidratada favorece la reducción de conductividad eléctrica y el aumento de niveles de pH debido a que contiene sales básicas que neutralizan los iones de H^+ que ayudan a la mineralización de metales y posteriormente el buen funcionamiento del metabolismo de los microorganismos, sin embargo, necesita una buena presencia de humedad ya que precipita la presencia de metales como el Bario (Ba) y el Calcio (Ca).

5.2 Recomendaciones

- Se debe trabajar legislación del país debido a que las mismas al no existir no son aplicadas y no existe un control legal sobre la contaminación en recursos naturales.
- Se necesita mayor control en los desechos generados por actividades antropogénicas dada que la acumulación en el medio natural ocasiona contaminación.
- Probar microorganismos distintos a los presentados en el ensayo que sean nativos del lodo, ya que el metabolismo de los mismos está adaptados al consumo de los compuestos metálicos presentes para obtener energía.
- Probar diferentes catalizadores como Hipoclorito de Sodio, Sulfato de Cobre y Cal di hidratada, acompañados de técnicas de volteos hasta lograr un pH estable entre 4 a 5 y una conductividad baja menor a 3 mS/cm

6 Bibliografía

- Aguirre, S., Piraneque, N., & Linero, J. (2021). Concentración de metales pesados y calidad físico-química del agua de la Ciénaga Grande de Santa Marta. *Revista U.D.C.A Actualidad and Divulgacion Cientifica*, 24(1), 1–10. <https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n1.2021.1313>
- Amador, A., Veliz, E., & Bataller, M. (2015). Tratamiento de lodos, generalidades y aplicaciones. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 46(15202), 1–10.

- Apaza, H., Rojas, Y., Mamani, E., & Chura, V. (2021). Microorganismos empleados para la biorremediación de efluentes mineros con cianuro. *Aporte Santiaguino*, 14, 120–137. <https://doi.org/10.32911/as.2021.v14.n1.711>
- Apaza, H., & Valderrama, M. (2020). Aislamiento de cepas fúngicas de una poza de relaves para la biorremediación de plomo y cadmio. *Revista de Investigación y Cultura - Universidad César Vallejo*, 9(4), 47–54.
- ARCERNNR. (2023). * Documento firmado electrónicamente por Quipux 1/2 (Issue 04).
- Arenas, R. (2008). *Micología médica ilustrada* (M. Tovar (ed.); Tercera).
- Arrieta, L. (2019). *Biosorción de metales pesados por hongos filamentosos, aislados de cuerpos de agua altoandinos contaminados con relaves mineros de la sierra central del Perú*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/10061>
- Auquila, F., López, M., & Tonon, L. (2021). Contabilidad Minera. In *Aplicación a la pequeña minería del Ecuador*.
- Banco central. (2023). *Boletín del Sector minero* (p. 35).
- Becerra, D., & Niño, L. (2021). Propuesta del uso de biomasa de la industria del café y *Aspergillus niger* en el diseño de un bioadsorbente para la remoción de metales pesados. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 4(1), 1–2. http://www.ejurnal.its.ac.id/index.php/sains_seni/article/view/10544%0Ahttps://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0%2C5&q=tawuran+antar+pelajar&btnG=%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103237
- Beltrán, M., & Gómez, A. (2015). Metales pesados (Cd, Cr y Hg); su impacto en el ambiente y posibles estrategias biotecnológicas para su remediación. *Facultad de Ciencias e Ingeniería III* +3, 2, 82–113.
- Beltrán, M., & Gómez, A. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172–197. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>

- Benítez, T., Rincón, A., Limón, M., & Codón, C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260.
- Burbano, C. (2021). *Desafíos sobre la regulación de impactos ambientales en actividades mineras del Ecuador: instrumentación del seguro ambiental* (Vol. 7).
- Cañizares, R. (2015). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(3), 131–143.
- Carrasco, M., & León. (2018). *Minería en el Ecuador: sostenibilidad y licitud* (Issue 2).
- Castro, A., & Rivillas, C. (2012). *Trichoderma* spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café. *Cenicafe*, 53(9), 33.
- Cervantes, C., Espino, A., Acevedo, F., León, I., Rivera, M., Avila, M., Wróbel, K., Wróbel, K., Gutiérrez, J. F., Rodríguez, J. S., & Moreno, R. (2006). Interacciones microbianas con metales pesados. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 203–210.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17578093>
- Cervantes, J., Orihuela, R., & Rutiaga, J. (2017). Acerca del desarrollo y control de microorganismos en la fabricación de papel. *Conciencia Tecnológica*, 1(54), 54–58.
<https://www.redalyc.org/jatsRepo/944/94454631001/html/index.html>
- Chang, H. (2020). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos mediada por *Pseudomonas* spp. en biorreactores. *UNAS*, 62.
file:///C:/Users/USER/Downloads/TS_IWCH_2020.pdf
- Chellaiah, E. (2018). Cadmium (heavy metals) bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Applied Water Science*, 8(6), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0796-5>
- Chiriví, J., Fajardo, C., Gómez, L., & Delgado, S. (2019). *Revisión y panorama nacional de la biorremediación microbiana*.
- Constitución de la República del Ecuador. (2021). Tercer Suplemento del Registro Oficial 377 - Constitución de la República del Ecuador. In *Registro Oficial No. 449* (Issue 449).
file:///C:/Respaldo/TITULACION/REFERENCIAS/CONSTITUCION_REPUBLICA_ECUA

- Cota, K., Nuñez, J., Delgado, M., & Martinez, A. (2018). Biorremediación: Actualidad de conceptos y aplicaciones. *Biotecnia*, 21(1), 37–44. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i1.811>
- Covarrubias, A., & Peña, J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 33, 7–21. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
- Covarrubias, S., García Berumen, J., & Peña Cabriales, J. (2015). El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Acta Universitaria*, 25(NE-3), 40–45. <https://doi.org/10.15174/au.2015.907>
- Cuenca, J., Gallardo, K., & Domínguez, I. (2021). Gestores ambientales en Ecuador: Enfoque a la biorremediación. *Green World Journal*, 04, 21. <https://doi.org/10.53313/gwj42021>
- Cuervo, J. E. (2019). *Efecto del yeso agrícola en suelos acidos de Colombia : control de aluminio tóxico , profundidad y residualidad.*
- Curutchet, G. (2021). Detoxificación de metales pesados. *Una Mirada a La Biorremediación de Metales Pesados*, 391–392.
- Delgado, J., Barba, C., & Boski, T. (2018). Caracterización de residuos mineros y diseño preliminar de un sistema de acopio controlado en el distrito minero de Zaruma-Portovelo (SE Ecuador). *Soceidad Geologica de España*, 135–138. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6768995>
- Díaz, D., & Quintero, A. (2020). Identificación de alternativas de almacenamiento de relaves generados en la minería aurífera en Colombia. *UDA*.
- Domínguez, M., Ruiz, J., Garrido, C., & Perales, J. (2020). Fitorremediación de aguas residuales urbanas de pequeños municipios con microalgas. *Revista Científica ECOCIENCIA*, 7(2).
- Domínguez, M. (2013). La Minería a Gran Escala en Ecuador: Una Perspectiva de Desarrollo. *E+E ESPAÑA Y EMPRESA*, 18.
- Duany, S., Arias, T., Bessy, T., & Rodríguez, D. (2022). Bioadsorbentes no convencionales

- empleados en la remoción de metales pesados. Revisión. *Tecnología Química*, 42(1), 20.
<http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v42n1/2224-6185-rtq-42-01-94.pdf>
- Duca, G., Navarro, A., Rubio, M., & Nuñez, C. (2012). Biorremediación del Niquel (II) en solución acuosa por *Aspergillus niger* GC1. *Boletín Micológico*, 27(Ii), 3–7.
- Durairaj, S. (2014). Bioremediation studies on reduction of heavy metals toxicity. *Pollution Research*, 33(3), 553–558.
- Garzón, J., Rodríguez, J., & Hernández, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Giraud, M., Donati, E., Libdkind, D., & Russo, G. (2013). Levaduras capaces de ser utilizadas en procesos de biorremediación. *CONICET*, 1–5. <https://www.conicet.gov.ar/descubren-levaduras-capaces-de-ser-utilizadas-en-procesos-de-biorremediacion/>
- Gómez, S., Gutiérrez, D., Hernández, A., Hernández, C., Losada, M., & Mantilla, P. (2008). Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos. *Nova*, 6(9), 76. <https://doi.org/10.22490/24629448.398>
- Hernandez, C. (2021). El potencial de la biorremediación. *Herreiana*, 2(2), 30–33.
- Hernández, S. (2011). *Propuesta de un sistema de lixiviación-biosorción con hongos filamentosos para la biorremediación de matrices contaminadas con plomo*.
- Jácome, C., Ballesteros, C., Rea, E., Rea, L., & Poma, P. (2021). Microalgas en el tratamiento de aguas residuales generadas en industrias de curtiembres. *Ciencia y Tecnología*, 14(2), 47–55. <https://doi.org/10.18779/cyt.v14i2.502>
- Juárez, L. (2020). Evaluación de tres hongos con potencial de biorremediación de gasolina magna en presencia de un polvo sorbente oleofílico. *CEIB Centro de Investigación En Biotecnología UAEM*, 67.
- Kacprzak, M., Rosikon, K., Fijalkowski, K., & Grobelak, A. (2014). The effect of trichoderma on heavy metal mobility and uptake by *miscanthus giganteus*, *Salix* sp., *Phalaris arundinacea*, and

- Panicum virgatum. *Applied and Environmental Soil Science*, 2014.
<https://doi.org/10.1155/2014/506142>
- Kluepfel, M., & Lippert, B. (2017). El pH del Suelo. *Agricultura Razonada*, 1(2847), 1–10.
<https://westanalitica.com.mx/wp-content/uploads/2018/08/EL-pH-DEL-SUELO.-CONCEPTOS-FUNDAMENTALES.pdf%0Ahttp://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Analisis/2016/02/11/PH-del-suelo-Un-actor-relevante-en-el-proceso-productivo.aspx?disp=1>
- Loayza, M. (2017). *Eficiencia degradativa de tres especies de hongos benéficos Aspergillus Niger , Thichoderma Harzianum y Paecilomyces Lilacinus sobre suelos contaminados con petroleo en la parroquia San Carlos del cantón Joya de los Sachas* (Vol. 5).
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6586/1/20T00839.pdf>
- López, M., & Morales, O. (2022). Fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados: una revisión. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 12(2), 15–28.
<https://doi.org/10.5377/elhigo.v12i2.15197>
- Lozano, L., Corrales, L., & Trujillo, D. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. In *Nova* (Vol. 19, Issue 36). <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Luján, D. (2019). Uso de *Pseudomonas aeruginosa* en biorremediación. *Biotecnología*, 23(1), 32–42.
- Martínez, H., Hernández, S., Reyes, C., & Vázquez, G. (2013). El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México: problemática y perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(19), 126–146.
- Medaura, M., Guivernau, M., Prenafeta, F., Moreno, X., & Viñas, M. (2013). Micorremediación y su aplicación para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos pesados. *Redisa.Net*, 1–10.
<http://www.redisa.net/doc/artSim2013/TratamientoYValorizacionDeResiduos/MicroremediacionyAplicacionTratamientoSuelosContaminadosconHidrocarburos.pdf>

- Mesa, A., Marín, A., & Calle, J. (2020). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 1–13. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
- Ministerio de Ambiente. (2015). REFORMA TEXTO UNIFICADO LEGISLACION SECUNDARIA, MEDIO AMBIENTE, LIBRO VI, Decreto Ejecutivo 3516, Registro Oficial Suplemento 2, 31/03/2003. *LexisFunder*, 74, 1–75.
- Ministerio del Ambiente. (2016a). *Empresas activas por Dirección Provincial*. Ministerio Del Ambiente. https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/10/Empresas-17_10_2016.pdf
- Ministerio del Ambiente. (2016b). Reglamento Ambiental de Actividades Mineras. *Registro Oficial Suplemento 213*, 54. www.lexis.com.ec
- Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica. (2015). Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente Norma De Calidad Ambiental Del Recurso Suelo Y Criterios De Remediación Para Suelos Contaminados. *Registro Oficial Edición Especial 2 de 31 Marzo 2003*, 341–370. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112181.pdf>
- Monge, O., Valenzuela, J., Acedo, E., Certucha, M., & Almendáriz, F. (2008). Biosorción de cobre en sistema por lote y continuo con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (Clinoptilolita). *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 24(3), 107–115.
- Mora, C. (2019). *Crecimiento de Pseudomona aeruginosa sp en presencia de luz roja, verde y UV*. http://www.repositorio.unadmexico.mx:8080/jspui/bitstream/123456789/194/1/PT2_2091-1_AL12520157.pdf
- Moreno, S., & Ramos, G. (2018). Descontaminación de arsénico, cadmio y plomo en agua por biosorción con *Saccharomyces cerevisiae*. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 21(2), 51. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.155>
- Muñoz, S. (2016). Evaluación de la eficacia de *Trichoderma* sp y *Pseudomona* sp para biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Universidad Politécnica Salesiana*

Sede-Quito, 125.

- Ospina, O., & Cardona, O. (2020). Evaluación de la contaminación por aluminio del agua para consumo humano, región central de Colombia. *INGE CUC*, 17(2), 31–41. <https://revistascientificas.cuc.edu.co/ingecuc/article/view/2548>
- Padilla, F., Sánchez, N., Clahorra, M., & Peña, A. (2021). Levaduras degradadoras de hidrocarburos aromáticos policíclicos. *Revista de Educación Bioquímica (REB)*, 40(4), 178–188.
- Paganini, G. (2022). *Etapas de un proyecto minero*. Revistal Vial. <https://revistavial.com/etapas-de-un-proyecto-minero/>
- Paredes, K., Santillan, L., & Viteri, M. (2021). Capacidad degradadora de *Pseudomonas aeruginosa* frente a metales pesados presentes en muestras de sedimentos del río Chibunga. *Polo De Conocimiento*, 6(5), 1–3. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i5.2675>
- Pérez, L., Martínez, A., Salgado, I., Larrea, C., Cruz, M., Alleyne, S., & Carballo, M. (2021). Biosorción de cinc y cadmio por bacterias inactivadas pretratadas. *Minería y Geología*, 37(1), 90–104. <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=150117750&lang=es&site=ehost-live>
- Pico, J., Martínez, R., Puente, M., Chusán, J., & Narváez, Y. (2017). Aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en serpientes ecuatorianas y su potencial repercusión en accidentes ofídicos. *Revista Ecuatoriana de Ciencia, Tecnología e Innovación En Salud Pública*, 1(2), 18. <https://doi.org/10.31790/inspilip.v1i2.54>
- Pinzón, L. (2019). Metales pesados en los lodos de la cuenca alta del río Bogotá, entre Villapinzón y Chocontá. *Revista Ambiental Agua, Aire y Suelo*, 2, 1–8.
- Poalacin, J. (2015). *Estudio del adecuado crecimiento del hongo Trichoderma harzianum y Trichoderma hamatum en sustrato sólido* (Issue 1).
- Poblet, J. (2019). Propiedades del Bario. *Anales de Química RSEQ*, 115(2), 2019.
- Québec. (2019). *Aspergillus niger*. Pública, INSPQ Centro de Especialización y Referencia En Salud.

- Quispe, G., & Coral, K. (2018). Biosorción de Pb⁺² por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en suelo contaminado por minerales. In *Universidad Nacional del Callao*.
- Reyes, I., González, M., & López, F. (2013). Un análisis del metabolismo de *Aspergillus niger* creciendo sobre un sustrato sólido. *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, 12(1), 41–56.
- Ribeiro, R., Bergamasco, R., Gimenes, M., & Müller, C. (2007). Preparación de membranas para producción de agua potable. *Informacion Tecnologica*, 18(1), 15–22.
<https://doi.org/10.4067/s0718-07642007000100004>
- Rivera, J., Beate, B., Diaz, X., & Ochoa, M. (2021). Artisanal and small gold mining and petroleum production as potential sources of heavy metal contamination in ecuador: A call to action. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(6), 1–16.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18062794>
- Rodríguez, A. (2022). Ecuador, destino de profesores europeos en el mundo de las revoluciones. La Escuela Superior de Minas de Cuenca y la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cuenca, 1934-1941. *Theorein. Revista de Ciencias Sociales.*, 6(01), 85–107.
<https://doi.org/10.26807/theorein.v6i01.73>
- Rodriguez, C., & Vizcardo, E. (2019). *Propuesta de alternativa de filtrado de relaves con geotubos para el modelamiento geotecnico del dique 3 - mina Cerro Lindo*.
- Romero, O., Huerta, M., Huato, D., Angel, M., Domínguez, F., & Arellano, D. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143–151.
- Ruiz, L. (2017). *Pseudomonas aeruginosa : aportacion al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos. Universidad de Barcelona, Tesis doct*, 7–9.
- Santambrosio, E., Ortega, M., & Garibaldi, P. (2009). Tinción y observación de microorganismos. In *Universidad Tecnológica Nacional*.
http://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practico4.pdf

- Santos, E., Vargas, J., Cárdenas, J., & Acosta, I. (2017). Remoción de Arsénico (V) en Solución Acuosa por Biomasa Modificada del Hongo *Aspergillus niger*. *Información Tecnológica*, 28(V), 45–52. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v28n6/art06.pdf>
- Serpa, M. (2017). Remoción de metales pesados Cd y Hg en lodos residuales de la laguna de estabilización secundaria el Espinar-Puno, utilizando vermicomposteo. *ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA QUIMICA*, 1–17. http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/7104/Molleapaza_Mamani_Joel_Neftali.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Slabbinck, B., De Baets, B., Dawyndt, P., & De Vos, P. (2010). Análisis de *Pseudomonas* fitopatógenas usando métodos inteligentes de aprendizaje: Un enfoque general sobre taxonomía y análisis de ácidos grasos dentro del género *Pseudomonas*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(1), 1–16. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000100001&lang=en%0Ahttp://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v28n1/v28n1a1.pdf
- Sobrero, M., Marsili, N., Schenone, A., Manzo, R., & Frisón, L. (2022). Degradacion biológica de glifosato. *South Florida Journal of Environmental and Animal Science*, 2(2), 186–202. <https://doi.org/10.53499/sfjeasv2n2-015>
- Suárez, P., & Reyes, R. (2002). La incorporación de metales pesados en las bacterias y su importancia para el ambiente. *Inteligencia*, 27(4), 5.
- Torres, D., Cumana, A., Torrealba, O., & Posada, D. (2010). Uso del vetiver para la fitorremediación de cromo en lodos residuales de una tenería. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1(2), 175–188. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342010000200005&lang=es
- Torres, Y., Rojas, A., Salas, W., & Hinojosa, R. (2021). Fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados. *REVISTA CIDI. Scientific Reserarch Journal*, 1(1), 25–36. <https://doi.org/10.53942/srjcdi.v1i1.43>
- Vásconez, M., & Torres, L. (2021). Minería en el Ecuador: sostenibilidad y licitud. *Revista Estudios*

- Vázquez, L., Leifsen, E., & Delgado, A. (2017). Minería a gran escala en Ecuador: Conflicto, resistencia y etnicidad. *AIBR Revista de Antropología Iberoamericana*, 12(2), 169–192. <https://doi.org/10.11156/aibr.120205>
- Vega, M., & Hernández, R. (2020). Crecimiento de *Trichoderma* en rastrojo de piña para obtener esporas para uso agrícola. *Nature Genetics*, 47(4), 410–415. <https://doi.org/10.1038/ng.3223>
- Villaveces, C. (2019). *Biorremediación usando el hongo Aspergillus niger en el tratamiento de aguas residuales*. 1–23. <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/32776/VillavecesPalacioCarlosDaniel2019.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vispo, N. (2017). Contaminación por metales pesados en el sur del Ecuador asociada a la actividad minera. *Bionatura*, 2(4), 437–441.

7 Anexos

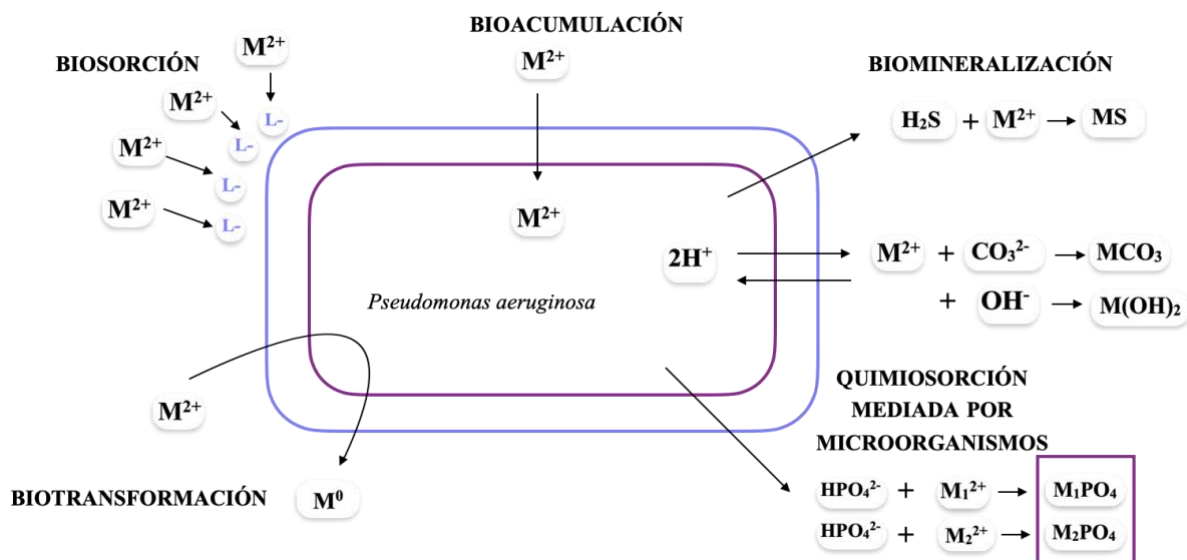
Anexo 1. Enfermedades y daños ambientales ocasionados por metales pesados provenientes de la minería

Compuesto Inorgánico	Enfermedad	Daño ambiental	Referencia
Zinc	Afección en la función reproductiva, metabólica e inmune.	Contaminación de suelos e incremento de pH	<i>Vilcapoma, 2019</i>
Cadmio	Problemas en los huesos, riñón e incluso problemas oncológicos.	Contaminación de cultivos debido a su adhesión al suelo y al agua.	
Mercurio	Dificultad respiratoria, caries dental, fallas renales, muerte.	Daño de suelos y aguas, alterando el ecosistema de sus organismos.	
Arsénico (III)(V)	Irritación estomacal, daño en la piel, acción como agente cancerígeno.	Altera el metabolismo de plantas alterando el desarrollo de las mismas.	
Cromo (0)(III)(VI)	Problemas intestinales, gástricos y hepáticos.	Contaminación de fuentes hídricas.	<i>Covarrubias & Peña, 2017</i>
Plomo	Falla renal, disminución de fertilidad, daño neuronal.	Contaminación atmosférica.	
Azufre	Patologías como: asma, dermatitis. Infecciones en el corazón.	Contaminación de suelos y cadenas tróficas alimentarias.	<i>León, 2019</i>
Cadmio	Cáncer, diarreas, dispepsias, daños del sistema respiratorio, circulatorio y nervioso central.	Acidez del suelo, daño en cultivos y reducción metabólica de las plantas.	<i>Pérez-Bou et al., 2021</i>
Cromo (VI) (III)	Irritación del sistema respiratorio y la función mecánica de los ojos. Irritación de las fosas nasales y sangrado de ésta.	Contaminación de aguas y suelos por la exposición del compuesto.	<i>Molina et al., 2010</i>
Plomo	Afecciones del sistema nervioso central, los riñones, sistema cardiovascular.	Contaminación del aire y por consiguiente del suelo mediante la lluvia. Contaminación de cultivos	
Aluminio	Neuropatologías, daños neuroquímicos y genotóxicos.	Considerado no esencial para los organismos vivos siendo completamente tóxicos alterando su entorno natural.	<i>Ospina & Cardona, 2020</i>

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

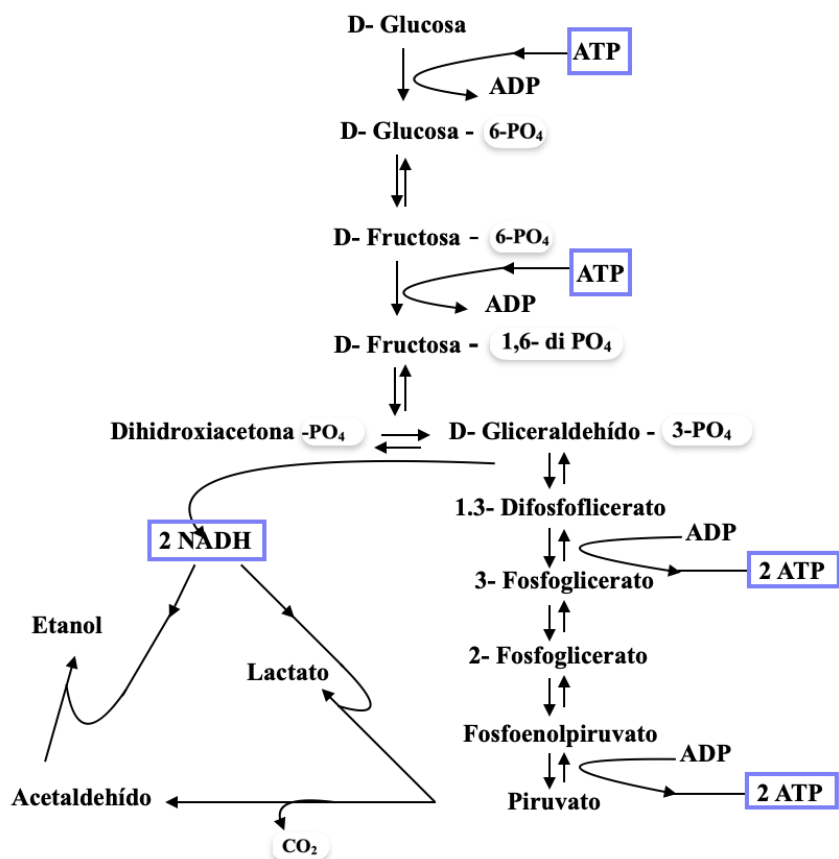
Anexo 2. Metabolismo de *P. aeruginosa*, *T. harzianum*, *A. niger*

Vía de acción con metales tomada por *Pseudomonas aeruginosa*.



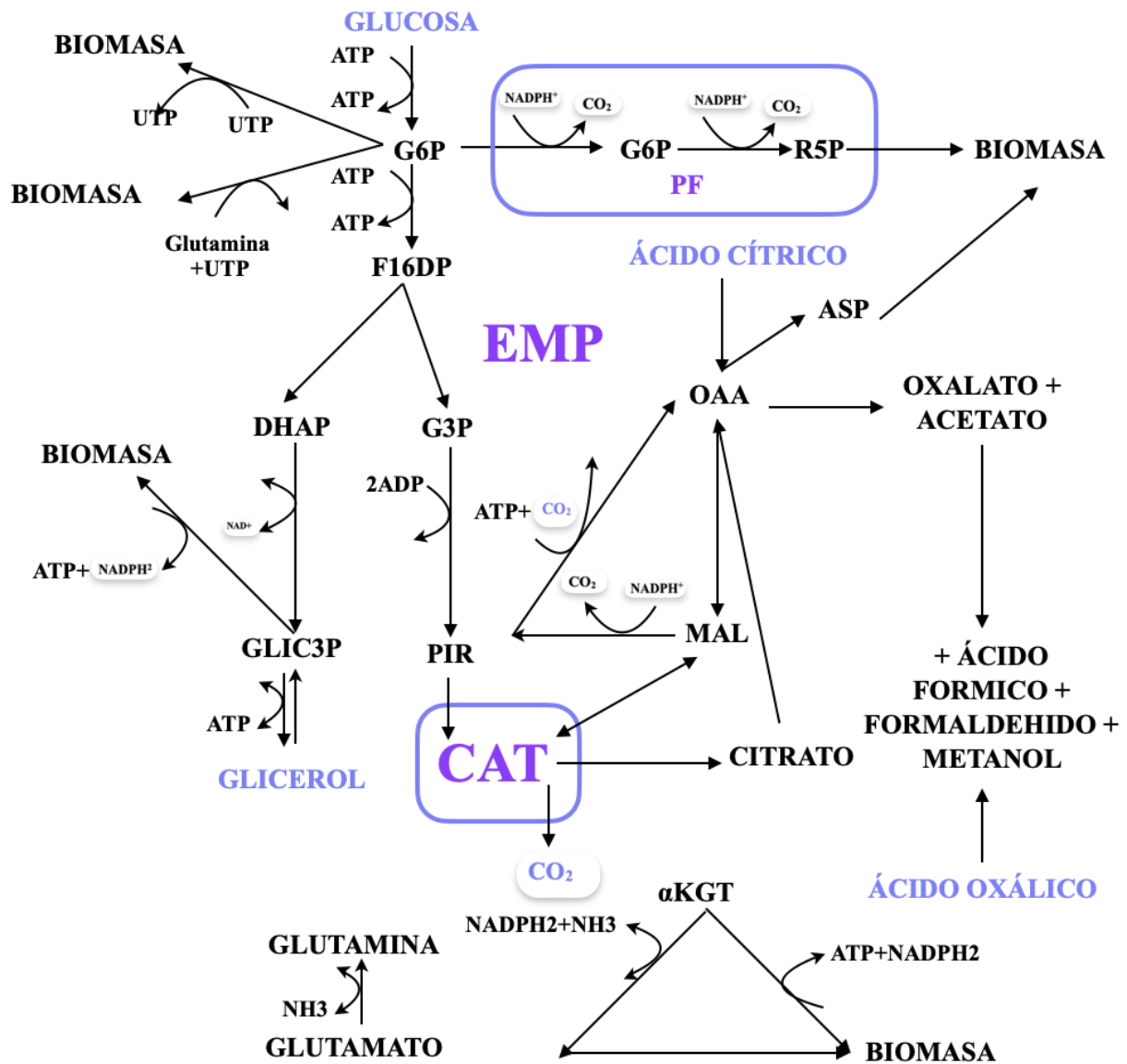
Fuente: (Autoras, 2023)

Vía glucolítica de *Trichoderma harzianum*



Fuente: (Arrieta, 2019)

Vía de transporte de compuestos dentro de *Aspergillus niger*



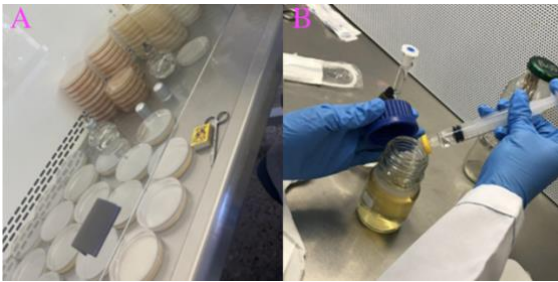
Fuente: (Santos et al, 2017)

Anexo 3. Criterios Calidad de Suelo. Norma de calidad Ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados del libro VI Anexo 2.

Sustancia	Unidades	Suelo
Parámetros Generales		
Conductividad	mmhos/cm	2
pH		6 a 8
Relación de Adsorción de Sodio (Índice SAR)		4*
Parámetros Inorgánicos		
Arsénico (inorgánico)	mg/kg	5
Azufre (elemental)	mg/kg	250
Bario	mg/kg	200
Boro (soluble en agua caliente)	mg/kg	1
Cadmio	mg/kg	0.5
Cobalto	mg/kg	10
Cobre	mg/kg	30
Cromo Total	mg/kg	20
Cromo VI	mg/kg	2.5
Cianuro (libre)	mg/kg	0.25
Estaño	mg/kg	5
Flúor (total)	mg/kg	200
Mercurio	mg/kg	0.1
Molibdeno	mg/kg	2
Níquel	mg/kg	20
Plomo	mg/kg	25
Selenio	mg/kg	1
Vanadio	mg/kg	25
Zinc	mg/kg	60
Parámetros Orgánicos		
Benceno	mg/kg	0.05
Cloro benceno	mg/kg	0.1
Etilbenceno	mg/kg	0.1
Estireno	mg/kg	0.1
Tolueno	mg/kg	0.1
Xileno	mg/kg	0.1
PCBs	mg/kg	0.1
Clorinados Alifáticos (cada tipo)	mg/kg	0.1
Cloro bencenos (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hexaclorobenceno	mg/kg	0.1
hexaclorociclohexano	mg/kg	0.01
Fenólicos no clorinados (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorofenoles (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) cada tipo	mg/kg	0.1

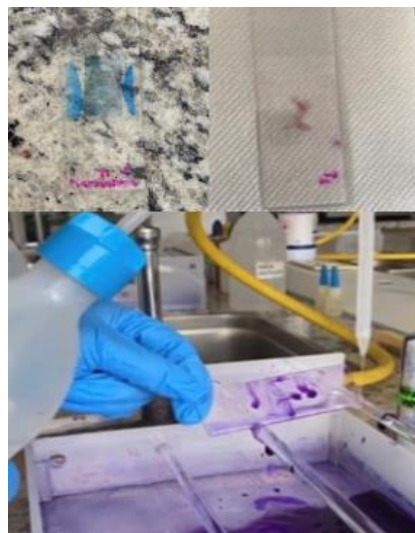
Fuente: (Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica, 2015)

Anexo 4. Fases durante el estudio

Fase de campo	
 Georreferenciación. Zona de obtención de muestras.	 Preparación de las muestras por analizar
 Muestras de lodos enviadas a GRUNTEC.	 Disposición de repetición y tratamientos
Fase de laboratorio	
 A. Elaboración de medios de cultivos B. Adición del antibiótico en el medio correspondiente	 Diluciones seriadas



Siembra de muestras obtenidas



Método de tinción GRAM



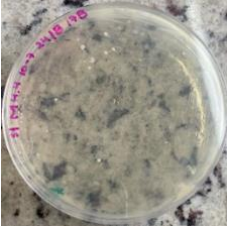
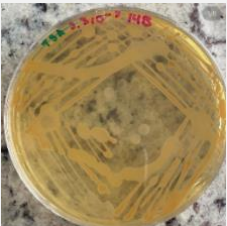
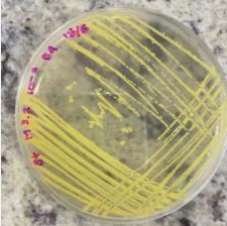
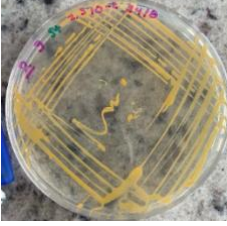
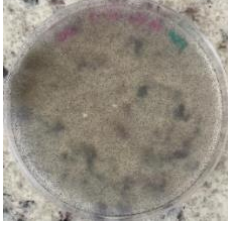
Microcultivo de hongos



Activación
de perlas ATCC P. aeruginosa

Fuente: (Las autoras, 2023)

Anexo 5. Morfología de posibles microorganismos en las muestras de lodos de relave

Bacterias		Hongos	
Fotografía	Caracterización	Fotografía	Caracterización
	Elevación: Convexa Forma: Circular Margen: Entero Color: Blanco		Textura: Arenosa Superficie: Plana Reverso: Verde Color: Verde
	Elevación: Plana Forma: Irregular Margen: Entero Color: Marrón		Textura: Aterciopelada Superficie: Rugosa Reverso: Amarillo Color: Verde con bordes blancos
	Elevación: Convexa Forma: Filamentoso Margen: Filamentoso Color: Blanco		Textura: Suave Superficie: Elevada con pliegues Reverso: Blanco Color: Gris
	Elevación: Convexa Forma: Circular Margen: Entero Color: Amarillo		Textura: Arenosa Superficie: Lisa Reverso: Blanco Color: Gris
	Elevación: Convexa Forma: Irregular Margen: Entero Color: Naranja		Textura: Arenosa Superficie: Filamentosa Micelio: Lanoso Color: Gris

Elaborado por: (Las autoras, 2023)

Anexo 6. Conteo de esporas

	<i>Trichoderma harzianum</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Factor dilución	# Esporas	Esporas /mL (UFC/ mL)	# Esporas	Esporas/mL (UFC/ mL)	# Esporas	Esporas/mL (UFC/ mL)
10⁰		Incontables		Incontables		Incontables
10⁻¹	1254	2.82 x 10 ⁸	128	2.88 x 10 ⁷		Incontables
10⁻²	351	7.90 x 10 ⁶	53	1.19 x 10 ⁶		Incontables
10⁻³	217	4.88 x 10 ⁵	18	4.05 x 10 ⁴	608	1.37 x 10 ⁴
10⁻⁴	115	2.59 x 10 ⁴	10	2.25 x 10 ³	574	1.29 x 10 ³
10⁻⁵	25	5.63x x 10 ²	3	6.75 x 10 ¹	308	6.93 x 10 ¹
10⁻⁶	0	0	0	0	141	3.17

Fuente: (Las autoras, 2023)

Anexo 7. Resultados de concentración de metales pesados al inicio y final

Análisis inicial de concentración de metales pesados



Cliente: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel
Atn: Estefany Estrada

Proyecto: Análisis en lodos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 17 Ago 2022

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 24 Ago 2022

Identificación Gruentec: 2208440-S001

Fecha de Emisión del Informe: 30 Ago 2022

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS



Identificación de la muestra, cliente b):	MUESTRA 1 LODO DE RELAVE	Fecha Medición	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	15 Ago 2022		
No. Reporte Gruentec:	2208440-S001		

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	702	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	6.1	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	206	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	17708	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	243	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	27	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	2484	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	3105	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1805	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	7000	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Identificación de la muestra, cliente b):	MUESTRA 2 LODO DE RELAVE	Fecha Medición	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	15 Ago 2022		
No. Reporte Gruentec:	2208440-S003		

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1495	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	8.3	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	217	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	11853	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	389	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	17	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	4503	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	1713	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	2408	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	3831	23 Ago 2022	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Análisis final de concentración de metales pesados



Ciente: UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA
Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel

Atn: Ing. Laura Huachi

Proyecto: Análisis en todos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 21 Jun 2023

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 28 Jun 2023

Identificación Gruentec: 2306311-LOD007

Fecha de Emisión del Informe: 29 Jun 2023

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS



Identificación de la muestra, cliente b):	MUESTRA TESTIGO	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 .	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023		Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	
No. Reporte Gruentec:	2306311-LOD007			
Parámetros realizados en el Laboratorio				
Metales en peso seco				
Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	5134	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	12	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	188	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	32623	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	49	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	58	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	3926	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	7023	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1849	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	8003	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Identificación de la muestra, cliente b):	T1 RI	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306309-LOD001			
Parámetros realizados en el Laboratorio				
Metales en peso seco				
Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1326	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	7.7	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	159	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	25568	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	943	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	19	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	10620	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	1601	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1916	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	2841	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Acreditaciones

(1) Servicio de Acreditación Ecuatoriano: Certificado No. SAE LEN 05-008

Notas y Aclaraciones

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

Lugar de ejecución del Análisis: Todos los análisis presentados fueron realizados en la Matriz Quito, a excepción de los marcados con la letra (s)

N/A - No Aplica

a) Los equipos utilizados en los ensayos presentados cuentan con sus debidos certificados de calibración o sus homólogos, solicitar al Laboratorio en caso de requerirlos

b) Información proporcionada por el cliente, Gruentec no se responsabiliza por la veracidad de la misma.

c) La muestra presentó condiciones adecuadas de preservación y conservación. Llegó en envases adecuados para proteger sus características.

d) Gruentec cumple con todas las condiciones ambientales requeridas para los ensayos, en caso de requerirlas, solicitar.

Porcentaje de incertidumbre por método o analito (u)

Metales = 28%;

Valor e interpretación de la Incertidumbre por método o analito (U)

El valor de la incertidumbre de cada medición (U) se determina mediante la fórmula $U=u/100\%C$, donde C es el valor de la medición.

El rango de incertidumbre obtenido se encuentra en el intervalo $C\pm U$

ISABEL
LAURA
ESTRELLA
A SORIA

Firmado digitalmente por ISABEL LAURA ESTRELLA SORIA DN: cn=ISABEL LAURA ESTRELLA SORIA, o=SECURITY DATA S.A., 2, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION Motivo: Estoy aprobando este documento Ubicación: Fecha: 2023-06-29 17:06:05-05

Ing. Isabel Estrella
Gerente de Operaciones

Cliente: UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA
Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel

Atn: Ing. Laura Huachi

Proyecto: Análisis en lodos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 21 Jun 2023

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 28 Jun 2023

Identificación Gruentec: 2306309-LOD002

Fecha de Emisión del Informe: 29 Jun 2023

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS


Servicio de
Acreditación Ecuatoriano
Acreditación Nº SAE LEN 05-008
LABORATORIO DE ENSAYOS

Identificación de la muestra, cliente b):	T1 RII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306309-LOD002			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1334	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	8.0	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	174	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	23664	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	644	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	19	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	8964	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	1500	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	2182	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	2746	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Identificación de la muestra, cliente b):	T1 RIII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306309-LOD003			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1087	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	11	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	140	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	21281	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	425	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	20	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	7131	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	1549	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	2095	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Acreditaciones

(1) Servicio de Acreditación Ecuatoriano: Certificado No. SAE LEN 05-008

Notas y Aclaraciones

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

Lugar de ejecución del Análisis: Todos los análisis presentados fueron realizados en la Matriz Quito, a excepción de los marcados con la letra (s)

N/A - No Aplica

a) Los equipos utilizados en los ensayos presentados cuentan con sus debidos certificados de calibración o sus homólogos, solicitar al Laboratorio en caso de requerirlos

b) Información proporcionada por el cliente, Gruentec no se responsabiliza por la veracidad de la misma.

c) La muestra presentó condiciones adecuadas de preservación y conservación. Llegó en envases adecuados para proteger sus características.

d) Gruentec cumple con todas las condiciones ambientales requeridas para los ensayos, en caso de requerirlas, solicitar.

Porcentaje de incertidumbre por método o analito (u)

Metales = 28%;

Valor e interpretación de la Incertidumbre por método o analito (U)

El valor de la incertidumbre de cada medición (U) se determina mediante la fórmula $U=u/100^{\circ}C$, donde C es el valor de la medición.

El rango de incertidumbre obtenido se encuentra en el intervalo $C \pm U$

ISABEL
LAURA
ESTRELLA
A SORIA

Firmado digitalmente
por: ISABEL LAURA
ESTRELLA SORIA
DN: cn=ISABEL LAURA
ESTRELLA SORIA, c=EC
o=SECURITY DATA S.A. 2
o=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE
INFORMACION
Motivo: Estoy aprobando
este documento
Ubicación:
Fecha: 2023.06.29
17:06:05.00

Ing. Isabel Estrella
Gerente de Operaciones

Cliente: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel

Atn: Ing. Laura Huachi

Proyecto: Análisis en lodos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 21 Jun 2023

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 28 Jun 2023

Identificación Gruentec: 2306309-LOD004

Fecha de Emisión del Informe: 29 Jun 2023

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS



Identificación de la muestra, cliente b):	T2 RI	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306309-LOD004			
Parámetros realizados en el Laboratorio				
Metales en peso seco				
Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1857	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	12	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	217	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	18981	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	321	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	36	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	4735	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	2697	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	2617	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	3180	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Identificación de la muestra, cliente b):	T2 RII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097-A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306309-LOD005			
Parámetros realizados en el Laboratorio				
Metales en peso seco				
Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	2125	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	8.6	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	254	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	17742	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	386	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	46	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	4985	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	2856	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	2813	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Acreditaciones

(1) Servicio de Acreditación Ecuatoriano: Certificado No. SAE LEN 05-008

Notas y Aclaraciones

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

Lugar de ejecución del Análisis: Todos los análisis presentados fueron realizados en la Matriz Quito, a excepción de los marcados con la letra (s)

N/A - No Aplica

a) Los equipos utilizados en los ensayos presentados cuentan con sus debidos certificados de calibración o sus homólogos, solicitar al Laboratorio en caso de requerirlos

b) Información proporcionada por el cliente, Gruentec no se responsabiliza por la veracidad de la misma.

c) La muestra presentó condiciones adecuadas de preservación y conservación. Llegó en envases adecuados para proteger sus características.

d) Gruentec cumple con todas las condiciones ambientales requeridas para los ensayos, en caso de requerirlas, solicitar.

Porcentaje de incertidumbre por método o analito (u)

Metales = 28%;

Valor e interpretación de la Incertidumbre por método o analito (U)

El valor de la incertidumbre de cada medición (U) se determina mediante la fórmula $U=u/100^{\circ}C$, donde C es el valor de la medición.

El rango de incertidumbre obtenido se encuentra en el intervalo $C\pm U$

ISABEL
LAURA
ESTRELLA
A SORIA

Firmado digitalmente
por ISABEL LAURA
ESTRELLA SORIA
DN: cn=ISABEL LAURA
ESTRELLA SORIA, o=EC
o=SECURITY DATA S.A.,
c=ENTIDAD DE
CERTIFICACIÓN DE
INFORMACIÓN
Motivo Estoy aprobando
este documento
Ubicación:
Fecha 2023-06-29
17:08:00.00

Ing. Isabel Estrella
Gerente de Operaciones

Cliente: UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA
Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel

Atn: Ing. Laura Huachi

Proyecto: Análisis en lodos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 21 Jun 2023

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 28 Jun 2023

Identificación Gruentec: 2306309-LOD006

Fecha de Emisión del Informe: 29 Jun 2023

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS



Identificación de la muestra, cliente b):	T2 RIII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306309-LOD006			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	2380	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	8.6	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	226	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	19619	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	385	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	38	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	7111	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	2923	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	2483	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	3261	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Identificación de la muestra, cliente b):	T3 RI	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306309-LOD007			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1337	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	4.1	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	146	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	11300	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	752	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	7.8	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	7862	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	684	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	2180	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	957	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Acreditaciones

(1) Servicio de Acreditación Ecuatoriano: Certificado No. SAE LEN 05-008

Notas y Aclaraciones

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

Lugar de ejecución del Análisis: Todos los análisis presentados fueron realizados en la Matriz Quito, a excepción de los marcados con la letra (s)

N/A - No Aplica

a) Los equipos utilizados en los ensayos presentados cuentan con sus debidos certificados de calibración o sus homólogos, solicitar al Laboratorio en caso de requerirlos

b) Información proporcionada por el cliente, Gruentec no se responsabiliza por la veracidad de la misma.

c) La muestra presentó condiciones adecuadas de preservación y conservación. Llegó en envases adecuados para proteger sus características.

d) Gruentec cumple con todas las condiciones ambientales requeridas para los ensayos, en caso de requerirlas, solicitar.

Porcentaje de incertidumbre por método o analito (u)

Metales = 28%;

Valor e interpretación de la Incertidumbre por método o analito (U)

El valor de la incertidumbre de cada medición (U) se determina mediante la fórmula $U=u/100 \cdot C$, donde C es el valor de la medición.

El rango de incertidumbre obtenido se encuentra en el intervalo $C \pm U$

ISABEL
LAURA
ESTRELLA
A SORIA

Firmado digitalmente
por ISABEL LAURA
ESTRELLA A SORIA
DN: cn=ISABEL LAURA
ESTRELLA A SORIA, o=EC
u=SECURITY DATA S.A. 2
o=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE
INFORMACION
Motivo: Estoy aprobando
este documento
Ubicación:
Fecha: 2023.06.29
17:11:05.00

Ing. Isabel Estrella
Gerente de Operaciones

Cliente: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel

Atn: Ing. Laura Huachi

Proyecto: Análisis en lodos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 21 Jun 2023

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 28 Jun 2023

Identificación Gruentec: 2306311-LOD001

Fecha de Emisión del Informe: 29 Jun 2023

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS



Identificación de la muestra, cliente b):	T3 RII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306311-LOD001			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1651	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	5.6	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	148	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	17825	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	108	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	5.4	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	11404	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	960	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1734	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	1381	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Identificación de la muestra, cliente b):	T3 RIII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306311-LOD002			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1693	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	2.0	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	154	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	25873	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	65	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	9.1	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	18730	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	1533	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1749	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	1962	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Acreditaciones

(1) Servicio de Acreditación Ecuatoriano: Certificado No. SAE LEN 05-008

Notas y Aclaraciones

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

Lugar de ejecución del Análisis: Todos los análisis presentados fueron realizados en la Matriz Quito, a excepción de los marcados con la letra (s)
N/A - No Aplica

a) Los equipos utilizados en los ensayos presentados cuentan con sus debidos certificados de calibración o sus homólogos, solicitar al Laboratorio en caso de requerirlos

b) Información proporcionada por el cliente, Gruentec no se responsabiliza por la veracidad de la misma.

c) La muestra presentó condiciones adecuadas de preservación y conservación. Llegó en envases adecuados para proteger sus características.

d) Gruentec cumple con todas las condiciones ambientales requeridas para los ensayos, en caso de requerirlas, solicitar.

Porcentaje de incertidumbre por método o analito (u)

Metales = 28%;

Valor e interpretación de la Incertidumbre por método o analito (U)

El valor de la incertidumbre de cada medición (U) se determina mediante la fórmula $U=u/100 \times C$, donde C es el valor de la medición.

El rango de incertidumbre obtenido se encuentra en el intervalo $C \pm U$

ISABEL
LAURA
ESTRELLA
A SORIA

Firmado digitalmente por
ISABEL LAURA ESTRELLA SORIA
DN: cn=ISABEL LAURA ESTRELLA SORIA, c=EC, o=SECURITY DATA S.A., 2.5.4.97=ENTIDAD DE CERTIFICACIÓN DE INFORMACIÓN
Motivo: Estoy aprobando este documento
Ubicación:
Fecha: 2023-06-29 17:11:05-05

Ing. Isabel Estrella
Gerente de Operaciones

Ciente: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel

Atn: Ing. Laura Huachi

Proyecto: Análisis en lodos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 21 Jun 2023

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 28 Jun 2023

Identificación Gruentec: 2306311-LOD003

Fecha de Emisión del Informe: 29 Jun 2023

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS



Identificación de la muestra, cliente b):	T4 RI	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306311-LOD003			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	2251	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	10	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	194	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	32508	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	48	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	27	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	10408	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	4606	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1710	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	6050	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Identificación de la muestra, cliente b):	T4 RII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306311-LOD004			

Parámetros realizados en el Laboratorio

Metales en peso seco

Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	2321	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	11	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	183	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	26705	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	53	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	24	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	6251	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	4070	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1710	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	4775	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Acreditaciones

(1) Servicio de Acreditación Ecuatoriano: Certificado No. SAE LEN 05-008

Notas y Aclaraciones

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

Lugar de ejecución del Análisis: Todos los análisis presentados fueron realizados en la Matriz Quito, a excepción de los marcados con la letra (s)

N/A - No Aplica

a) Los equipos utilizados en los ensayos presentados cuentan con sus debidos certificados de calibración o sus homólogos, solicitar al Laboratorio en caso de requerirlos

b) Información proporcionada por el cliente, Gruentec no se responsabiliza por la veracidad de la misma.

c) La muestra presentó condiciones adecuadas de preservación y conservación. Llegó en envases adecuados para proteger sus características.

d) Gruentec cumple con todas las condiciones ambientales requeridas para los ensayos, en caso de requerirlas, solicitar.

f) Observaciones durante el Análisis; f1) La muestra tiene duplicado

Porcentaje de incertidumbre por método o analito (u)

Metales = 28%;

Valor e interpretación de la Incertidumbre por método o analito (U)

El valor de la incertidumbre de cada medición (U) se determina mediante la fórmula $U=u/100^{\circ}C$, donde C es el valor de la medición.

El rango de incertidumbre obtenido se encuentra en el intervalo $C \pm U$

ISABEL
LAURA
ESTRELLA
A SORIA

Firmado digitalmente por ISABEL LAURA ESTRELLA SORIA DN: cn=ISABEL LAURA ESTRELLA SORIA, o=SECURITY DATA S.A. 2, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACIÓN DE INFORMACIÓN, email=Estrella@secdi.com.ec, c=Ecuador, Fecha: 2023.06.29 17:12:05.00

Ing. Isabel Estrella
Gerente de Operaciones

Cliente: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson -Quito
Telf: 3962800

Actividad principal del cliente: Educación de tercer nivel

Atn: Ing. Laura Huachi

Proyecto: Análisis en lodos (relave de minería)

Fecha de Recepción: 21 Jun 2023

Tipo de Muestra b): 1 Muestra de lodo

Fecha de Término de Análisis: 28 Jun 2023

Identificación Gruentec: 2306311-LOD005

Fecha de Emisión del Informe: 29 Jun 2023

INFORME
de RESULTADOS
de ANÁLISIS



Identificación de la muestra, cliente b):	T4 RIII	Fecha Medición	Tabla 1. Anexo 2 . Acuerdo Ministerial 097- A TULSMA Criterios de Calidad del Suelo	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Fecha de Muestreo b):	21 Jun 2023			
No. Reporte Gruentec:	2306311-LOD005			
Parámetros realizados en el Laboratorio				
Metales en peso seco				
Aluminio mg/kg ⁽¹⁾	1966	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Antimonio mg/kg ⁽¹⁾	2.9	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Arsénico mg/kg ⁽¹⁾	144	28 Jun 2023	12	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Azufre mg/kg ⁽¹⁾	18631	28 Jun 2023	250	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Bario mg/kg ⁽¹⁾	84	28 Jun 2023	200	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cadmio mg/kg ⁽¹⁾	12	28 Jun 2023	0.5	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Calcio mg/kg ⁽¹⁾	7484	28 Jun 2023	N/A	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Cobre mg/kg ⁽¹⁾	1884	28 Jun 2023	25	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg ⁽¹⁾	1601	28 Jun 2023	19	EPA 6020 B / MM-AG/S-39
Zinc mg/kg ⁽¹⁾	2440	28 Jun 2023	60	EPA 6020 B / MM-AG/S-39

Acreditaciones

(1) Servicio de Acreditación Ecuatoriano: Certificado No. SAE LEN 05-008

Notas y Aclaraciones

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

Lugar de ejecución del Análisis: Todos los análisis presentados fueron realizados en la Matriz Quito, a excepción de los marcados con la letra (s)

N/A - No Aplica

a) Los equipos utilizados en los ensayos presentados cuentan con sus debidos certificados de calibración o sus homólogos, solicitar al Laboratorio en caso de requerirlos

b) Información proporcionada por el cliente, Gruentec no se responsabiliza por la veracidad de la misma.

c) La muestra presentó condiciones adecuadas de preservación y conservación. Llegó en envases adecuados para proteger sus características.

d) Gruentec cumple con todas las condiciones ambientales requeridas para los ensayos, en caso de requerirlas, solicitar.

Porcentaje de incertidumbre por método o analito (u)

Metales = 28%;

Valor e interpretación de la Incertidumbre por método o analito (U)

El valor de la incertidumbre de cada medición (U) se determina mediante la fórmula $U=u/100\%$, donde C es el valor de la medición.

El rango de incertidumbre obtenido se encuentra en el intervalo $C\pm U$

ISABEL
LAURA
ESTRELLA
A SORIA

Firmado digitalmente por
ISABEL LAURA ESTRELLA
SORIA
DN: cn=ISABEL LAURA
ESTRELLA SORIA, o=SEC-
URITY DATA S.A. 2
o=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE
INFORMACION
Móvil Estoy aprobando este
documento
Ubicación:
Fecha: 2023.06.29 17:13:45.00

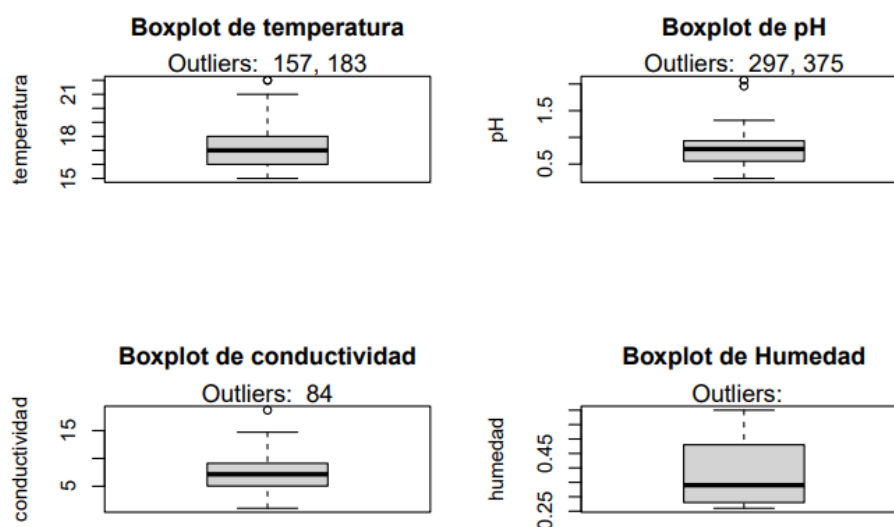
Ing. Isabel Estrella
Gerente de Operaciones

Anexo 8. Datos de variables pH, Conductividad (mS/cm), Humedad (%) y Temperatura (°C)

pH			
Tratamientos	I	II	III
T0	1.59	1.39	1.72
T1	2.17	1.84	2.08
T2	3.03	2.79	2.79
T3	2.19	2.13	2.42
T4	2.30	2.36	2.63
Conductividad (mS/cm)			
Tratamientos	I	II	III
T0	7.54	9.11	9.50
T1	7.66	8.79	7.51
T2	6.20	5.64	6.79
T3	5.89	5.32	4.96
T4	6.80	7.09	5.36
Humedad %			
Tratamientos	I	II	III
T0	26.19	27.12	26.73
T1	40.73	41.04	41.19
T2	40.81	41.12	41.23
T3	40.92	41.08	41.15
T4	41.08	41.00	41.23
Temperatura (°C)			
Tratamientos	I	II	III
T0	16.88	16.85	17.00
T1	17.04	17.15	17.04
T2	17.16	17.08	17.28
T3	17.08	17.23	17.19
T4	17.31	16.96	17.35

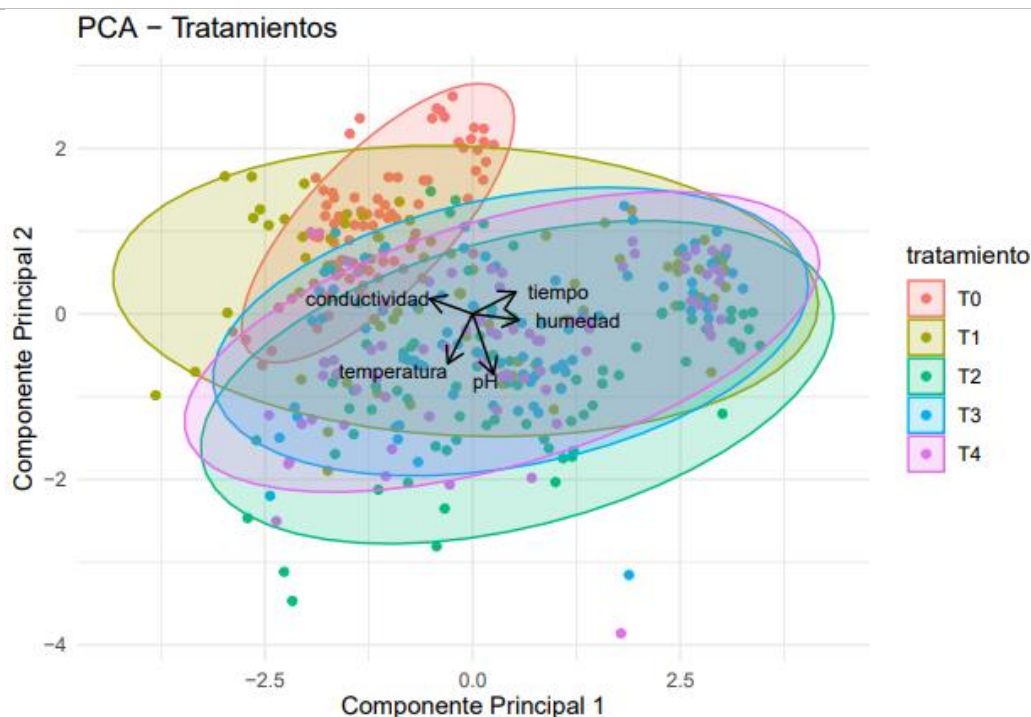
Fuente: (Las autoras, 2023)

Anexo 9. Gráficas de Análisis estadístico



Para el Análisis estadístico en Boxplot por cuartiles, los resultados estadísticos se realizó un análisis exploratorio de datos donde se observó que los datos son de carácter continuo por lo que se optó por un modelo paramétrico, puesto que fueron tomados de un diseño completamente al azar y estos están correlacionados temporalmente.

El modelo generalizado mixto nos permitió realizar un análisis más flexible al considerar tanto el efecto aleatorio como la correlación temporal, con lo que se obtuvo estimaciones más precisas y se logró inferencias adecuadas.



La gráfica en clustering determina como los tratamientos 2,3 y 4 aumenta temperatura, humedad y pH a lo largo del tiempo y disminuye la conductividad, mientras que el tratamiento T1 aumenta la conductividad lo que indica que los electrolitos y metales pueden estar aun presentes o concentrados, aunque también es posible que esto se deba a la variabilidad de las unidades experimentales.