

**BIORREMEDIACIÓN COMO ESTRATEGIA PARA LA RECUPERACIÓN DE
SUELOS MINEROS CONTAMINADOS CON MERCURIO, CADMIO Y PLOMO
(Hg, Cd, Pb)**



IVETH PAOLA LONDOÑO OLIVERA

**GRUPO DE BIOTECNOLOGIA
GRUPO DE AGUAS, QUÍMICA APLICADA Y AMBIENTAL**

**DIANA MARCELA OSSA HENAO, PhD.
Director.**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE QUÍMICA**

**MONTERÍA
2020**

Nota de aceptación

Director del Trabajo de Grado
DIANA MARCELA OSSA HENAO, PhD

Jurado
DORA HELENA NORIEGA CABRIA

Jurado
ERICK LÓPEZ BARBOZA

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por bendecir mí vida, por darme la fuerza y la sabiduría necesaria para culminar este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados. A mis padres Daniel Londoño Bedoya y Marta Olivera Espinosa, a mi sobrino Josué Rocha Londoño, a mis hermanas Wendy Londoño y Nataly Londoño, por sus consejos, por darme ánimos y motivarme para salir siempre adelante, por su esfuerzo y sacrificio.

Agradezco a mi directora Diana Ossa Henao por su tiempo, rigor, apoyo, y guía que me han brindado en este trabajo. A mis profesores del Departamento de química, por toda la dedicación y esmero en enseñarme. A mis compañeros y amigos, Daniela Tano, Camila Tamayo, Carlos Madera, Ángela González, Karina Causil, Thalía Pinedo, Karen Hernández, por su apoyo personal y humano, gracias por el tiempo y premiarme con su amistad.

De igual forma agradezco a las personas que abrieron sus puertas para alojarme en Montería, a mis compañeros de pensión que siempre estaban dispuestos a sacar una sonrisa. Gracias a mi pareja sentimental Ariel Bustamante, por la paciencia, motivación, consejos y ánimos.

A todos muchas gracias. Esto es de ustedes y por ustedes.

ABREVIATURAS

UPME: Unidad de Planeación Minero Energética.

CEPAL: Comisión Económica para América Latina y el Caribe.

PNUMA: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.

MTs: Metalotioneínas (metaloproteína) ricas en cisteína tienen la capacidad de unirse a metales pesados a través de los grupos tiol (-SH) de sus residuos de cisteína

ATPasa: protón ATPasa, enzima perteneciente a la familia de hidrolasas, específicamente aquellos que actúan en anhídridos de ácido para catalizar el movimiento transmembrana de sustancias.

Eh: potencial Redox, tendencia de las especies químicas en una reacción de óxido reducción.

CIC: capacidad de intercambio catiónico, capacidad que tiene un suelo para retener y liberar iones positivos, gracias a su contenido en arcillas y materia orgánica.

AMD: drenaje ácido de minas (*acid mine drainage*), es la formación de aguas ácidas, ricas en sulfatos y metales pesados.

MENA: mineral o roca el cual contiene el elemento de interés en extracción minera.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. DESARROLLO DEL TEMA	4
CAPITULO I. EXPLOTACIÓN MINERA EN COLOMBIA/ DEGRADACIÓN DEL SUELO POR METALES PESADOS	4
1.1 EL SUELO	5
1.2 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO	5
1.3 COMPONENTE BIOLÓGICO DEL SUELO	7
1.4 MINERIA EN COLOMBIA	8
1.5 TITULOS MINEROS EN COLOMBIA	9
1.6 MINERIA EN AMERICA LATINA	10
1.6.1 CONVENIO DE MINIMATA SOBRE EL MERCURIO	10
1.6.2 LEY 1658 DE 2013 PARA EL USO DEL MERCURIO EN COLOMBA	11
1.7 METALES PESADOS: MERCURIO, CADMIO Y PLOMO.	11
1.7.1 MERCURIO (Hg)	12
1.7.2 CADMIO (Cd)	13
1.7.3 PLOMO (Pb)	14
1.8 PROBLEMAS DE CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS	15
1.9. VULNERABILIDAD DEL SUELO ANTE LOS CONTAMINANTES QUÍMICOS (METALES PESADOS)	16
1.10 CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN COLOMBIA	17
1.10.1 AMALGAMACIÓN CON MERCURIO	18
1.10.2 DRENAJE ÁCIDO DE MINAS	19
1.10.3 CONTAMINACION CON CADMIO Y PLOMO	20
1.11 CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN EL MUNDO	21
1.11.1 METALES PESADOS EN CHINA Y JAPÓN	21
1.11.2 METALES PESADOS EN ESPAÑA	22
1.11.3 METALES PESADOS EN NIGERIA- AFRICA	23
1.12 REMEDIACIÓN DEL SUELO	23
CAPITULO II. ESTRATEGIAS DE REMEDIACIÓN BIOLÓGICA	28
2.1 BIORREMEDIACIÓN	30

2.2 REMEDIACIÓN MICROBIANA	31
2.3 MECANISMOS DE REMEDIACIÓN MICROBIANA	31
2.3.1 BIOSORCIÓN	33
2.3.2 BIOACUMULACIÓN	34
2.3.3 BIOTRANSFORMACIÓN	34
2.3.4 BIOMINERALIZACIÓN	35
2.4 PAPEL DEL operón mer EN LA BIORREMEDIACIÓN	35
2.5 FACTORES QUE AFECTAN LA BIORREMEDIACIÓN	37
2.5.1 FACTORES BIOTICOS	38
2.5.2 FACTORES ABIOTICOS	38
2.5.2.1 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO	38
2.5.2.1.1 pH	38
2.5.2.1.2 TEMPERATURA	39
2.5.2.1.3 POTENCIAL REDOX	40
2.5.4 EFECTO CONTAMINANTES EN LA BIORREMEDIACION	40
2.6 EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA REMEDIACIÓN DEL SUELO	41
2.7 EJEMPLOS PUNTUALES DE MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS	44
2.7.1 BIORREMEDIACIÓN DE METALES POR EXTREMÓFILOS	45
2.7.1.1 EJEMPLOS EN BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS POR EXTERMÓFILOS	46
2.7.2 ACTIANOBACTERIAS Y SU PAPEL EN LA BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS	47
2.7.3 MICROALGAS EN BIORREMEDIACIÓN DE Hg, Cd Y Pb	48
2.7.3.1 MICROALGAS EN LA REMEDIACIÓN DE CADMIO	48
2.7.3.2 MICROALGAS EN LA REMEDIACIÓN DE MERCURIO	50
2.7.3.3 MICROALGAS EN LA REMEDIACION DE PLOMO	51
2.7.4 RIZORREMEDIACIÓN: TECNOLOGÍA COMBINATORIA DE LA BIO / FITORREMEDIACIÓN	52
2.7.4.1 MECANISMOS DE ELIMINACIÓN DE IONES METALICOS	53
2.7.4.2 FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS	53
2.7.4.3 PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS	53

CAPITULO III. AVANCES TECNOLÓGICOS EN LA OPTIMIZACIÓN DE TÉCNICAS DE REMEDIACIÓN	58
3.1 TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN	58
3.1.1 ELECTROQUÍMICA MICROBIANA (MET)	59
3.1.1.1 EJEMPLOS PUNTUALES DEL USO DE ELECTROQUÍMICA MICROBIANA	63
3.1.2 BIOCARBON (BIOCHAR) PARA BIORREMEDIACIÓN	64
3.1.2.1 PREPARACIÓN DE BIOCARBÓN A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS	65
3.1.2.2 EFECTOS DEL USO DE BIOCHAR EN SUELO	67
3.1.2.3 EJEMPLOS PUNTUALES DEL USO DE BIOCARBÓN EN BIORREMEDIACIÓN	68
3.1.3 BACTERIAS DISEÑADAS PARA BIORREMEDIACIÓN	72
3.1.3.1 TECNOLOGÍA DE ADN RECOMBINANTE	72
3.1.3.2 MEZCLA DEL GENOMA BACTERIANO	74
3.1.3.3 USO DE ENZIMAS EN BIORREMEDIACIÓN	75
3.1.3.4 EJEMPLOS PUNTUALES DE LA UTILIZACIÓN DE BACTERIAS DISEÑADAS EN BIORREMEDIACIÓN	78
3.1.4 TECNOLOGÍA DE REMEDIACIÓN MEDIANTE EL USO DE NANOPARTÍCULAS	78
3.1.4.1 INTERACCIÓN NANOPARTÍCULA Y MICROBIO	79
3.1.4.2 NANOBIORREMEDIACIÓN: USO COMBINADO DE NANOPARTÍCULAS Y BIORREMEDIACIÓN	80
3.1.4.3 EJEMPLOS PUNTUALES DE LA UTILIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS EN BIORREMEDIACIÓN	82
3.1.5 BIORREACTORES EN BIORREMEDIACIÓN	83
3.1.5 EJEMPLOS PUNTUALES DE LA UTILIZACIÓN DE BIORREACTORES EN BIORREMEDIACIÓN	84
3.2 TÉCNICAS DE OPTIMIZACIÓN APLICADAS A LA BIORREMEDIACIÓN	85
3.2.1 MATERIALES DE MEMBRANA PARA TECNOLOGÍA ELECTROQUÍMICA MICROBIANA	86
3.2.2 BIOFILMS EN BIORREMEDIACIÓN	89
3.2.3 BIOAUMENTACIÓN COMO MEJORA DE UN PROCESO BIORREMEDEIATIVO	90
3.2.4 SINERGIA ENTRE MICROORGANISMOS EN BIORREMEDIACIÓN	94
3.2.5 CICLODEXTRINAS (CD) Y RAMNOLÍPIDOS EN BIORREMEDIACIÓN	96
4. CONCLUSIONES	97
5. BIBLIOGRAFIA	101

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades físicas del suelo.	6
Tabla 2. Propiedades químicas del suelo.	6
Tabla 3. Diferentes formas químicas del mercurio en el ambiente.	13
Tabla 4. Resumen de estadísticas de Cd, Cu, Hg, Pb (mg / kg) en: suelos en el área de Dexing, suelos en la provincia de Jiangxi y área de Hongqiling.	22
Tabla 5. Ventajas y Desventajas de los tratamientos de remediación.	24
Tabla 6. Tecnologías de biorremediación en suelos.	29
Tabla 7. Ejemplo de Algunos microorganismos utilizados en biorremediación.	31
Tabla 8. Mecanismos de remediación Microbiana.	33
Tabla 9. Genes en <i>mer</i> operon y sus funciones.	36
Tabla 10. Principales factores que afectan la biorremediación de suelos contaminados	37
Tabla 11. Biosorción de Cd por diferentes cepas de microalgas.	50
Tabla 12. Biosorción de Hg por diferentes cepas de microalgas	51
Tabla 13. Biosorción de Pb por diferentes cepas de microalgas	51
Tabla 14. casos de bacterias PGP mejoraron la fitorremediación de metales pesados	55
Tabla 15. Algunos microorganismos, sustratos y aceptores de electrones en electrorremediación	60
Tabla 16. La aplicación en suelos contaminados por metales pesados de MFC y su desempeño	64
Tabla 17. Diversas materias primas y métodos para la preparación de biocarbón.	66
Tabla 18. Ejemplos de absorción por biochar para remediar contaminantes orgánicos y metales	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. El suelo y su composición	5
Figura 2. Componente biológico del suelo	7
Figura 3. Explotación minera.	10
Figura 4. Especies químicas del mercurio en el ambiente	14
Figura 5. Drenaje ácido de minas	20
Figura 6. Mecanismos de remediación microbiana	32
Figura 7. Métodos de evaluación en la remediación de suelos.	42
Figura 8. Categorías de organismos extremófilos y aplicaciones	46
Figura 9. Mecanismos de eliminación de iones metálicos por microorganismos de rizosfera.	54
Figura 10. Descripción esquemática de las reacciones catalizadas por microbios que tienen lugar en el ánodo y en el cátodo de un sistema electroquímico microbiano	60
Figura 11. Producción y usos del biochar	65
Figura 12. Esquema del proceso biorremediativo con biocarbon descrito por (Wu et al., 2019).	70
Figura 13. Biorremediación de suelos enriquecidos con Cd utilizando lombrices de tierra.	71
Figura 14. Esquema de aplicación de nanopartículas de hierro en el proceso de remediación de aguas subterráneas.	81
Figura 15. Diagrama esquemático del intercambio iónico a través de membranas AEM y CEM.	87
Figura 16. Esquema de una membrana compuesta.	87
Figura 17. Diagrama esquemático del transporte de iones a través de membranas cerámicas	88
Figura 18. Esquema de la formación de biofilm.	90
Figura 19. Especies de ciclodextrinas nativas.	97
Figura 20. Representación molecular de mono-ramnolipidos (parte superior), di-ramnolipidos (parte inferior), producidos por la cepa <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99

RESUMEN

La contaminación de suelos mineros por metales como Mercurio (Hg), Cadmio (Cd) y Plomo (Pb), es un riesgo serio para la salud pública y ambiental. La toxicidad y estabilidad química que presentan estos elementos frente a procesos de biodegradación natural, hace que los seres vivos no sean capaces de neutralizarlos, creando un problema por bioacumulación y un efecto creciente de su concentración en suelos y en la cadena trófica. Las técnicas fisicoquímicas aplicadas convencionalmente para la recuperación de ambientes degradados son poco efectivas, exigen altos costos de operación, sin contar con la generación de residuos con potencial contaminante adicionales a estas. Como resultado, en los últimos años se ha centrado la atención en tecnologías de biorremediación, dado a su eficiencia, menores costos operativos y por contribuir de manera positiva al ambiente.

La biorremediación aplica microorganismos para modificar, neutralizar o inmovilizar la estructura química del contaminante presente en matrices como suelo, sedimentos, agua y aire. Este trabajo revisa las aplicaciones de la biorremediación en la recuperación de suelos contaminados, estrategias, mecanismos y condiciones en las cuales se da la estabilización y neutralización de los contaminantes. Así como aborda el problema allegado a la explotación minera.

Palabras claves: Biorremediación, metales pesados, contaminación de suelos, recuperación de suelos.

ABSTRACT

The contamination of mining soils by metals such as Mercury (Hg), Cadmium (Cd) and lead (Pb), is a serious risk for public and environmental health. The toxicity and chemical stability that these elements present in the face of natural biodegradation processes makes living beings unable to neutralize them, creating a problem due to bioaccumulation and an increasing effect of their concentration in soils and in the trophic chain. The physicochemical techniques conventionally applied for the recovery of degraded environments are not very effective, they require high operating costs, without counting on the generation of waste with additional polluting potential to these. As a result, in recent years, attention has been focused on bioremediation technologies, given their efficiency, lower operating costs and their positive contribution to the environment.

Bioremediation applies microorganisms to modify, neutralize or immobilize the chemical structure of the contaminant present in matrices such as soil, sediments, water and air. This work reviews the applications of bioremediation in the recovery of contaminated soils, strategies, mechanisms and conditions to which the stabilization and neutralization of contaminants occurs. As well as addressing the problem related to mining.

Keywords: Bioremediation, heavy metals, soil contamination, soil recover

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años el suelo ha sido un recurso de vital importancia para el hombre. Hoy en día la preocupación más grande incurre en las diversas actividades que han llevado a su degradación. Estudios a nivel mundial indican que casi un 25% de los suelos han sido degradados debido a la erosión, contaminación atmosférica, agricultura, ganadería extensiva, deforestación, salinización y a la urbanización (IPBES, 2018) (Jaramillo, 2015), factores que se engloban a causas ambientales y antropogénicas. En Colombia, las actividades extractivas principalmente ligadas al petróleo y minería, contribuyen de manera importante al producto interno bruto del país (PIB), sin embargo, los impactos negativos que genera la extracción, procesamiento y transporte afectan directamente la calidad y la productividad de los recursos naturales incluido el suelo.

La explotación minera está generando contaminación por metales pesados como Hg, Pb y Cd. A pesar que el gobierno implementa una normativa de control ambiental, (Ley 1658 de 2013 para la comercialización y el uso de mercurio en las diferentes actividades industriales del país y Convenio de Minamata, tratado mundial para la protección de la salud humana ante el uso del Hg), se ha dicho que un 80% de la minería en el país es ilegal (Correa, 2017). La emisión, deposición o vertimiento de metales pesados crea un grave problema, que no solo perjudica el carácter ambiental, sino también la salud pública. Dado a su tendencia a formar complejos solubles, estos metales son transportados y distribuidos a los ecosistemas hasta incorporarse en la cadena trófica (Londoño et al., 2016). Para el caso del mercurio, este tiene la capacidad de biomagnificarse (Kumari, 2020), ser retenido por la materia orgánica, óxidos de hierro y manganeso así como por las arcillas (Mosa et al., 2016), lo que hace que permanezca por largos periodos de tiempo en el suelo y se acompañe de otros como el cadmio y el plomo.

Por lo anterior, en los últimos años se han ideado alternativas que promuevan la recuperación de suelos contaminados mediante el uso de biotecnologías de remediación, que presentan menores costos y bajo impacto ambiental, frente a las técnicas convencionales. La biorremediación, es una estrategia que abarca procesos en donde se utilizan microorganismos, hongos o enzimas derivadas de ellos para la recuperación de

ambientes que han sido degradados (Beltrán & Gómez, 2016). La literatura reporta microorganismos como *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp.*, *Psychrobacter sp.*, *Citrobacter braakii* y *Alcaligenes sp.*; también bacterias del género *Lactobacillus* (que incluyen especies como *L. bulgaricus*, *L. paracasei* y *L. plantarum*), micro algas como, *Chaetoceros sp.*, *Chlorella sp.*, *Coelastrum sp.*, *Parachlorella sp.*, *Chlorella vulgaris*. (Ibuot et al., 2017; Kit Leong & Chang, 2020) y hongos como *Hypholoma fasciculare* y *Coriolus versicolor* (Puicon & Hurtado, 2016) utilizados en procesos remediativos.

La Biorremediación es una tecnología prometedora, dado que aprovecha la capacidad de remoción de metales que poseen bacterias, micro algas y hongos, siendo ésta superior a la reportada con métodos fisicoquímicos. En el caso de los suelos, el objetivo de un proceso remediador no debe ser solamente eliminar el contaminante, sino recuperar la calidad del mismo, entendida como la capacidad de dicho recurso para realizar sus funciones de forma sostenible (Verma & Kuila, 2019)

El presente trabajo en modalidad de monografía, busca recopilar información sobre la labor conjunta que pueden realizar microorganismos y bacterias para la remediación de suelos contaminados con metales pesados, específicamente con mercurio, cadmio y plomo, como una alternativa que mejora las condiciones ambientales, la salud del suelo y los ecosistemas.

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GENERAL

Dar a conocer estrategias de remediación biológica, mediante recolección de información en artículos científicos, publicaciones, resultados de investigaciones, que permitan comprender en qué consisten las metodologías de biorremediación para la recuperación de suelos contaminados con metales pesados, mercurio, cadmio y plomo.

2.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Exponer la problemática de contaminación que genera la explotación minera en Colombia, enfocándose en la degradación del suelo por metales pesados.
- Precisar en qué consiste la biorremediación y sus mecanismos como medida ambiental para la recuperación de suelos mineros.
- Conocer los avances tecnológicos en cuanto a la optimización de las técnicas de remediación biológica.

3. DESARROLLO DEL TEMA

Para el desarrollo de la temática, esta fue abordada en capítulos, siendo que cada capítulo corresponde a los objetivos específicos del trabajo, en su defecto se trabajaron tres. Dichos capítulos se documentaron con información recopilada de bases de datos, artículos de investigación con un periodo de publicación entre los años 2015-2020, libros y revistas. Se emprenden las temáticas del suelo, contaminación y explotación minera, biorremediación, mecanismos de remediación microbiana, los factores de incidencia en el proceso biorremediativo, ejemplos de microorganismos, tecnologías de biorremediación y optimización de técnicas.

CAPITULO I. EXPLOTACIÓN MINERA EN COLOMBIA/ DEGRADACIÓN DEL SUELO POR METALES PESADOS

Este capítulo aborda la matriz de estudio suelo, como recurso principal en el que se desarrollan diversos procesos que permiten la vida y subsistencia de todo un sistema edáfico. De igual forma menciona la actividad minera como fuente de degradación del recurso suelo, la minería en Colombia y otros países, y los problemas de contaminación por metales pesados, mercurio, cadmio y plomo. La información plasmada proviene de reportes de organismos como, la Unidad de Planeación Minero Energética UPME, Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), Agencia nacional de minería (ANM), FAO, Agencia de protección ambiental de los EE. UU (EPA), Ministerio de Ambiente y desarrollo sostenible, Organización de las naciones unidas ONU, Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Lo que se busca es dar a conocer como incide la actividad minera y los metales pesados en la degradación y contaminación de los suelos, advertir de los niveles de contaminación de metales pesados Hg, Cd y Pb reportados en Colombia y en otros países y las técnicas fisicoquímicas convencionales para la recuperación de suelos.

1.1. EL SUELO

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, (FAO, s.f.) define el suelo como la parte superficial de la corteza terrestre, biológicamente activa, que proviene de la desintegración o alteración física y química de las rocas y de los

residuos de las actividades de seres vivos. Otro enfoque al concepto lo ofrece (Navarro, 2014) definiéndolo como la capa superior de la tierra que se distingue de la roca sólida en donde las plantas crecen, Figura 1.

De manera que los suelos deben considerarse como formaciones geológicas naturales que se desarrollan bajo condiciones climáticas diversas y materiales de origen distintos. “Con este enfoque, nos encontramos con una concepción fisiológica vegetal que define el suelo como la mezcla de partículas sólidas pulverulentas, de agua y de aire, provista de los elementos necesarios para las plantas” (Navarro, 2014, p. 32).

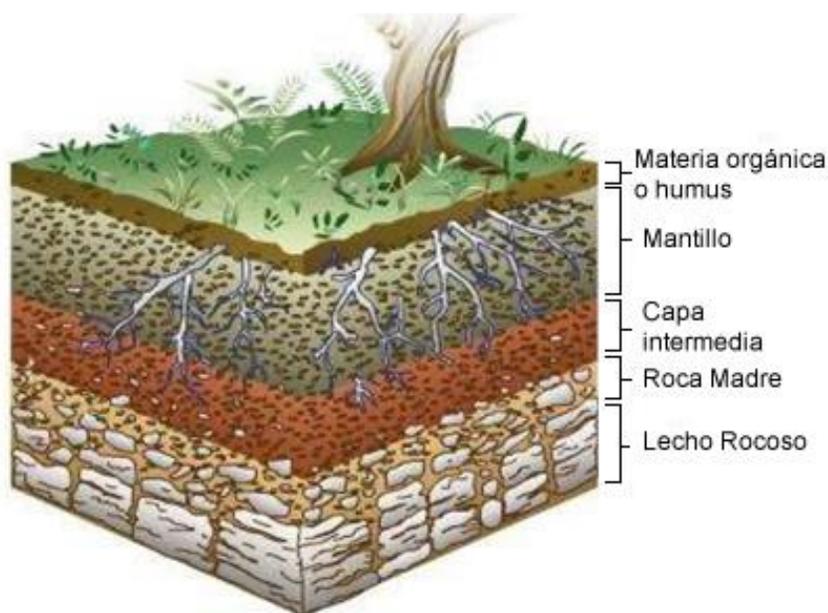


Figura 1. El suelo y su composición. Fuente (Gómez, 2016)

1.2. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO

Las propiedades físicas se designan como aquellas que se pueden sentir, oler y/o medir y que están relacionadas con la estructura, textura, color y capacidad para retener agua, la tabla 1, describe las propiedades físicas presentes en el suelo.

Tabla 1. Propiedades físicas del suelo.

PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO	
COLOR	Propiedad que depende de sus componentes y varía con el contenido de humedad, materia orgánica presente y grado de oxidación de minerales presentes.
TEXTURA	Relacionada con la cantidad de partículas de distintos tamaños, como puede ser arena (2,0-0,05 mm), limo (0,05-0,02 mm) y arcilla (menos de 0,002 mm).
POROSIDAD	Porcentaje del volumen del suelo no ocupado por sólidos.
CAPACIDAD DE RETENER AGUA	La retención del agua depende de los poros disponibles.
ESTRUCTURA	Manera en la que se agrupan las partículas del suelo y los espacios.
DENSIDAD	Se refiere al peso por volumen del suelo. Existen dos tipos de densidad, real y aparente.

(Aabida, 2018; Seminis, 2016).

En cuanto a las propiedades químicas, estas son variables y se requiere hacer un análisis para saber con precisión cuáles están presentes, cuáles faltan y cuáles están en exceso. En la tabla 2 se muestran algunas propiedades químicas de los suelos.

Tabla 2. Propiedades químicas del suelo.

PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO	
Capacidad de Intercambio Catiónico (CEC)	Habilidad del suelo para retener iones positivos. Entre mayor sea el CEC, será mayor la cantidad de potasio, amonio, calcio, magnesio, zinc, cobre, fierro y manganeso.
pH	Mide qué tan ácido o alcalino es un suelo, La mayor disponibilidad de nutrientes se encuentra a pH entre 6,5 y 7,5

(FAO, 2020; Seminis, 2016).

Desde el punto de vista biológico, las características del suelo más importantes son su permeabilidad, relacionada con la porosidad, su estructura y su composición química. Los suelos retienen las sustancias minerales que las plantas necesitan para su nutrición vegetal y que se liberan por la degradación de los restos orgánicos. Un buen suelo es la primera condición para la productividad agrícola.

1.3. COMPONENTE BIOLÓGICO DEL SUELO

El componente biológico del suelo se constituye de bacterias, protozoarios, hongos, algas, insectos, artrópodos, vegetación, entre otros, que dentro de sus múltiples funciones están la formación del suelo, el crecimiento vegetal y el ciclo del carbono, Figura 2. Estos organismos son muy importantes, ya que mejoran las condiciones del suelo, acelerando la descomposición y mineralización de la materia orgánica, la cual queda a disposición de las plantas (Pescador et al., 2016).

En cuanto a su constitución biológica, la clasificación más utilizada se basa principalmente en el tamaño del cuerpo de los organismos, dividiéndose en cuatro grupos: la micro flora que abarca bacterias, hongos y algas; la micro fauna, compuesta por protozoarios, nemátodos, rotíferos y ácaros pequeños; meso fauna que comprende colémbolos y ácaros; por último, la macro fauna que incluye a los organismos invertebrados de mayor tamaño (FAO, 2020).

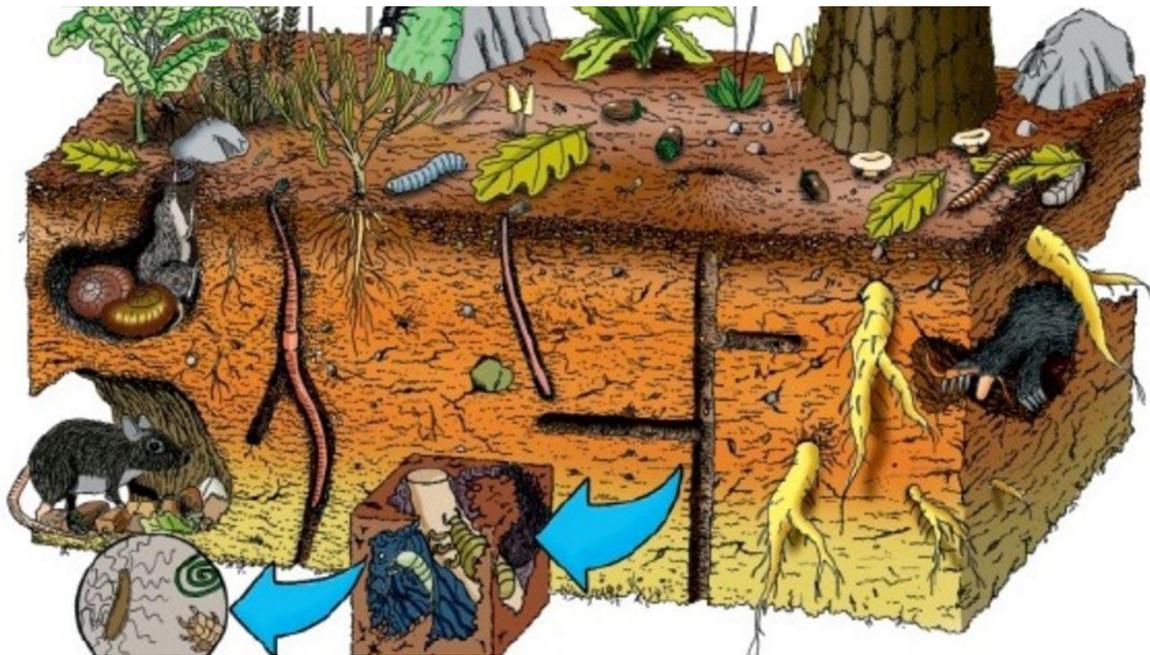


Figura 2. Componente biológico del suelo. Fuente (Planetagronomico.com).

Los microbios controlan la disponibilidad de muchos nutrientes importantes para las plantas, ya que son capaces de transformar los compuestos de carbono y nitrógeno en dióxido de carbono y nutrientes necesarios para el crecimiento, también contribuyen a la

formación de materia orgánica, convirtiéndola en ácidos orgánicos (Pescador et al., 2016). Por otro lado, los factores que demarcan el número y tipo de microorganismos son, la composición del suelo (cantidad y tipo de nutrientes), las características físicas del suelo (grado de aireación, humedad, temperatura y pH), el tipo de plantas en el suelo (el sistema de raíces influye en el número y tipo de organismos presentes), entre otros. (Beltrán et al., 2017)

Los organismos más comúnmente presentes en el suelo cumplen funciones diferenciales y acorde con su naturaleza, como es el caso de las bacterias, las cuales tienden a utilizar las fracciones más simples como son los exudados radiculares y los residuos vegetales frescos, mientras que los hongos tienden a utilizar compuestos complejos como son residuos fibrosos, la madera y el humus (Cruz, 2018).

1.4. MINERIA EN COLOMBIA

La minería es una de las actividades económicas más antiguas en el mundo. Los conocimientos de orfebrería se remontan hace cientos de años cuando las culturas indígenas precolombinas tomaban el oro para hacer adornos en sus vestiduras como una representación religiosa. Su extracción era de forma simple, se aprovechaba la diferencia de densidad y la difusión del mismo a altas temperaturas. En los últimos años el sector minero- energético en Colombia ha tomado fuerza, aprovechando la riqueza natural del territorio nacional (Martínez & Reinaldo, 2018).

Colombia tiene una enorme riqueza minera, en la que se destacan reservorios de oro, carbón, esmeralda, cobre, níquel y mineral de hierro en los metales; arena, sales, piedra y arcilla en los productos no metálicos, Figura 3. También se encuentran presentes en el subsuelo minerales como cobre, hierro, manganeso, plomo, zinc y titanio. Colombia reposa sobre sal terrestre y marina, gravas, arenas, arcilla, caliza, azufre, barita, bentonita, feldespato, fluorita, asbesto, magnesita, talco, yeso, roca fosfórica y rocas ornamentales. (Ministerio de Minas y Energía, 2016).



Figura 3. Explotación minera. Fuente (Dinero, 2017).

1.5. TITULOS MINEROS EN COLOMBIA

Con alrededor de 8.880 títulos mineros (ANM, 2018), Colombia distribuye esta actividad en su mayor parte en los departamentos de Antioquia, Bolívar, Caldas y Chocó. Entre los departamentos con más títulos mineros están Antioquia y Boyacá con 1.448 y 1.446, respectivamente, los cuales corresponden a 32,6% de los que hay en el país. Posteriormente, está Cundinamarca con 978, Norte de Santander con 623, y Santander con 570 títulos. (Piñeros, 2017). Teniendo en cuenta el mineral según su uso, los más explotado son materiales de construcción 57%, seguido por carbón que representa un 17%, metales preciosos 11%, calizas 5%, minerales Industriales 4%, piedras preciosas 4% y otros Metales 2% (ANM, 2018).

Por otra parte, las mayores áreas del territorio tituladas para desarrollar proyectos mineros son en un 22% competencia de la Gobernación de Antioquía, seguido por el PAR Cartagena y el PAR Valledupar con un 10% cada uno (ANM,2019). Reportes actuales indican que, de los 114 millones de hectáreas del territorio nacional, sólo el 5% están tituladas para la actividad minera, de las cuales el 2.3% están en exploración, 1.6% en construcción y montaje, y 1.1% en explotación (ANM, 2019). El 47 % de las extracciones se realizan sobre los minerales no metálicos (arena, arcilla, grava, caliza, piedra, sal, entre otros); el 32 % se realiza sobre minerales metálicos (oro, plata, platino, concentrado de cobre, hierro, plomo y ferroníquel) y el 19 % sobre carbón (Paz Cardona, 2018).

Entre otros productos de extracción minera reportadas por la UPME, se encuentra el carbón con 90,5 millones de toneladas anuales, oro 62 toneladas anuales, para níquel Colombia aporta el 2% del total global (UPME, 2017).

1.6. MINERIA EN AMERICA LATINA

De acuerdo a datos de (CEPAL, 2018) América latina y el Caribe cuenta con importantes reservas mineras que a nivel global se resumen en: 65% de litio, 49% de plata, 44% de cobre, 33% de estaño. Chile es el primer país en producción de cobre, Brasil el tercero en hierro, México el mayor productor de plata y Perú está entre los primeros en plata, cobre, oro y plomo. En las minas primarias de Brasil y Bolivia utilizan mercurio directamente en los molinos para realizar molienda y amalgamaciones simultáneas, en el proceso pierden entre 5 Kg a 10 Kg de mercurio (en casos extremos hasta 25 Kg) para recuperar 1 Kg de oro. Las pérdidas promedio que ocasionan los mineros informales de Brasil o “Garimpeiros” se han estimado en 2 Kg de Hg por Kg de oro obtenido. Bermeo en (2001) indica que en Ecuador se utiliza entre 1.5 y 2 Kg de mercurio para la producción de 1 Kg de oro. Por su parte en Colombia se utilizan 14 gramos de Hg para extraer 1 gramo de oro.

1.6.1 CONVENIO DE MINAMATA SOBRE EL MERCURIO

El Convenio de Minamata sobre el Mercurio es un tratado mundial para proteger la salud humana y el medio ambiente de los efectos adversos de este elemento, aprobado el 10 de octubre de 2013 en Kumamoto, Japón y entro en vigor en agosto de 2017. Lo comprenden 35 artículos en los que se tratan temas como: fuentes y suministro de mercurio, productos con Hg añadido, procesos de fabricación con utilización de Hg, extracción de oro artesanal, emisiones, almacenamiento provisional, desechos de Hg, sitios contaminados, comité de aplicación y cumplimiento entre otros. Reconociendo que el mercurio es un producto químico de preocupación mundial debido a su transporte a larga distancia en la atmósfera, su persistencia en el medio ambiente tras su introducción antropogénica su capacidad de bioacumulación en los ecosistemas y sus importantes efectos adversos para la salud humana y el medio ambiente (ONU, 2017).

1.6.2 LEY 1658 DE 2013 PARA EL USO DEL MERCURIO EN COLOMBIA

En el artículo 3 de la Ley 1658 de 2013, se decreta que los ministerios públicos de medio ambiente y sectoriales establecerán las medidas necesarias para reducir y eliminar de manera segura y sostenible, el uso de mercurio en las diferentes actividades industriales del país, además establece plazos para erradicar el uso del mercurio en todo el territorio nacional, los cuales son de 5 años para las actividades mineras y 10 años para los demás sectores productivos (Ministerio de ambiente, 2018).

1.7. METALES PESADOS: MERCURIO, CADMIO Y PLOMO.

Los metales pesados son definidos como aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20 (Londoño et al., 2016). Son originados de forma natural o por fuentes antropogénicas como la erosión del suelo, la combustión de combustibles fósiles, minería y la aplicación de pesticidas (Zhanga et al., 2020). Naturalmente este tipo de elementos se encuentran en el suelo, en zonas mineras en explotación además del mineral

de interés también puede encontrarse plomo o cadmio asociado a elementos como cobre, plata o zinc, de igual forma en minería aurífera se usa el mercurio para la separación del oro de la mena.

La toxicidad de estos metales generalmente no se designa por sus características esenciales, sino por las concentraciones en las que pueden presentarse, y casi más importante aún, el tipo de especie en que se presentan en un determinado medio o momento (Higuera et al., 2018). Elementos como el mercurio muestran una elevada tendencia a biomagnificarse o bioacumularse a través de las cadenas tróficas (Liu et al., 2018). El Cadmio suele recorrer grandes distancias desde la fuente de emisión a través del aire, se acumula rápidamente en muchos organismos. En cuanto al plomo, frecuentemente se encuentran concentraciones en agua, aire, suelo y productos de consumo como vegetales, incorporándose conjuntamente con los alimentos o partículas que se respiran hasta alcanzar límites de toxicidad. Estos metales pueden producir intoxicaciones crónicas si se incorporan

lentamente en el organismo, dañando tejidos y órganos produciendo enfermedades como el cáncer. Además, la exposición a estos en altas concentraciones ocasiona graves problemas en el desarrollo, crecimiento y reproducción de los seres vivos (Zhanga et al., 2020).

Los metales como Cd, Pb y Hg pueden ejercer su toxicidad al interactuar metabólicamente con elementos nutricionalmente esenciales como el calcio y el hierro, interfiriendo con funciones fisiológicas vitales. El plomo y el mercurio pueden causar estrés oxidativo debido a la generación de especies reactivas de oxígeno como el H_2O_2 , la presencia de especies reactivas de oxígeno en el organismo puede provocar daños importantes en los ácidos nucleicos, los lípidos y las proteínas, provocando la muerte celular o una respuesta carcinogénica (Giovannella et al., 2020).

1.7.1 MERCURIO (Hg)

A este elemento se le atribuye una alta toxicidad y su ciclo biogeoquímico puede verse altamente modificado o acelerado por actividades antropogénicas relacionadas con la minería y metalúrgica (O'Connor et al., 2019). El mercurio cambia sus formas y estados químicamente en los alrededores y se trasloca de un lugar a otro, para adentrarse en suelos y sedimentos (Kumari, 2020). De acuerdo con (Kit Leong & Chang, 2020) la alta toxicidad del mercurio se asocia principalmente con la capacidad para penetrar la barrera hematoencefálica (barrera protectora entre los vasos sanguíneos del cerebro y los tejidos cerebrales), también causa interferencia con la absorción de metales esenciales, modificación del estado redox celular y la ruptura de proteínas. La tabla 3 ilustra las diferentes formas químicas del Hg en el ambiente (Mosa et al., 2016).

El Hg (II) presenta una alta tendencia de unión con los componentes del suelo, lo cual reduce su biodisponibilidad. Por otro lado, las formas orgánicas de este metal pesado, principalmente el MeHg, son altamente tóxicas y se acumulan en membranas biológicas. Este carácter orgánico lo hace ser el compuesto más peligroso para seres humanos y organismos por su poder de biomagnificación (O'Connor et al., 2019).

En suelos sin problemas de contaminación es posible encontrar concentraciones de 0.02 y 0.41 mg/Kg (Kumari, 2020), por debajo del límite permisible reportado por la Agencia de protección ambiental de los estados Unidos EPA < 1 mg/kg de Hg (EPA.,

1996). Sin embargo, según reportes entre el periodo 2005 - 2006, en el distrito minero de Guizhou, China, se encontró una concentración de 44.000 mg/kg de Hg, considerado el lugar más contaminado por Hg del mundo, seguido por Almadén, España, con una concentración de 34.000 mg/ kg (Higueras, 2016). En Colombia se han encontrado concentraciones del metal en suelos de: 0,27 mg/kg en suelos urbanos en Bucaramanga, Santander (Muñoz, 2016), en Bolívar 23.83 mg/kg en zona de incidencia minera en San Martín de Loba (Rocha, Olivero, & Caballero, 2018) y en Córdoba se encontraron concentraciones de mercurio total THg 0,23 - 6,32 mg/kg en zona minera el Alacrán, Puerto Libertador (Martínez et al., 2017).

Tabla 3. Diferentes formas químicas del mercurio en el ambiente.

Forma del Mercurio	Propiedades químicas y biológicas
Elemental Hg ⁰	comparativamente menos reactivo y menos tóxico en el medio ambiente, pero altamente tóxico cuando se inhala en forma de vapor.
Hg ²⁺	Tóxico pero no puede atravesar la membrana biológica.
Organomercuriales RHg ⁺	Muy tóxico, específicamente metilmercurio, fácilmente transportable a través de membranas biológicas, se somete a biomagnificaciones.
Diorganomercurial R ₂ Hg	Menos tóxico, cambios en RHg ⁺ en medio ácido.
Sulfuro mercúrico HgS	Altamente insoluble y no tóxico; atrapado en el suelo de esta forma.

Tomado de la adaptación de (Kumari, 2020).

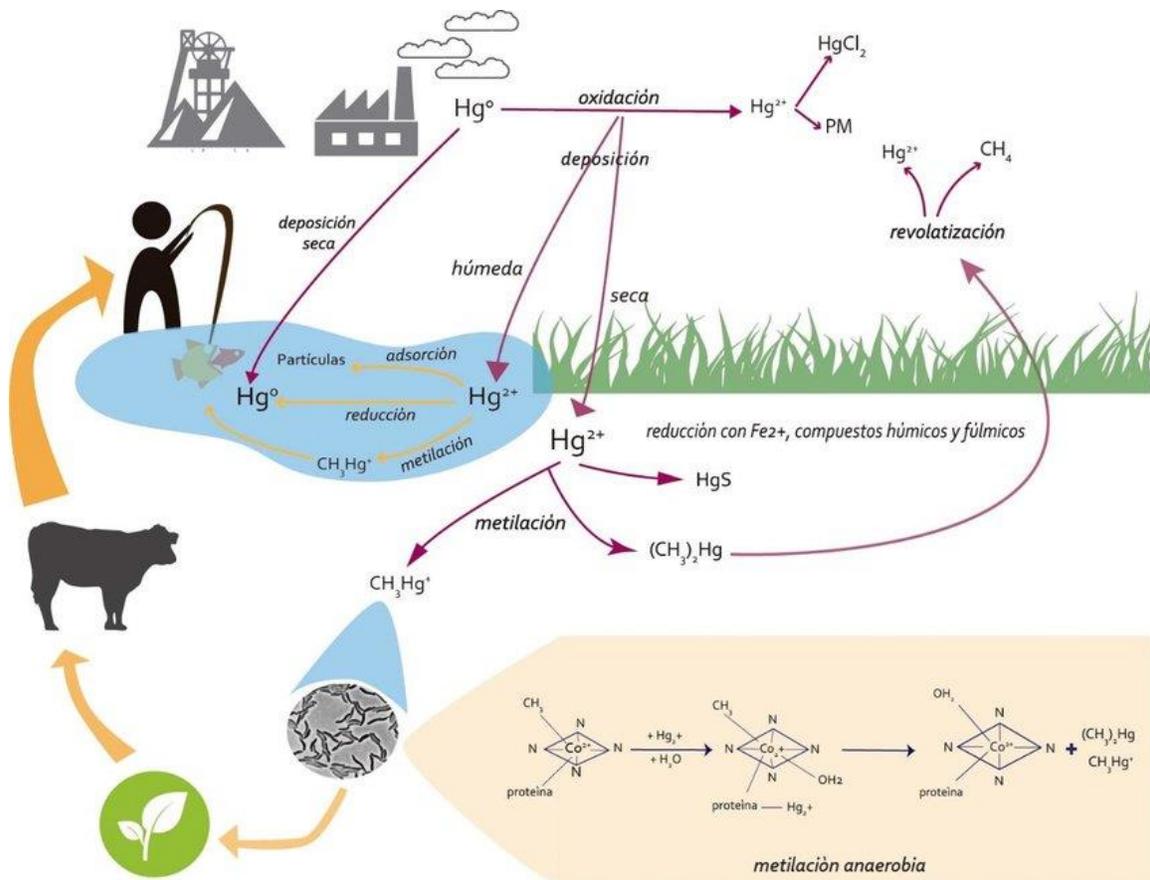


Figura 4. Especies químicas del mercurio en el ambiente. Fuente (Ortiz, 2018)

1.7.2 CADMIO (Cd)

Con características y comportamiento similar al Zn y Hg. Se le atribuye una alta toxicidad y suele encontrarse en la naturaleza asociado a metales como el zinc, plomo y cobre (Kubier et al., 2019). A su vez actividades como metalurgia y minería han contribuido a su dispersión en el ambiente (Sánchez Barrón, 2016).

Este metal produce efectos nocivos en suelos, plantas, microorganismos y seres humanos. La problemática con este elemento además de su alta toxicidad radica en su larga vida media y en la capacidad de ser acumulado en los seres vivos y el suelo. Su tasa de transferencia según (Amjad et al., 2017) depende del tipo de suelo, planta, pH del suelo, contenido de humus, disponibilidad de la materia orgánica, tratamiento del suelo con fertilizantes, la mineralogía, y la presencia de otros elementos como el zinc. Su comportamiento está ligado con la reacción química en el suelo (grado de acidez o basicidad presente en el suelo). En suelos ácidos, la materia orgánica y los sesquióxidos (óxido cuya

molécula contiene tres átomos de oxígeno con dos átomos de otro elemento) controlan la solubilidad del metal, el cadmio se intercambia fácilmente, lo que lo hace disponible para las plantas. En suelos alcalinos el cadmio no es móvil ya que precipita en forma de carbonatos y fosfatos insolubles (Xian et al., 2020).

La concentración habitual de cadmio en suelos sin contaminación es de 0,07 a 1,1 mg/kg, (EPA, 1996) reporta límites permisibles en suelo < 2-3 mg/Kg de Cd. En áreas contaminadas, como por ejemplo campos de arroz en ciertas regiones de Japón, se han detectado concentraciones entre 1 a 69 mg/kg de Cd (Sánchez Barrón , 2016), en suelos agrícolas del Ecuador (Chavez, 2017) se reporta concentraciones que oscilan entre 0.20 – 0.27 mg/kg. En Colombia el Cd está afectando zonas agrícolas de cultivo de cacao, se ha encontrado concentraciones de cadmio entre 4 a 6 mg/kg, en plantaciones de San Vicente de Chucuri- Santander, en Cundinamarca para las regiones productoras de cacao de Yacopí (provincia de Rionegro) y Nilo (provincia Alto Magdalena), valores promedio de Cd total en suelo superiores a 3.3 mg/kg y 2.2 mg/kg (Rodríguez Albarracín, 2017).

1.7.3 PLOMO (Pb)

Se encuentra presente de forma natural en la corteza terrestre. Su uso generalizado en la fabricación de baterías, pigmentos de pintura, vidrios, cables eléctricos de revestimiento, escudo para materiales radiactivos, incluido el blindaje de rayos X, ha dado lugar a una importante contaminación del medio ambiente, un nivel considerable de exposición humana y graves problemas de salud pública. Entre las fuentes de exposición se encuentra explotación minera, metalurgia, actividades de fabricación y reciclaje y, en algunos países, el uso persistente de pinturas y gasolinas con plomo (OMS, 2019).

El Pb generado de esas actividades, puede permanecer como residuo por 1000 a 3000 años en suelos de clima templado. Cuando es depositado en el suelo presenta el mismo peligro que cuando es vertido o emitido al ambiente, puesto que la distribución química del plomo depende del pH, de la mineralogía, del contenido en materia orgánica, así como de la naturaleza de los compuestos de plomo (Kushwaha et al., 2018). Tiende a ser retenido en el suelo y absorbido por las plantas llegando a la cadena trófica, además en seres humanos una vez dentro del cuerpo, se distribuye hasta alcanzar el cerebro, el hígado, los riñones y los huesos, y se deposita en dientes y huesos, donde se va acumulando con el paso del

tiempo provocando afectaciones, en particular, al desarrollo del cerebro, lo que a su vez entraña una reducción del cociente intelectual, hipertensión, disfunción renal, inmunotoxicidad y toxicidad reproductiva (OMS, 2019).

La Agencia de protección ambiental (EPA), establece el límite permisible de concentración de plomo en suelos de 10 mg/Kg. Sin embargo, (Cortada et al., 2018) reporta una concentración de plomo de 6491 mg/kg de Pb en el antiguo distrito minero de Linares (Sur de España) lugar que estuvo sometido a intensas actividades mineras, metalúrgicas y metalúrgicas de Pb durante siglos. En Colombia la región de Ariari departamento del Meta registra niveles de plomo en suelos agrícolas de 16,7- 20,9 mg/Kg de Pb (Mahecha et al., 2015), por su lado en el Valle del Río Sinú departamento de Córdoba, se reportó una concentración inferior al límite permisibles de 0,65 mg/Kg (Roqueme et al., 2014).

1.8. PROBLEMAS DE CONTAMINACION POR METALES PESADOS

Las actividades mineras son una de las principales vías de ingreso directo de metales pesados al ambiente, particularmente las de explotación de oro, plata y Hg. En estos sitios, el suelo puede presentar altos niveles de contaminación, como se evidencia en la región del río Amazonas, la Guayana Francesa y el distrito minero de Almadén (España), entre otros (Reyes et al, 2016).

La minería en su conjunto produce toda una serie de contaminantes gaseosos, líquidos y sólidos, que de una forma u otra van a parar al suelo. Esto sucede ya sea por depósito a partir de la atmósfera como partículas sedimentadas o traídas por las aguas de lluvia, por el vertido directo de los productos líquidos de la actividad minera y metalúrgica, o por la infiltración de productos de lixiviación del entorno minero (aguas provenientes de minas a cielo abierto) (Minería y suelo, 2016).

La disposición de elementos mineros sólidos sobre el suelo puede tener sobre éste efectos variados, tal es el caso para las siguientes actividades de deposición de residuos:

- ✓ **Escombreras (*mineral dumps*)**: puede inducir la infiltración de aguas de lixiviación, más o menos contaminadas en función de la naturaleza del mineral o

roca del cual se extrae el metal de interés. El peso de los materiales acumulados, cambia completamente el comportamiento mecánico del suelo. Otro efecto es el de recubrimiento, que evita la formación y acumulación de la materia orgánica, y el intercambio de gases con la atmósfera (Higuera, 2018).

- ✓ **Talleres de mina:** Tienen un mayor potencial contaminante, que se deriva en muchas veces por el depósito de hidrocarburos en grandes cantidades, combustible aceites pesados y lubricantes (Minería y suelo, 2016).
- ✓ **Procesos derivados de la lixiviación en pila (*heap leaching*):** utilizados para la extracción metalúrgica de uranio, cobre y oro, corresponde a un proceso hidrometalúrgico mediante el cual se provoca la disolución de un elemento desde el mineral que lo contiene para ser recuperado en etapas posteriores mediante electrólisis. La mena o roca con el metal triturada es dispuesta en agrupamientos rectangulares de unos metros de altura sobre bases impermeables, para uranio y cobre las pilas se riegan mediante aspersores con una solución de ácido sulfúrico, en cuanto al oro, su lixiviación se basa en la utilización de compuestos cianurados (Minería y suelo, 2016).

1.9. VULNERABILIDAD DEL SUELO ANTE LOS CONTAMINANTES QUÍMICOS (METALES PESADOS)

Los efectos en el suelo con la presencia de contaminantes pueden ser variados, e incluso variar con el tiempo o con las condiciones climáticas. En unos casos los contaminantes se acumulan en formas lábiles, de alta solubilidad, de forma que están disponibles para los animales y vegetales. También para el caso de metales pesados estos pueden facilitar la contaminación de los acuíferos, ya que las aguas de infiltración o lixiviación de minas pueden contenerlos e incorporarlos a las fuentes hídricas. Otra manera en que el suelo es vulnerable es por su efecto absorbente, actuando como un biofiltro altamente reactivo que facilita la inmovilización de los contaminantes gracias a procesos físicos (filtración), físico-químicos (neutralización), químicos (sorción, precipitación, complejación, degradación química) o biológicos (biodegradación) (Aabida, 2018). En este sistema juegan un papel especialmente importante las arcillas, debido a sus propiedades de

absorción, adsorción e intercambio iónico. Sin embargo, cuando se supera la capacidad de amortiguación del suelo, éste se convierte de hecho en fuente de contaminación (Higueras & Oyarzun, 2016).

La organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), define la degradación del suelo como “un cambio en la salud del suelo, resultando en una disminución de la capacidad del ecosistema para producir bienes o prestar servicios para sus beneficiarios”. El daño físico del suelo se produce principalmente debido a la compactación que este sufre, ya sea por el uso continuo de maquinaria pesada o ganadería, también se puede presentar degradación biológica, que se deriva de la pérdida de la materia orgánica o el humus.

1.10. CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN COLOMBIA

La contraloría general de la república reporta en Colombia 80 municipios y 17 departamentos que tienen problemas serios de contaminación por metales pesados producto de la explotación minera (Casallas & Martínez, 2015). El problema crece cuando se sobrepasan los valores máximos permisibles de estos metales en suelo, Hg < 1 mg/kg, Cd < 2-3 mg/Kg y Pb 10 mg/Kg (EPA., 1996). Sin embargo, se han encontrado reportes en zonas mineras del país como San Martín de Loba- Sur de Bolívar de 23.83 ppm de Hg, y 36.9 mg/kg Hg (Rocha et al., 2018), además a estos suelos se les encontró un porcentaje muy bajo de materia orgánica 0,36% en suelo medianamente contaminado y 0,17% en suelo más contaminado, la materia orgánica limita la presencia de macro y micro nutrientes esenciales para el crecimiento vegetal, lo que no los hace aptos para la agricultura.

Uno de los escenarios que engloba gran problemática de contaminación es la explotación aurífera. Si bien los reportes del ministerio de minas “Colombia se ha convertido en el segundo país productor de oro en América Latina, con una producción anual aproximada de 47.838 kilogramos para el 2010; precedido por Brasil y seguido por Perú”. Colombia es actualmente el decimoquinto mayor productor de oro en el mundo con 61.8 toneladas anuales (ANM., 2019). Si bien no se tiene un dato exacto sobre cuanto

mercurio es liberado al medio en la extracción del oro, por parte de la UPME, se estima que de 80 – 100 toneladas por año son arrojadas al ambiente en Colombia (UPME., 2016).

1.10.1 AMALGAMACIÓN CON MERCURIO

La mayoría de los problemas de contaminación con mercurio en el país se derivan de esta técnica. En este proceso la roca o piedra que posee el oro, una vez pasada por trituración o molienda, se mezcla con mercurio líquido buscando que este atrape al metal en una amalgama. El mercurio es eliminado por prensado, y el oro se extrae por un proceso de fundición, en el que la amalgama se calienta hasta ebullición con el fin de evaporar trazas de mercurio que quedan en el proceso (Martínez & Reinaldo, 2018). En muchos casos solo se aprovecha el 10% del mercurio agregado al barril o batea, el 90% es sobrenadante que generalmente se libera al ambiente (Cuentas Alvarado & Velarde Ochoa, 2019).

En 2014 se emplearon aproximadamente 200 toneladas de mercurio. Antioquia fue el mayor consumidor (129,2 toneladas), seguido de Chocó (24,3), Cauca (16,8), Bolívar (15,7), Nariño (5) y Córdoba (1,96). Los primeros cuatro liberan al ambiente más del 90 por ciento del mercurio utilizado en todo el país (Marrugo, 2018).

1.10.2 DRENAJE ÁCIDO DE MINAS

El drenaje ácido de minas AMD, consiste en la aparición de aguas con pH típicamente entre 2 y 4, altas concentraciones de metales tóxicos como consecuencia de la exposición subaérea de sulfuros metálicos durante su explotación minera (Thompson et al., 2020), figura 4. Estos drenajes son tóxicos en diverso grado para el hombre, la fauna y la vegetación, contienen metales disueltos (Fe, Al, Mn, Zn, Cu, Pb, Hg, Cd, Ni) y constituyentes orgánicos solubles e insolubles, que generalmente proceden de labores mineras, procesos de concentración de minerales, presas de residuos y escombreras de mina (Rambabu et al., 2020). Durante la explotación de determinados yacimientos ya sea de carbón, sulfuros metálicos, hierro, uranio y otros, quedan expuestos a la meteorización grandes cantidades de minerales sulfurosos que pueden llegar a formar drenajes ácidos. Para que esto tenga lugar son necesarias unas condiciones aerobias, es decir la existencia de cantidades suficientes de agua, oxígeno y simultáneamente la acción catalizadora de bacterias (Sanchez & Ferreira, 2016).

(Rambabu et al., 2020) describen el proceso de oxidación de la pirita como principal responsable de la formación de aguas ácidas y, afirman que estas reacciones biogeoquímicas se aceleran en áreas mineras debido a que el aire entra en contacto con mayor facilidad con los sulfuros a través de las labores de acceso y la porosidad creada en las pilas de estériles y residuos, unido a ello el cambio de composición química y el incremento de la superficie de contacto de las partículas. También afirman que los procesos físicos, químicos y biológicos tienen gran influencia en la generación, movilidad y atenuación de la contaminación ácida de las aguas, y los factores que más afectan a la generación ácida son el volumen, la concentración, el tamaño de grano y la distribución de la pirita.



Figura 5. Drenaje ácido de minas en Colombia. Fuente (Jiménez, 2016).

1.10.3 CONTAMINACIÓN POR CADMIO Y PLOMO

En cuanto al problema de contaminación con Cd, el hombre ha contribuido enormemente a su dispersión desde los inicios de la actividad minero-metalúrgica de otros metales, y más tarde, al descubrirse la gran utilidad del cadmio en el ámbito industrial, su cómo pigmento en pinturas, esmaltes, plásticos, textiles, vidrios, tintas de impresión, caucho, lacas entre otros. El nivel promedio de cadmio en suelos a nivel mundial, ha sido

ubicado entre 0,07 y 1,1 mg/Kg, con un nivel base natural que no excedería de 0,5 mg/Kg, (Xian et al., 2020). Sin embargo, (Herrera , 2015) nos dice que “Algunos suelos pueden tener niveles de cadmio elevados porque las rocas de las que se formaron tenían el elemento en su composición.” Las rocas fosfóricas, que son la materia prima de todos los fertilizantes fosfáticos, contienen niveles de metales pesados que varían según su origen geográfico, pero que generalmente son superiores al promedio de la corteza terrestre. En el suelo, las concentraciones de origen geogénico, de acuerdo a (Soledad, 2017), generalmente no superan 1 mg/Kg Cd, sin embargo, se han reportado valores de 16.3 mg/Kg Cd asociados a procesos de meteorización y el tipo de material geológico donde se forma el suelo (Soledad, 2017).

En cuanto al plomo la principal exposición ocurre en contexto de la manufactura, extracción minera, plaguicidas (Kushwaha et al., 2018). En relación a la minería del plomo el principal riesgo concierne a los procesos metalúrgicos de las menas de plomo (fundiciones). La demanda global de plomo ha aumentado de forma estable a lo largo del periodo, de 9.1 toneladas en 2008 a 11.9 toneladas en 2017. El crecimiento en la demanda de plomo se puede atribuir principalmente al aumento en la producción de baterías a nivel mundial, lo que representa más del 80% del consumo global en 2017 (UPME, 2018). El país produce 12 toneladas anuales de plomo. Sin embargo, los problemas de contaminación se hacen evidentes en suelos del Magdalena medio con incidencia de actividad petrolera se encontraron valores en un intervalo de 12,67- 24,89 mg/kg muy por encima de los límites permisibles (Peláez et al, 2016).

1.11. CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN EL MUNDO

1.11.1 METALES PESADOS EN CHINA Y JAPÓN

China es uno de los países afectados por una severa contaminación por metales pesados, se estima que unos 600 millones de personas se encuentran en alto riesgo por exposición a agua contaminada o recursos del suelo. (Reyes et al., 2016) aseguran que del 20% de las tierras cultivables se encuentran afectadas por la presencia de metales pesados. En china el resumen de estadísticas de concentración de metales pesados en las regiones mineras de Dexing, Yangjiazhangzhi, Hongqiling y Baiyin, reportan datos de

contaminación por Hg y Pb muy elevados, como se ilustran en la tabla 4. Estas zonas son características de poseer depósitos de metales como el Cu, Au, entre otros, también por la incidencia directa de territorios agrícolas para el cultivo de arroz, sin embargo, las concentraciones de metales como As, Cd, Cu, Hg, Pb y Zn en suelos y sedimentos de arroyos en el área son más altas que sus valores de fondo geoquímicos provinciales y nacionales. (Zhou et al., 2018)

Por otro lado, al cadmio se le atribuye uno de los mayores desastres medioambientales conocidos, que afectó gravemente a los habitantes de la cuenca del río Jinzū, en la Toyama (Japón). El riego de los campos de arroz desde 1910 hasta 1960 con aguas contaminadas con metales pesados procedentes de minas cercanas causó la intoxicación grave en la población, en particular mujeres mayores de 50 años. El cadmio fue liberado en los ríos por las empresas mineras en las montañas. Al final los cultivos de arroz de la zona alcanzaban niveles de concentración del cadmio de 4,2 mg/ Kg (1 mg/kg se puede considerar el nivel máximo permisible). “El agua, cargada de cadmio, zinc, cobre y plomo, se usa para inundar los arrozales. El arroz es capaz de bioconcentrar el cadmio, hasta 3 veces más que el contenido del agua. El suelo tenía unos niveles de 1,1 mg/kg, frente a 0,3 mg/kg de los suelos no contaminados. En arroz la concentración alcanzaba los 4,2 mg/kg, frente a 1 mg/kg en arroz normal.” (OMS, 2015). Esta intoxicación por cadmio produjo la famosa enfermedad conocida como *itai-itai*.

Tabla 4. Resumen de estadísticas de Cd, Cu, Hg, Pb (mg / kg) en: suelos en el área de Dexing, suelos en la provincia de Jiangxi y área de Hongqiling.

SUELOS			
Elemento	Área de Dexing	provincia de Jiangxi	área de Hongqiling
Hg	0,032-0,157	0,006-0,084	-
Pb	7,7-52,4	10,3-32,3	-
Cd	0,058- 1,08	0,006-1,08	0,060-4.44

Tomado de adaptación de (Zhou et al., 2018). El rango de concentración se expresa del nivel más bajo al más alto reportado.

1.11.2 METALES PESADOS EN ESPAÑA

En España la afectación por metales pesados se evidencia en áreas mineras como la de Riotinto. Esta zona reporta contaminación por Cu, Pb, Zn y As, las características del suelo (baja fertilidad y pH) impiden que técnicas remediativas sean aplicadas con éxito. (Gascó et al., 2019) en su estudio dieron a conocer la concentración de estos elementos en suelo “el suelo tenía cantidades significativas de Cu (231 mg/kg), Pb (302 mg /kg). Zn (180 mg/kg) y As (180 mg/kg).” Las concentraciones de estos elementos estaban en el rango de concentración crítica total del suelo. (Gascó et al., 2019) As: 20-50 mg/kg; Pb: 100-400 mg/kg; Cu: 60-125 mg/kg; Zn: 70-140 mg/kg y por encima de los niveles indicados por las regulaciones en otras jurisdicciones europeas o en otros países.

1.11.3 METALES PESADOS EN NIGERIA- AFRICA

El problema con la mayoría de los países en desarrollo, especialmente Nigeria, es la descarga ineficiente de desechos artificiales, especialmente los generados por las industrias, en los ríos circundantes, que terminan siendo los principales receptores de estos desechos. Las concentraciones reportadas por (Edogbo et al., 2020) para Cd, Pb y Zn son 6,68 mg/kg, 0,78 mg/kg y 23,8 mg/kg. Con los cultivos de hortalizas la ingesta diaria de Cd, Cr, Pb y Zn a través del consumo presenta una variación en los últimos años de 0,0003 a 1,52 mg / kg / día, 0,03 a 7,23 mg / kg / día, 0,01 a 0,02 mg / kg / día, 0,48 a 1,39 mg / kg / día, respectivamente, para adultos, por lo que la población nigeriana está siendo expuesta de manera directa a desarrollar problemas crónicos de salud dada a la incidencia de estos metales.

1.12. REMEDIACIÓN DEL SUELO

La remediación es definida por (Martínez & Reinaldo, 2018) como “el tratamiento o conjunto de operaciones que se realizan con el objetivo de recuperar la calidad del subsuelo contaminado (suelos y aguas subterráneas asociadas)”. Existen diferentes técnicas que permiten alcanzar los valores de contaminación residual óptimos para garantizar la salud de las personas y de los ecosistemas (Martínez & Reinaldo, 2018). En cuanto a los tratamientos existen tres tipos, los biológicos, fisicoquímicos y térmicos. De forma resumida los tratamientos biológicos se refieren al uso de organismos, como pueden ser

plantas, hongos o bacterias con el fin de convertir el contaminante en formas más simples (Mosa et al., 2016). El segundo tipo emplea las propiedades químicas o físicas del medio para contener, separar o destruir la contaminación presente (Liu et al., 2019). Por último, los tratamientos térmicos, tienen como finalidad la inmovilización o separación de los contaminantes (oxidación térmica). Las ventajas y desventajas de estos métodos se describen en la tabla 5.

Tabla 5. Ventajas y Desventajas de los tratamientos de remediación.

	ventajas	Desventajas
Tratamientos biológicos	efectividad de costos	Mayor tiempo de tratamiento.
	trae beneficios al medio	Se necesita la verificación de la toxicidad de los intermedios o productos.
	los contaminantes son neutralizados	No puede aplicarse si el suelo no favorece el crecimiento microbiano.
Tratamientos Físicoquímicos	Costo moderado	Residuos peligrosos que necesitan tratamiento disponerse, en consecuencia se aumenta el costo.
	aplicación en periodos cortos	Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes.
	equipo accesible	Necesidad de sistemas de recuperación.
Tratamientos térmicos		Es el grupo de tratamientos más costoso.

Tomado de la adaptación de (Martínez & Reinaldo, 2018; Liu et al., 2019).

Con base en la información expuesta en este capítulo, se concluye lo siguiente. El suelo es el recurso que por sus características químicas, físicas y biológicas permite la subsistencia de un sinnúmero de especies, incluidas las plantas y el mismo ser humano. Su componente biológico es un pilar en actividades tan antiguas como la agricultura. Sin embargo, es afectado directamente ante la explotación minera, una actividad que involucra diversos procesos que traen efectos colaterales en la productividad del suelo. La minería en su conjunto produce toda una serie de contaminantes gaseosos, líquidos y sólidos, que de una forma u otra van a parar al suelo.

La riqueza minero energética de países como Colombia ha permitido que tenga alrededor de 8.880 títulos mineros otorgados por la agencia nacional de minería, pero ante los procesos de extracción y explotación las consecuencias por contaminación son imparables, la remoción de extensas cantidades de suelo y subsuelo, el empleo de sustancias tóxicas, el vertimiento, deposición, emisión de metales pesados y su incorporación en las cadenas tróficas, afectaciones en las fuentes hídricas y la salud, entre otros, es una problemática que sin duda nos afecta a todos. Son muchos los reportes por concentraciones de metales pesados que exceden los límites permisibles en suelo, así el cadmio, plomo y mercurio son un problema de salud pública.

Ante los distintos esfuerzos que han hecho entidades como la OMS y el ministerio de ambiente, se permite destacar la regulación del uso de sustancias como el mercurio (convenio de Minamata y Ley 1658 de 2013), tratando de disminuir en cierto grado su impacto en el ambiente y la salud. Las medidas de protección del suelo están orientadas a la prevención de la contaminación local fomentando las medidas de aislamiento y control, así como la reglamentación de emisiones, vertimiento y deposición aceptables de algunos contaminantes que aseguren el cumplimiento de las funciones del recurso suelo.

Suelos con presencia de concentraciones por encima de los límites permisibles de Hg, Cd y Pb reportados por la EPA, deben tratarse, debe mejorarse y se debe remediar como forma de preservar el recurso para su posterior aprovechamiento en actividades bien sea con fines agrícolas, forestales o agroindustriales.

CAPITULO II. ESTRATEGIAS DE REMEDIACIÓN BIOLÓGICA

Este capítulo aborda las estrategias de remediación biológica para la recuperación de suelos contaminados por metales pesados. Abarca temas como biorremediación, mecanismos de remediación microbiana, factores de incidencia en los procesos biorremediativos, efectos contaminantes de metales pesados en suelo donde se aplica la técnica, evaluación de la eficacia del método y ejemplos de microorganismos utilizados en procesos remediativos. La información plasmada proviene de bases de datos en las cuales se hizo una depuración de artículos de investigación con un periodo de publicación entre 2015-2020. Este capítulo pretende ilustrar la manera en que microorganismos desarrollan adaptaciones y mecanismos de respuesta ante metales pesados que son aprovechados para la recuperación de los suelos, como una alternativa ecológica y beneficiosa al recurso.

Las estrategias de remediación biológica están dirigidas a enfoques ecológicos y sostenibles como la biorremediación, fitorremediación y la rizorremediación para la limpieza y recuperación de sitios contaminados, dado a que la remediación convencional comúnmente implica la eliminación física de contaminantes y su disposición creando subproductos que tienen potencial nocivo (Mosa et al., 2016). Las estrategias de remediación física ahorran tiempo, pero también son costosas, inespecíficas y a menudo hacen que el suelo sea inadecuado para la agricultura y otros usos al alterar el microambiente. Lo que se busca con estrategias de remediación biológica es aprovechar las características genéticas, bioquímicas y fisiológicas que poseen plantas y microorganismos para adaptarse a condiciones extremas, lo que hace que este método pueda establecerse como la mejor opción para la estabilización o eliminación de contaminantes en suelo.

2.1. BIORREMEDIACIÓN

Se refiere al uso de microorganismos naturales y recombinantes (organismos modificados genéticamente) para la limpieza de contaminantes tóxicos ambientales, con un enfoque ecológico y rentable, es decir que produce un beneficio que compensa la inversión y el esfuerzo en su aplicación (Mosa et al., 2016). En su uso, el microorganismo puede eliminar el contaminante ya sea por acumulación intracelular o por una transformación

enzimática a compuestos menores o no tóxicos, las tecnologías de biorremediación en suelos se muestran en la tabla 6 de forma simplificada. La biorremediación utiliza cepas autóctonas o derivadas de un sitio diferente del que presenta los problemas de contaminación (Verma & Kuila, 2019).

La remediación basada en microorganismos depende de la resistencia de la especie utilizada, capacidad metabólica, así como al metal pesado y las condiciones ambientales. También se pueden utilizar plantas (fitorremediación) que se unen, extraen y remedian los contaminantes, transformándolos en biomasa (cuando son del tipo orgánico) o productos inofensivos del metabolismo, que se inmovilizan o separan (Zhang et al., 2020). El objetivo final de un proceso remediador es que el suelo recupere la suficiencia productiva.

Tabla 6. Tecnologías de biorremediación en suelos.

TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN EN SUELOS		
TÉCNICA	CARACTERÍSTICAS	TIPO DE CONTAMINANTE
Biolabranza	El suelo contaminado se mezcla con suelo limpio y nutrientes, y se remueve periódicamente para favorecer su aireación	Diésel, gasolinas, lodos aceitosos, coque, pesticidas.
Bioventilación	proceso que utiliza una mayor oxigenación en la zona no saturada para acelerar la biodegradación de contaminantes	Residuos de crudo, compuestos orgánicos volátiles, vapores o gases presentes en combustibles fósiles, disolventes y pinturas.
Bioburbujeo	Consiste en inyectar aire a presión en la parte inferior para desplazar el agua de los espacios intersticiales de la matriz del suelo.	volatilización de compuestos de la zona insaturada, derrames de petróleo.
Bioestimulación	Modifica el entorno, con la adición de micro y macro nutrientes con el fin de estimular el crecimiento de bacterias "biorremediadoras" existentes en el medio.	Hidrocarburos y metales pesados.
Bioaugmentación	Se inoculan cepas microbianas genéticamente modificadas o si las variedades de bacterias ya presentes son capaces de restaurar el lugar contaminado, se opta por estimular su crecimiento para restaurar entornos con alta concentración tóxica	Metales pesados, pesticidas, hidrocarburos.

Adaptación de (López et al., 2016; Islas et al., 2016).

2.2. REMEDIACIÓN MICROBIANA

El potencial catabólico de los microorganismos hace de la remediación microbiana una técnica segura y ecológica. La población de bacterias cuando se expone a un ambiente contaminado, crea mecanismos que permiten la absorción de los metales, lo que conlleva a la neutralización de los mismos en sus procesos celulares (Verma & Kuila, 2019), esto hace que, en su proceso metabólico, el contaminante pase a un estado de menor toxicidad. Generalmente, las capacidades de absorción de las bacterias para iones de metales pesados varían de 1 mg /g a 500 mg /g (Yin et al., 2019), en comparación con las plantas y los animales, los microorganismos pueden resistir el estrés ambiental a través de una rápida mutación y evolución. La tabla 7, ilustra algunos ejemplos de los microorganismos utilizados en biorremediación.

Los iones de metales pesados tóxicos en forma activa influyen en la diversidad y la actividad metabólica de los microorganismos y, a su vez, los microorganismos pueden desarrollar sistemas de resistencia para superar el estrés de los iones de metales pesados tóxicos (Yin et al., 2019). La aplicación de la técnica de biorremediación se puede hacer *in situ* (en el lugar de origen) o *ex situ* (fuera del lugar de origen). Especies Gram negativas como, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Shewanella oneidensi*, *Pseudomonas sp.*, *Psychrobacter sp.* y Gram positivas como *Bacillus sp.*, nombradas por (Beltrán & Gómez, 2016) son usadas en la remediación de Cd, Cr y Hg; otros como (Niane & Moritz, 2019) pudieron comprobar que especies como *Arthrobacter pascens*, *Bacillus firmus* y *Pseudomonas moraviensi*, son resistentes a concentraciones de Hg entre 4.2 -6,2 mg/kg, y que en su aislamiento en laboratorio, estas cepas pueden crecer hasta en un medio que contenga 17 mg/L de Hg²⁺.

Por su parte (Deomedesse & Carareto, 2020) llevaron a cabo un aislamiento bacteriano de suelos contaminados con Cd, Cr y Ni, donde se encontraron bacterias correspondientes a los géneros: *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Ensifer* y *Cupriavidus* resistentes a concentraciones de Cd 2,92 mmol/dm³ y fueron capaces de eliminar Cd²⁺ entre el 17–33% del medio de cultivo. Por su lado (Taluksdar et al., 2020) logro aislar la cepa del hongo *Aspergillus fumigatus* para la remediación de Cd, dicha cepa presento una eficacia del 74,7% en la eliminación de Cd(II) en el medio de cultivo, con una capacidad

de adsorción de 5,02 mg/g. La cepa del hongo *Aspergillus terreus*, aislada por (Sharma et al., 2020) presentó una eficiencia del 90% en la remoción de Pb con una adsorción máxima de 4,12 mg/g de Pb, en el mismo estudio la cepa del hongo *Talaromyces islandicus*, presentó una eficacia del 88,1% con capacidad de adsorción de 4,56 mg/g de Pb en el medio. La cepa bacteriana *Sphingobium* SA₂, demostró una eficacia del 79% en la eliminación de Hg en el cultivo (Mahbub et al., 2016).

Sin embargo, es necesario describir los mecanismos por medio de los cuales estas bacterias son capaces de desarrollar resistencia a la toxicidad de metales pesados. En la sección 2.3 se describen los mecanismos que comúnmente desarrollan las bacterias para catabolizar, protegerse u ofrecer resistencia a los contaminantes.

Tabla 7. Ejemplo de algunos microorganismos utilizados en biorremediación.

	Microorganismo	Metales Objetivo	pH de trabajo óptimo	Capacidad de adsorción de metal (mg/g)
Bacterias	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hg (II)	7	180
	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pb (II)	7,2	49,5
	<i>Bacillus</i> sp.	Pb (II)	5	15,4
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cd (II)	6	16,9
	<i>Bacillus cereus</i>	Cd (II)	5	31,9
	<i>Ochrobactrum</i> sp.	Cd (II)	6	83,3
Hongos	<i>Aspergillus niger</i>	Pb(II)	5,4	172
	<i>Penicillium simplicissimum</i>	Pb(II)	5	76,9
	<i>Trichoderma</i>	Cd(II)	6	21,7
	<i>Aspergillus niger</i>	Cd(II)	5,5	11
Algas	<i>Fucus vesiculosus</i>	Pb(II)	4	229
	<i>Cladophora fascicularis</i>	Pb(II)	5	198,5
	<i>Sargassum filipendula</i>	Cd(II)	6	7.8

Adaptación de (Yin et al., 2019).

2.3. MECANISMOS DE REMEDIACIÓN MICROBIANA

Los microbios poseen la capacidad de degradar algunos contaminantes orgánicos e inorgánicos en productos finales o en intermedios metabólicos que se utilizan como sustratos para el crecimiento celular (Giovanella et al., 2020). (Yin et al., 2019) describe que las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y carbohidratos complejos) juegan un papel importante en la adsorción de iones de metales pesados. Los EPS de la superficie de la célula microbiana puede proteger a los microbios contra la toxicidad de los metales pesados evitando su entrada al ambiente intracelular, por la presencia de grupos funcionales catiónicos y aniónicos que pueden acumular eficientemente iones de metales pesados, incluidos los iones de mercurio, cadmio y plomo.

Principalmente los mecanismos de remediación microbiana se pueden clasificar en cuatro procesos: biosorción, bioacumulación, biotransformación y biomineralización, como se ilustra en la tabla 8.

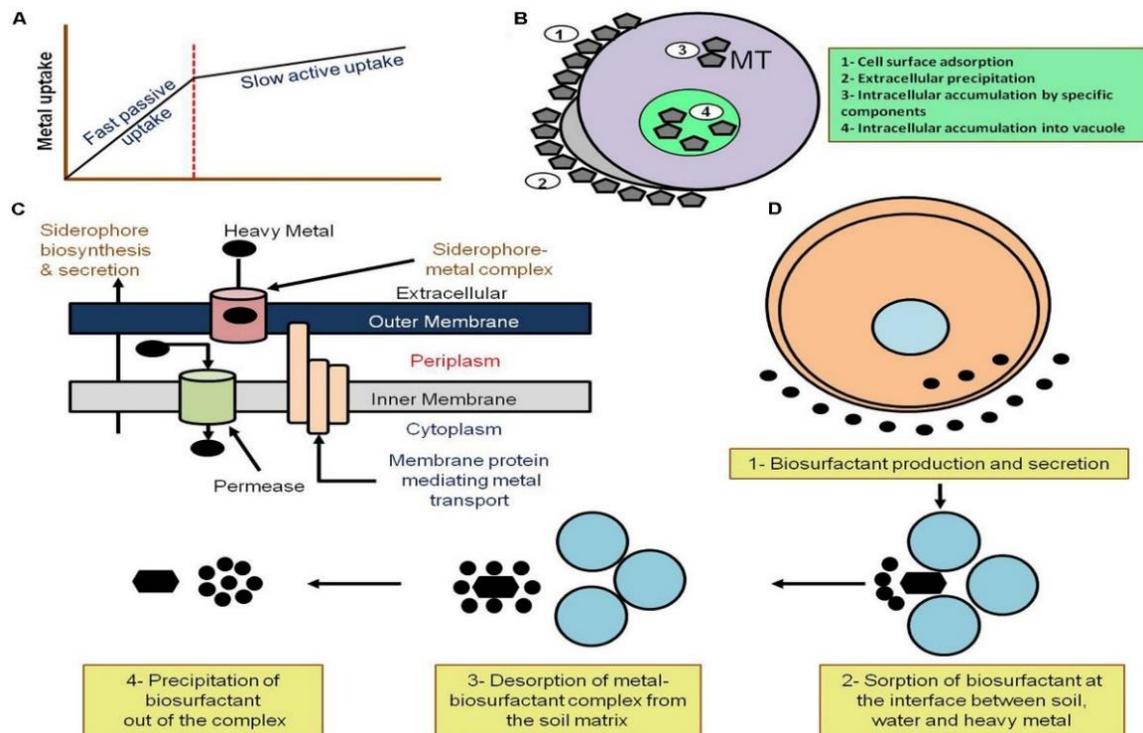


Figura 6. Mecanismos de remediación microbiana. Fuente (Mosa et al., 2016).

La figura 6, ejemplifica el mecanismo de acción remediativa de un microorganismo frente a un contaminante. En la sección A: Captación pasiva y activa, la

captación de metales pesados puede ser pasiva (rápida) a través de la adsorción en la superficie celular o cualquier componente extracelular como los polisacáridos, o alternativamente activa (lenta) mediante el secuestro de los metales pesados mediante la interacción con las proteínas metalotioneínas (MTs) en la célula. La sección B: se refiere al mecanismo de biosorción por células bacterianas. La sección C: ilustra la remediación de metales pesados a través de la formación de sideróforos, con la ayuda del transporte de metales mediado por proteínas de membrana y la formación de complejos sideróforos-metales, y la sección D: muestra el mecanismo de remediación y biomineralización de metales pesados por biosurfactantes (Mosa et al., 2016).

Tabla 8. Mecanismos de remediación Microbiana.

MECANISMOS DE REMEDIACION MICROBIANA					
BIOSORCIÓN Y BIOACUMULACIÓN	Se refiere a una serie de procesos en los cuales los microorganismos o la biomasa se unen y concentran contaminantes	BIOSORCIÓN	Proceso metabólico pasivo. Este método depende del secuestro de metales pesados tóxicos por los restos de las superficies celulares biosorbentes.	ESPECIES	Bacterias: <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> . Hongos: <i>Rhizopus arrhizus</i> .
		BIOACUMULACIÓN	Proceso metabólico activo. Tiene lugar cuando la tasa de absorción del contaminante es mayor que la tasa de pérdida. Por lo tanto, el contaminante permanece contenido y acumulado dentro del organismo.	ESPECIES	Bacterias: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Listeria sp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Alcaligenes eutrophus</i> , <i>Pseudomonas putida</i> .
FORMACIÓN DE SIDERÓFOROS	Agentes quelantes de hierro selectivos y específicos secretados por organismos vivos como bacterias, levaduras, hongos; de peso molecular bajo y afinidad a iones metálicos trivalentes.			TIPOS	sideróforos de hidroxamato, sideróforos de catecolatos (fenolatos) y sideróforos de carboxilato

PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES	Tensioactivos producidos o secretados por organismos vivos como los microbios que alteran las condiciones predominantes de las superficies a través de la adsorción, lo que conduce a una tensión superficial más baja entre líquidos o entre un líquido y un sólido.	USO	Formación de complejos y remediación metales pesados como Cd, Pb y Zn.
--------------------------------------	---	------------	--

Adaptación de: (Kumar et al., 2016).

2.3.1. BIOSORCIÓN

La biosorción es el proceso que describe la unión del metal con el microorganismo. Implica varios métodos, que incluyen: interacción electrostática, el intercambio iónico, adsorción física y química, la adsorción superficial y la difusión (Zhang et al., 2020). La pared celular microbiana es el primer componente que bloquea la entrada de contaminantes a las células, de modo que, para permitir el paso del contaminante, éste debe tener algún tipo de afinidad con las sustancias que componen la pared. “Un ejemplo de esto ocurre cuando se aprovecha la propiedad lipídica de compuestos hidrofóbicos, permitiendo el paso a través de las membranas, absorbiéndose en la matriz orgánica” (Zhang et al., 2020, p. 7). En presencia de metales pesados, las fuerzas de unión incluyen interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, unión de grupos funcionales, entre otros. Por ejemplo, los microorganismos cargados negativamente tienden a atraer cationes metálicos en comparación con los compuestos orgánicos (Mosa et al., 2016).

2.3.2 BIOACUMULACIÓN

La bioacumulación se refiere al proceso en el que los contaminantes ingresan al citoplasma a través de la membrana celular y se acumula dentro de la célula (Zhang et al., 2020). El proceso de bioacumulación involucra un sistema de transporte de membrana que trata de interiorizar al metal presente en el entorno celular, mediante un consumo de energía del sistema H^+ -ATPasa; una vez incorporado el metal al citoplasma, este es secuestrado por la presencia de Metalotioneínas (Xian et al., 2021), un conjunto de metalproteínas con la capacidad de unirse a metales pesados a través de grupos tiol (-SH) permitiendo su acumulación en las células bacterianas (Mosa et al., 2016).

2.3.3 BIOTRANSFORMACIÓN

Los metales no pueden degradarse, estos pueden ser convertidos a estados poco solubles en agua, solubles en agua, o bien, pueden ser reducidos a un carácter menos tóxico.

El proceso de biotransformación o desintoxicación enzimática, se basa en la modificación química de iones de metales pesados de una forma altamente tóxica a una forma menos dañina por el trabajo de enzimas contribuyes en gran medida a la resistencia de los microorganismos a los iones de metales pesados (Yin et al., 2019), por ejemplo, la reductasa mercúrica es responsable de la desintoxicación del mercurio. El Hg (II) se transforma enzimáticamente en un Hg⁰ volátil con menos toxicidad. La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* puede reducir el catión Hg²⁺ a Hg⁰, y otros organismos pueden luego metilarlo dando como producto el CH₃Hg⁺ y (CH₃)₂Hg, que son volátiles. Muchos microorganismos reducen el Cr (VI) a Cr (III), que es menos tóxico y menos soluble (Kit Leong & Chang, 2020). Esta vía de defensa puede ser regulada por enzimas de desintoxicación, que también está controlada por genes de resistencia especiales de microorganismos.

2.3.4 BIOMINERALIZACIÓN

La biomineralización se refiere al proceso de transformación de metales iónicos en minerales sólidos, en células y tejidos específicos bajo el control o la influencia de materia orgánica biológica (Xian et al., 2021; Kumari, 2020).

“Los microorganismos son capaces de precipitar metales, mediante un mecanismo de resistencia codificado en genes de plásmidos (moléculas de ADN extracromosómico circulares, autorreplicantes, que codifican genes no esenciales para la supervivencia celular); estos genes codifican transportadores de membrana que controlan la captación y exclusión de iones de metales pesados. Este mecanismo aparece por el funcionamiento de una bomba que expulsa el metal tóxico presente en el citoplasma hacia el exterior celular en contracorriente a un flujo de H⁺ hacia el interior celular. Esto produce una alcalinización localizada sobre la superficie celular externa y por lo tanto la precipitación del metal pesado” (Yin et al., 2019).

De manera que la mineralización biológicamente controlada generalmente implica dos formas. En primer lugar, los cationes se transportan activamente al interior de la célula y luego se propagan a la matriz orgánica. En segundo lugar, los cationes se acumulan en la célula para formar vesículas, y luego las vesículas se transportan al exterior de la célula y se rompen en la matriz orgánica para liberar cationes y formar minerales. (Zhang et al., 2020)

2.4 PAPEL DEL operón *mer* EN LA BIORREMEDIACIÓN

La remediación de contaminantes como Hg consiste en transformar el Hg orgánico más tóxico (Metil mercurio) y persistente en Hg⁰ menos tóxico y volátil o en forma de sulfuro que no entra en la cadena alimentaria. Los mecanismos de resistencia que desarrollan algunas de las bacterias mencionadas incluyen, en primer lugar la formación y unión del grupo tiol (SH) (alta afinidad por el Hg) a diferentes formas de Hg y la disminución de su toxicidad o, en segundo lugar, la aparición de un obstáculo de permeabilidad celular para detener la entrada de Hg en la bacteria, es decir la célula bacteriana limita el paso del metal a través de la membrana, ya sea reduciendo el tamaño de poros, polaridad y carga (Kumari, 2020). Sin embargo, el proceso vital de resistencia al mercurio se basa en el operón *mer*, que puede presentarse en el ADN genómico. Este tipo de genes operón *mer*, lo poseen un amplio grupo de bacterias en las que se incluyen, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter*, *Bacillus sp.*, *Enterobacte*, *Psychrobacter sp.*, entre otras (Naguib, 2018). En la tabla 9, se ilustran los genes *mer* operon y su función.

Tabla 9. Genes en *mer* operon y sus funciones.

GENES	PROTEÍNA CODIFICADA	UBICACIÓN	FUNCIÓN
<i>mer A</i>	Reductasa mercúrica	Citoplasma	Conversión de Hg ²⁺ a Hg ⁰
<i>mer B</i>	Liasa organomercurial	Citoplasma	Lisis del enlace C-Hg ⁺
<i>mer D</i>	Proteína reguladora	Citoplasma	Regula negativamente el operón <i>mer</i>
<i>mer R</i>	Proteína reguladora	Citoplasma	Regula positivamente el operón <i>mer</i>
<i>mer C</i>	Proteína de transporte de iones mercúricos	Membrana interna	Transporte de iones mercúricos
<i>mer E</i>	Proteína de transporte de metilmercurio	Proteína interna	Absorción de organo-mercuriales en el citoplasma.
<i>mer P</i>	Proteína de unión a iones mercúricos periplásmicos	Periplasma	Transferencia de Hg ²⁺ a proteínas integrales de membrana

(Kumari, 2020, Naguib, 2018).

Un ejemplo del uso de genes *mer* es el reportado con hongos como *Penicillium spp.*, cepa DC-F11, que volatiliza el Hg (II) (Chang et al., 2020), este hongo mostró un

potencial de biorremediación para reducir la fitotoxicidad del Hg (II), el Hg total y el Hg intercambiable en suelos contaminados con Hg (II), mediante un mecanismo de secuestro extracelular mediante adsorción y precipitación. La volatilización de Hg (II) de los aislamientos se evaluó midiendo la reducción del contenido de Hg (II) en el medio líquido LB (40 ml en matraces cónicos de 150 ml) inoculado con una suspensión de esporas de 1ml (10^6 UFC ml⁻¹) a una concentración inicial de Hg (II) de 5.0 y 10.0 mg/L, durante 7 días a una temperatura de 30°C; DC-F11 exhibió una capacidad relativamente alta para la volatilización de Hg (II) (40,62%) con una tasa de eliminación total del 85,02% y una tasa de unión celular del 44,40% en el medio líquido LB que contenía una dosis inicial de 5 mg L⁻¹ de Hg (II).

2.5 FACTORES QUE AFECTAN LA BIORREMEDIACIÓN

De acuerdo con (Guo et al., 2018), dentro de un proceso remediativo existen factores que interfieren en la eficacia del proceso. La tabla 10 describe la afectación que genera diversos factores físicos- químicos y ambientales del suelo en la remediación.

Tabla 10. Principales factores que afectan la biorremediación de suelos contaminados.

Factores	Remediación Microbiana	Fitorremediación
pH	Biodisponibilidad de contaminantes, nutrientes, fisiología biológica y actividad enzimática.	
Temperatura	Biodisponibilidad de contaminantes, nutrientes, fisiología biológica y actividad enzimática. Volatilización de contaminantes.	
Tipo de suelo	Tasa de biorremediación, contenido orgánico, interacción entre contaminantes existentes.	biodisponibilidad de contaminantes, eficacia de la fitorremediación, interacción entre contaminantes coexistentes.
Contenido Orgánico	Biodisponibilidad de contaminantes, suministro de nutrientes, interacción entre contaminantes coexistentes.	

Naturaleza de los contaminantes	Diferentes valencias y formas de metales, efectos tóxicos en los organismos, estructura y peso de las moléculas afectan la susceptibilidad a la biorremediación.
Concentración de los contaminantes	Actividad biológica y eficiencia de la remediación, la interacción entre contaminantes coexistentes.
Especies de microorganismos	Capacidad de los organismos para absorber, transportar acumular y metabolizar contaminantes. Entorno de la rizósfera.

Adaptación de (Kit Leong & Chang, 2020, Guo et al., 2018, Zhang et al., 2020).

2.5. 1 FACTORES BIÓTICOS

Una remediación exitosa depende de la supervivencia de la especie microbiana, este proceso involucra en gran medida la densidad del inóculo, la colonización en el medio, la competitividad y la actividad microbiana (Kit Leong & Chang, 2020). Una vez el microorganismo supera la fase de supervivencia, entra en juego la actividad biológica, sin embargo, esta actividad es afectada por factores tales como biomasa, fuentes de nutrientes, la profundidad de la raíz de la planta (para fitorremediación), ambiente de la rizósfera, temperatura, humedad, pH, especies simbióticas, tolerancia y acumulación de una variedad de metales en los brotes (en plantas o raíces utilizadas en fitorremediación) (Verma & Kuila, 2019). Además, la viabilidad de los inoculantes puede inhibirse por la formación de intermediarios tóxicos que generan los contaminantes, haciendo que la capacidad de degradación se reduzca (Guo et al., 2018).

2.5.2 FACTORES ABIÓTICOS

Los factores abióticos se engloban como lo describe (Zhang et al., 2020) en: “aquellos que pueden afectar significativamente la biorremediación de metales como también de plaguicidas.” Entre los que encontramos el pH, temperatura, humedad del suelo, tipo de suelo, potencial redox (Eh), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y los efectos de los contaminantes en el suelo.

2.5.2.1 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO QUE INFLUYEN EN LA BIORREMEDIACIÓN.

Dentro de las propiedades del suelo para remediación, la influencia de factores característicos desencadena la afectación de procesos secundarios, dichas propiedades y sus efectos directos se describen a continuación.

2.5.2.1.1 pH

El pH afecta la remediación de muchas formas, a continuación, se explican algunas:

- I. Biodisponibilidad de Metales:** cuando el valor del pH disminuye, provoca un aumento de la biodisponibilidad de metales en la solución del suelo; a un pH bajo, la capacidad de intercambio entre cationes metálicos y los iones H^+ en suelo, es mayor que a un pH alto; principalmente porque los iones metálicos de las partículas minerales de arcilla y la superficie de los coloides entran en la solución del suelo (Guo et al., 2018).
- II. Microbios:** las especies microbianas tienen un rango óptimo de pH para su supervivencia, pero también el potencial redox y la solubilidad de los metales se ve afectada con el pH; las valencias y formas en que se presentan los metales pueden producir efectos tóxicos para los microorganismos (Aabida, 2018).
- III. Procesos de adsorción:** los cambios en el pH inciden en la unión de iones metálicos en las reacciones de adsorción (Deomedesse & Carareto, 2020).
- IV. Componente orgánico del suelo:** al aumentar el pH, la afinidad de los iones del ligando por los cationes metálicos de las partículas minerales de las arcillas aumenta, y esto facilita la disociación de los grupos funcionales de los componentes orgánicos en el suelo. Como los grupos funcionales alcohólico, carbonilo, carboxilo y fenólico (OH, CO, Phe).
- V. Proceso de absorción de metales por las plantas:** dicho efecto es a nivel de disponibilidad de iones metálicos en su forma absorbible en solución y a nivel de la activación de grupos funcionales (potenciales centros de adsorción) en la superficie del adsorbente. “los cationes metálicos se activarán a un pH más bajo mientras que los aniones metálicos serán más solubles a un pH más alto “(Zhang et al., 2020).

2.5.2.1.2 Temperatura

La temperatura del suelo influye en la biorremediación de metales pesados, un aumento en esta tiene incidencia en la solubilidad de los metales, así como en el proceso de adsorción y desorción en microbios. La capacidad de adsorción y la intensidad de desorción aumentan con el aumento de la temperatura. Por otro lado, la temperatura influye en el crecimiento, actividad y potencial de degradación de microorganismos, dado a que la mayoría de los microorganismos reduce la velocidad a la que se reproduce cuando existe una disminución de la temperatura o puede aumentar la velocidad de reproducción cuando la temperatura aumenta. Además, la humedad inadecuada del suelo puede dificultar el proceso de biorremediación. El bajo contenido de humedad del suelo limita el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos, mientras que los valores altos reducen la aireación del suelo (Edogbo et al., 2020).

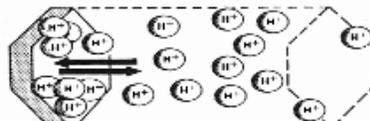
2.5.2.1.3 Potencial Redox:

El potencial redox del suelo se define como la medida a la tendencia de obtener o proporcionar electrones en la solución del suelo. En esta matriz existen muchos iones metálicos con múltiples formas redox, en cuanto a la solubilidad y movilidad de los metales esta depende en gran medida de los estados de oxidación. El Eh determina en su mayoría los tipos metabólicos de las comunidades bacterianas, cada tipo microbiano responde de acuerdo a las condiciones de Eh (Song et al., 2017)

En el suelo existe un equilibrio entre los agentes oxidantes y reductores. La materia orgánica se encuentra reducida y tiende a oxidarse, al oxidarse tiene que reducir a otro de los materiales del suelo. La oxidación de la materia orgánica libera energía para microorganismos más CO₂. La aireación del suelo es importante, así como la existencia de agua en su composición, de manera que predomine el oxígeno para dar paso a la oxidación (Zhang et al., 2020).

El potencial redox afecta a aquellos elementos que pueden existir en el suelo en dos o más estados de oxidación, como es el caso del O, C, N, S, Fe, Mn, C y Cu, figura 7. Las condiciones de óxido-reducción resultan ser de vital importancia en los procesos de meteorización o alteración de los minerales del suelo y las rocas de las que proceden, por

lo que repercuten directamente en la formación de los tipos de suelo, así como en la actividad biológica de los mismos. Del mismo modo, afectan a su fertilidad, ya que condicionan la biodisponibilidad de varios elementos nutritivos indispensables para el desarrollo de las plantas, vía modificación del pH (Zhang et al., 2020).



Movilidad	Medio oxidante	Medio ácido	Medio neutro o alcalino	Medio reductor
Alta	Zn	Zn, Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au		
Media	Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au, Cd	Cd	Cd	
Baja	Pb	Pb	Pb	
Muy baja	Fe, Mn, Al, Sn, Pt, Cr, Zr	Al, Sn, Pt, Cr	Al, Sn, Cr, Zn, Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au	Zn, Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au, Cd, Pb

Figura 7. Movilidad de los metales en suelo en función del Eh y pH. Fuente: (Mesa, 2016)

2.5.3. EFECTO DE LOS CONTAMINANTES EN LA BIORREMEDIACIÓN

Los efectos de los contaminantes sobre la biorremediación se pueden dividir en dos aspectos. En primer lugar, cuando hay presencia de metales influyendo directamente en los organismos. En segundo lugar, cuando los procesos de biorremediación de metales se ven afectados por contaminantes coexistentes en la matriz de interés.

Los metales pesados afectan la actividad biológica a través de las vías metabólicas, una vez adsorbidos por la célula, estos cationes pueden interactuar con ligandos orgánicos como membranas celulares, ácidos nucleicos, enzimas y proteínas. Cuando existen concentraciones bajas de metal estas pueden estimular la actividad biológica. Sin embargo, los contaminantes metálicos pueden inhibir la actividad enzimática o proteica cuando se “disfrazan” como grupos catalíticos activos o cambiando las estructuras proteicas. Cuando se presentan cationes metálicos tóxicos como Hg, Cd, Cu, Pb, pueden reemplazar los cationes esenciales de las enzimas, quitándoles su funcionalidad (Yin et al., 2018).

Los metales ejercen una presión oxidativa sobre los microorganismos. La causa más común de toxicidad por metales es la unión estrecha de iones metálicos a grupos

sulfhidrilo de enzimas, que son necesarios para el metabolismo microbiano general (Verma & Kuila, 2019).

El segundo aspecto a considerar es cuando los procesos de biorremediación de metales se ven afectados por contaminantes coexistentes. Si el contaminante coexistente en el suelo es de carácter orgánico, el metal tiende a formar complejos organometálicos. Especialmente, los cationes metálicos tienen una alta afinidad con los contaminantes orgánicos ricos en electrones. La formación de complejos metal-orgánicos cambia las formas existentes de contaminantes, por lo que la solubilidad, biodisponibilidad y toxicidad de los contaminantes se ven afectadas. En comparación con los contaminantes individuales, los contaminantes coexistentes tienden a presentar diferentes modos de patrones de acción conjunta, como interacciones aditivas, sinérgicas o antagónicas. Por tanto, los procesos de biorremediación de contaminantes combinados se han vuelto complejos (Zhang et al., 2020).

2.6 EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA REMEDIACIÓN DEL SUELO

Una vez implementado el procedimiento de biorremediación en el área afectada, se necesitan métodos posteriores de monitoreo y evaluación para comprobar la efectividad de la técnica. Este punto de monitoreo es clave para la reutilización del suelo y también es la base para el tratamiento posterior que se le quiera dar. La figura 8 muestra el ciclo de evaluación de un proceso remediativo.

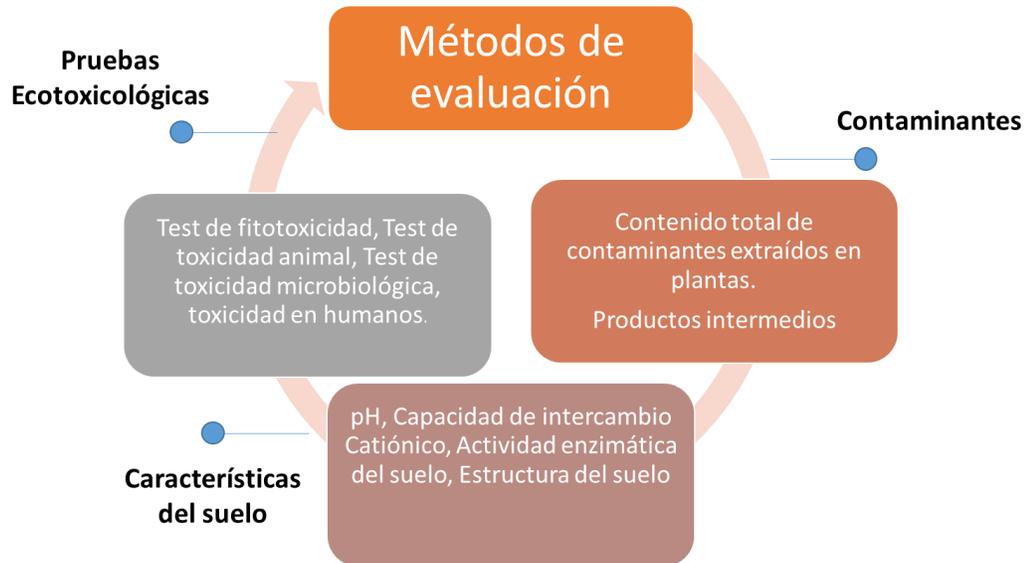


Figura 8. Métodos de evaluación en la remediación de suelos. Fuente (kit Leong et al., 2020).

- I. **Contenido de contaminantes:** El contenido de contaminantes, según (Verma & Kuila, 2019) en el suelo puede mostrar la concentración actual del metal contaminante en el suelo tratado. Puede evaluarse comparando la concentración del metal antes y después de la remediación. Calculándose a partir de la tasa de absorción de metales, que se hace a partir de la técnica analítica de absorción atómica, la cual permite conocer la concentración de analito en una muestra. El método consiste en la medición de las especies atómicas por su absorción a una longitud de onda particular. La fuente de energía de esta técnica es una fuente luminosa (una lámpara de cátodo hueco), con un espectro electromagnético que abarca desde la radiación visible hasta la ultravioleta (Guo et al., 2018).

- II. **Características del suelo:** dentro del proceso de remediación ciertas características del suelo son modificadas, como el pH, capacidad de intercambio catiónico, estructuras y actividades enzimáticas, dichas características sirven de indicadores para la evaluación. Para el pH, la inmovilización *in situ* de metales, generalmente da como resultado un pequeño aumento en su valor. Otro indicador es la CIC que se utiliza para evaluar la capacidad de retención de nutrientes, la fertilidad y la protección contra los contaminantes catiónicos del agua subterránea. Para las

actividades de las enzimas, (B. Song et al. ,2017) encontraron que el cambio de forma del metal afecta la actividad de las enzimas presentes en el suelo, especialmente ureasa, deshidrogenasa y β -glucosidasa, que pueden considerarse como los bioindicadores de la calidad biológica y la toxicidad del metal.

III. Riesgos ecológicos y pruebas eco toxicológicas: En este punto (Song et al., 2017) recomienda el uso de organismos naturales del suelo para desarrollar pruebas eco toxicológicas y riesgos ecológicos. Desarrollándose en pruebas de fitotoxicidad, toxicidad animal, toxicidad microbiana y riesgo para la salud humana. La fitotoxicidad se define como los efectos perjudiciales de sustancias específicas o condiciones de crecimiento en varios procesos fisiológicos de las plantas, como el crecimiento de las plántulas, la germinación de las semillas y la capacidad de absorción de agua. En cuanto a la toxicidad animal un buen indicador de la morfología, fisiología y fauna, son las lombrices de tierra debido a su estrecho contacto con el suelo y la red alimentaria terrestre (Zhang et al., 2020).

Ya que los microorganismos reaccionan fácil y rápidamente a estímulos ambientales, la medición de CO₂ producido es una estimación de la actividad y, por lo tanto, de la presencia microbiana, tal actividad varía en función de muchos factores, como el uso del suelo, mineralogía, cobertura vegetal, prácticas de manejo, calidad de los residuos que entran al sistema, factores ambientales, entre otros. La evolución del CO₂ es un parámetro ligado al manejo de materiales orgánicos el cual representa una medición integral de la respiración del suelo, conocida como respiración edáfica basal (respiración de las raíces, fauna del suelo y la mineralización del carbono de suelo y desechos) (Verma & Kuila, 2019). Por otra parte, la actividad deshidrogenasa, es un indicador de la actividad bioquímica total del suelo debido a que esta actividad es catalizada por enzimas. La deshidrogenasa (ADH), es un reflejo de las actividades oxidativas de la microflora del suelo (Islas et al., 2016).

2.7 EJEMPLOS PUNTUALES DE MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS

Dentro de las estrategias de remediación biológica el uso de microorganismos ha permitido que la recuperación de los suelos sea más amigable con el medio ambiente. A continuación, se ilustran ejemplos de microorganismos utilizados para la remediación de metales pesados, incluidos cadmio, plomo y mercurio.

2.7.1 BIORREMEDIACIÓN DE METALES POR EXTREMÓFILOS

MICOORGANISMOS EXTREMÓFILOS

El grupo de los extremófilos engloba a los microorganismos que adaptan su maquinaria celular para funcionar en condiciones de estrés extremo (Salwan & Sharma, 2020). Las características fisiológicas y enzimas únicas que permiten su supervivencia en ambientes hostiles los hace ser prometedores para la biotecnología ambiental (Giovanella et al., 2020). El desarrollo de estrategias de defensa como lo indica (Bilal et al., 2020), ver figura 9, les permite sobrevivir y clasificarse de la siguiente manera: bajo presión extrema (piezófila), temperatura (psicrófila, termófila o hipertermófila), salinidad (halófila), sequedad (xerófila), pH (acidófilo o alcalófilo), bajo contenido de nutrientes (oligotrófico) o incluso dentro de roca o dentro de los poros de los granos minerales (endolíticos), lo que lleva a la biosíntesis de biomoléculas con diversas actividades biológicas.

Según las condiciones de crecimiento, los extremófilos se clasifican en organismos extremófilos y extremotolerantes. La categoría extremófila incluye organismos que tienen la capacidad de crecer en una o más condiciones ambientales extremas, mientras que los extremotolerantes incluyen organismos que normalmente crecen en condiciones óptimas pero que también pueden sobrevivir expuestos a condiciones ambientales extremas. Los organismos extremotolerantes también se conocen como extremótrofos. Además de esto, hay organismos que pueden tolerar más de una condición extrema como temperatura y pH extremos, radiaciones, metales, entre otros, y se conocen como poliextremófilos (Salwan & Sharma, 2020).

Los microbios extremófilos generalmente se adaptan a ambientes ácidos, fuentes termales o procesos de biooxidación / biolixiviación donde la concentración de metales es alta. Tal es el caso de microorganismos como *Acidithiobacillus ferrooxidans* que muestra resistencia a los metales pesados cadmio y cobre, *Thermus thermophilus* hacia el mercurio, *Ferrimicrobium acidiphilum* hacia el hierro y el zinc, y *Geobacillus stearothermophilus* hacia el cadmio (Bilal et al., 2020, Salwan & Sharma, 2020). Sin embargo su estudio aun es limitado y se encuentran pocos reportes de su utilización en biorremediación.

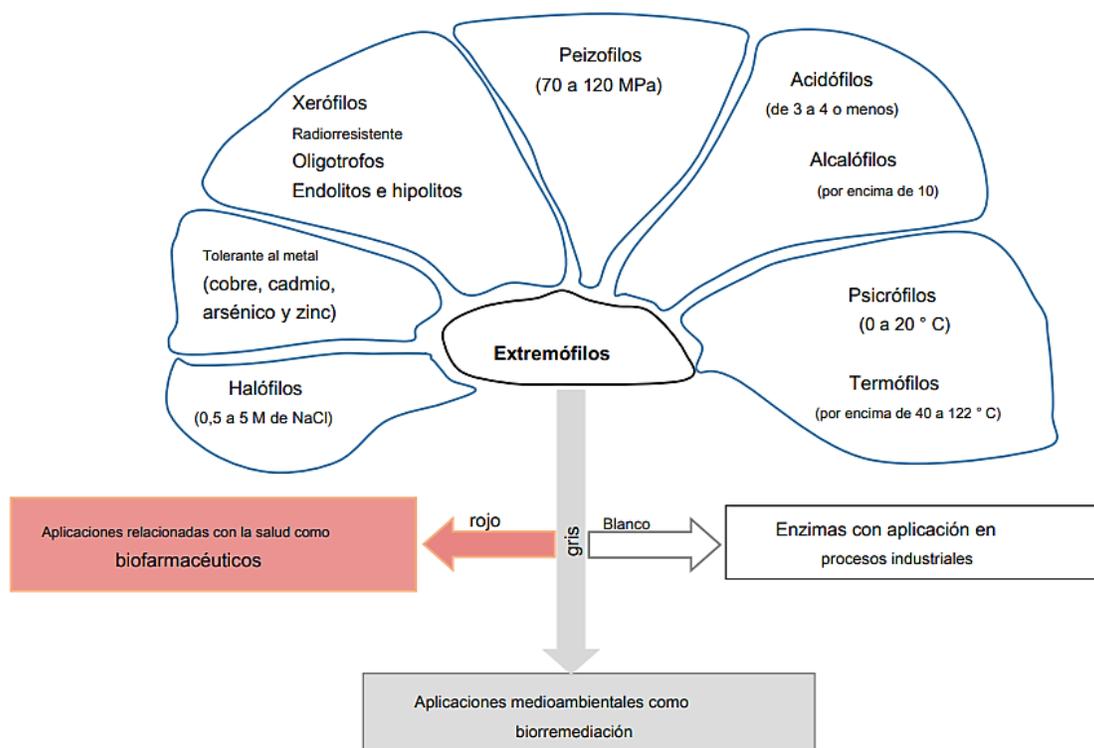


Figura 9. Categorías de organismos extremófilos y aplicaciones. Fuente (Salwan & Sharma, 2020).

2.7.1.1 EJEMPLOS DE BIORREMEDIACIÓN DE METALES POR EXTREMÓFILOS

En cuanto a remediación, La cepa de *Haloferax* BBK, estudiada por (Das et al., 2014) demostró la eliminación del 21% de Cd en el medio de cultivo; la cepa creció en un medio suplementado con cadmio hasta 4 mM, un rango de pH de 6 a 10 y un rango de

salinidad de 10 a 25% de NaCl en 1 mM de Cd, en un término de 196 días. El aislamiento de la cepa de *Pseudomonas* sp. W6 (Kalita & Joshi, 2017) de una fuente de agua termal, resulto con la capacidad de eliminar el 65% de plomo en efluentes por un proceso de biosorción, el cultivo de bacterias se desarrolló en condiciones de laboratorio a una concentración de 1mM-5mM de Pb, la cepa W6 pudo crecer a varias temperaturas que van desde 37 a 45 ° C con un crecimiento óptimo a 40 ° C y pH 7 en un periodo de 90 días.

2.7.2 ACTINOBACTERIAS Y SU PAPEL EN BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS

Las actinobacterias son un género definido por Harz en 1877, característico de ser del tipo Gram positivos, con algunas especies anaerobias y facultativas. Su distribución es amplia en ecosistemas acuáticos y terrestres (Hamedi et al., 2015). En cuanto a su función ambiental desempeñan un papel en el reciclaje de sustancias, degradación de polímeros y producción de moléculas bioactivas. Pero a lo que se le atribuye su importancia en biorremediación es su capacidad de eliminar contaminantes orgánicos e inorgánicos (Alvarez, 2017).

Algunas especies reportadas en remediación son: (Limcharoensuk et al., 2015) estudió la cepa *Tsukamurella paurometabola* A155 aislada de una mina de zinc en Tailandia. Esta cepa ha mostrado capacidad para crecer en presencia de Cd (II) o Zn (II) y para bioacumular estos metales en concentraciones de 550 mg/g de Cd, 299 mg/g Zn. En condiciones de laboratorio se determinó la adsorción de metales Cd y Zn con una concentración inicial de metal 25 mg/g, pH 6, temperatura 30 ° C durante 12h. Así mismo, (Wheeler et al., 2001) reporta las especies de *Frankia*, pertenecientes al orden *Frankiales* que han mostrado resistencia a metales pesados como Cd (II), Co (II), Cu (II), Cr (VI), Ni (II) y Zn (II).

2.7.3 MICROALGAS EN REMEDIACIÓN DE Hg, Cd Y Pb.

Las microalgas son un grupo de organismos con características biológicas importantes, como alta eficiencia fotosintética y estructura simple, tienen la capacidad de crecer en condiciones ambientales extremas con presencia de metales pesados, alta

salinidad, estrés nutricional, altas o bajas temperaturas. (Ubando et al., 2021; Cameron et al., 2018). Estas especies desarrollan mecanismos únicos de autoprotección contra la toxicidad de metales, como pueden ser la inmovilización, la regulación de genes, la exclusión y la quelación, así como la producción de antioxidantes o enzimas reductoras que reducen los metales pesados mediante reacciones redox (Abinandan et al., 2019).

2.7.3.1 MICROALGAS EN LA REMEDIACIÓN DE CADMIO

Bajo un estrés por Cd (II) las cepas de microalgas reaccionan de forma diferente. Se ha descubierto que este metal además de reducir el crecimiento celular y el contenido de clorofila, induce la producción de fitoquelatinas, superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa como mecanismo de defensa en especies como: *Chlamydomonas moewusii* y *Monoraphidium sp.* (Zhao et al., 2019). Por su parte (Yang et al., 2015), lograron probar que la cepa de *Chlorella minutissima* UTEX2341 muestra gran adaptación al Cd, con una capacidad de adsorción de 35,65 mg/g, en condiciones de cultivo heterotrófico (medio de cultivo en el que un organismo que obtiene sus alimentos a partir de otros organismos), la micro alga se cultivó en un matraz de 500 ml que contenía 200 ml de agua residual artificial y se inoculó por 7 días, se trabajó con en el rango de pH de 2 a 10 y a temperaturas de 10, 28 y 37°C. Las microalgas tolerantes a ambientes ácidos *Heterochlorella sp.* MAS3 y *Desmodesmus sp.* MAS1, pueden eliminar conjuntamente 2 mg/g de Cd (II) del medio de cultivo a un pH de 3.4, con una eficiencia del 58% (Abinandan et al., 2019); el crecimiento de la cepa *Desmodesmus sp.* MAS1 en presencia de Cd se desarrolló a concentraciones de 0,5 a 5 mg/L, en un periodo de 16 días. Por su parte (Sanyal et al 2020) logro una eficacia de eliminación de Cd (II) del 45,45% y 57,14% en 8 días, utilizando cepas de microalgas *Chlorella pyrenoidosa* y *Schoenoplectus acutus*.

Por ingeniería genética también se ha estudiado estrategias de inmovilización de microalgas como *Chlamydomonas reinhardtii*, aislando la proteína de tolerancia a metales, el gen *CrMTP4*, miembro del clado Mn-CDF (Clasificación filogenética: los CDF facilitadores de difusión de cationes, son una clase de transportadores de metales, involucrados en el secuestro de los mismos y el transporte interno, también denominados proteínas de tolerancia a metales (MTP) en plantas y algas). Los miembros de esta familia

transportan iones metálicos como Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} y Fe^{2+} , este gen permite la difusión de cationes, pero es capaz de proporcionar tolerancia y secuestro para Mn y Cd. Las cepas se cultivaron en medio TAP suplementado con varias concentraciones de $Al_2(SO_4)_3$, $CdCl_2$, $CuSO_4$, $MnCl_2$, $ZnSO_4$, la especie *Chlamydomonas reinhardtii* mostro un aumento de 2,29 y 3,06 veces en tolerancia de adsorción al Cd (II) en concentraciones de 150 μM , en un periodo de 8 días (Ibuot et al., 2017). Otras cepas de microalgas se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Biosorción de Cd por diferentes cepas de microalgas.

Cepas de Microalgas	Temperatura (°C)	pH óptimo	Conc. De metal inicial (mg/L)	Tiempo (min)	Max. Sorción (mg/g)	Eficacia de Eliminación (%)
<i>Chlamydomonas</i> sp.	30	7,5	-	60	23,3	-
<i>Chlorella</i> sp.	30	7,5	-	60	25,5	-
<i>Coelastrum</i> sp	30	7,5	-	60	32,8	-
<i>Chlorella minutissima</i>	28	6	-	20	303	-
<i>Chlorella</i> sp inmovilizada ¹	-	6	10	-	15,51	92,5
<i>Parachlorella</i> sp.	35	7	100	-	96,2	-
<i>Scenedesmus</i>	-	6	200	-	48,4	60,5

(Yang et al., 2015, Shen et al., 2018, Ibuot et al., 2017.). ¹ Un complejo de gránulos de biocarbón derivados de hojas de jacinto de agua inmovilizados con *Chlorella* sp.

2.7.3.2 MICROALGAS EN LA REMEDIACIÓN DE MERCURIO

Las microalgas tienen la capacidad de biotransformar el Hg^{2+} en Hg^0 elemental, mediante la reducción enzimática catalizada por la reductasa mercuríca. El mercurio elemental volátil se elimina por volatilización biológica y no biológica; la mayor parte del $Hg(II)$ no reducido se convierte en β - HgS (metacínabar) mediante biomineralización, en el que el mercurio, que no pasa a su estado elemental es precipitado y convertido a este mineral. La volatilización del mercurio ocurre entre alrededor de 20 min a pocas horas en cepas como *Selenastrum minutum*, *Chlorella fusca* var. *fusca*, diatomea *Navicula pellicosa* (Kit Leong & Chang, 2020). *Chlorella vulgaris* tiene el pH óptimo de 5.5 para la remoción de Hg^{2+} hasta 62.85%, ya que el Hg^{2+} compite con H^+ para los sitios de unión en las células (polisacáridos, proteínas estructurales, lípidos, entre otros), a pH más bajo, en medios

ácidos, la proporción de metales pesados en la solución es más alta, y existe menor presencia de grupos hidroxilo (Peng et al., 2017). La tabla 12 ilustra diferentes cepas de microalgas en la remediación de Hg.

Tabla 12. Biosorción de Hg por diferentes cepas de microalgas

Cepas de Microalgas	Temperatura (°C)	pH Óptimo	Conc. De metal inicial (mg/L)	Tiempo (min)	Max. Sorción (mg/g)	Eficacia de Eliminación (%)
Inmovilizada ¹ <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	25	6	500	120	106,6	-
<i>Chlorella</i> sp.	30	-	8	120	3,33	12,5
<i>Chlorella</i> transgénica sp	30	-	8	120	7,33	27,5
<i>Chlorella vulgaris</i>	20	5	48	120	17,49	72,9
<i>Scenedesmus obtusus</i> XJ-15	25	5	20	180	-	-
<i>Spirogyra</i> sp	4	4	1	30	0,253	76

(Peng et al., 2017, Hatami & Mehrina, 2017, Kit Leong et al., 2020) ¹ *Chlamydomonas reinhardtii* inmovilizada en perlas de alginato de calcio.

2.7.3.3 MICROALGAS EN LA REMEDIACIÓN DE PLOMO

En cuanto al plomo cepas de microalgas como *Spirulina platensis*, *Phormidium* sp., y *Rhizoclonium hookeri*, son utilizadas como biosorbentes para la eliminación del metal (Suganya et al., 2016, Malakootian et al., 2016, Molazedah et al., 2015). “Los grupos funcionales tales como acil-amino, amida, amina, carbonilo, carboxilo, hidroxilo, fenoles y fosfato se identificaron mediante estudios de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier FTIR (teniendo en cuenta los picos de absorbancia característicos para cada grupo funcional), para la biosorción de Pb²⁺. La adsorción de iones de plomo disminuyó significativamente a pH bajo debido a la repulsión electrostática causada por la alta densidad de carga positiva en los sitios de unión y la competencia con H⁺ por la ocupación de los sitios de sorción” (Das et al., 2016). La tabla 13, muestra algunas cepas de microalgas en remediación de Pb.

Tabla 13. Biosorción de Pb por diferentes cepas de microalgas.

Cepas de Microalgas	Temperatura (°C)	pH Óptimo	Conc. De metal inicial (mg/L)	Tiempo (min)	Max. Sorción (mg/g)	Eficacia de Eliminación (%)
<i>Chaetoceros</i> sp	25	6	20	180	8	60
<i>Chlorella</i> sp.	25	6	20	180	10,4	78
movilizada <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	25	6	500	120	308,7	-
<i>Phormidium</i> sp	25	5	10	40	2,305	92,2
<i>Rhizoclonium hookeri</i>	40	4,5	-		81,7	-

(Kit Leong et al., 2020, Das et al., 2016, Malakootian et al., 2016).

2.7.4 RIZORREMEDIACIÓN: TECNOLOGÍA COMBINATORIA DE LA BIO / FITORREMEDIACIÓN

La rizorremediación se refiere a la explotación de microbios presentes en la rizósfera de plantas utilizadas con fines de fitorremediación (Mosa et al., 2016). El mecanismo de acción de estas bacterias se basa principalmente en la producción de sideróforos (SPB) resistentes a metales presentes cerca de la rizósfera, dicha operación proporciona nutrientes (particularmente hierro) a las plantas que podrían reducir los efectos nocivos de la contaminación por metales. Entre los géneros de bacterias más utilizados en la extracción de metales con plantas tenemos *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Pseudomonas* y *Rhizobium* (Beltrán & Gómez, 2016, Liu, 2018).

La acción conjunta de microorganismos y plantas se describe a continuación; en primer lugar, los microorganismos mejoran la biodisponibilidad de metales pesados en suelo, lo que es beneficioso para la absorción y acumulación por las plantas. Los microorganismos promueven la tolerancia y la resistencia de las plantas a los contaminantes al secretar sustancias activas como las hormonas vegetales o al degradar los propios contaminantes orgánicos que son desfavorables para el crecimiento de las plantas (Hrynkiewicz et al., 2018). En segundo lugar, los sistemas de raíces de las plantas proporcionan el mejor lugar para el crecimiento de microorganismos. Los exudados de las raíces de las plantas, como los aminoácidos, los azúcares, los ácidos orgánicos y la materia

orgánica soluble, etc., pueden ser utilizados por los microorganismos para promover su crecimiento.

A través de diferentes tipos de procesos por parte de los microorganismos en la rizosfera se eliminan los metales tóxicos o reducen su toxicidad o degradación de esos iones metálicos. A continuación, se describen los mecanismos de degradación de iones metálicos por los microorganismos rizosféricos.

2.7.4.1 MECANISMOS DE ELIMINACIÓN DE IONES METÁLICOS POR MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS.

Hay tres procesos principales mediante los cuales se eliminan los metales tóxicos del suelo: producción de biotensioactivo, formación de biopelículas, producción de ácidos orgánicos.

2.7.4.1.1 PRODUCCIÓN DE BIOTENSIOACTIVO

Los biotensioactivos son de naturaleza anfifílica (moléculas que poseen un extremo hidrofílico, soluble en agua, y otro que es hidrófobo no soluble en agua) que son secretados en el espacio celular por el microorganismo como compuestos extracelulares. La formación de micelas entre los compuestos hidrófilos e hidrófobos aumenta la solubilidad de los contaminantes hidrófobos, por lo que degrada esos contaminantes por microorganismos en la rizosfera (Saravanan et al., 2020). El mecanismo de producción de biotensioactivo se ilustra en la figura 10.

2.7.4.1.2 FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS

Las biopelículas son un ecosistema microbiano organizado, conformado por una o varias especies de microorganismos asociados a una superficie viva o inerte, los microorganismos se adhieren entre sí y se incrustan en la superficie de la matriz. La presencia de esta matriz permite la protección conjunta de la microflora y tiene la capacidad de sobrevivir en la biopelícula. Esto contribuye a la inmovilización y degradación de contaminantes en la rizosfera (Praveen et al., 2019). La formación de biopelículas se ilustra en la figura 10.

2.7.4.1.3 PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS

Los microorganismos presentes en la rizosfera tienen la capacidad de producir ácidos orgánicos como ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido malónico, ácido oxálico, ácido succínico y ácido láctico durante su crecimiento y desarrollo. Estos ácidos pueden actuar como agentes quelantes al proporcionar sus protones y aniones orgánicos. Los aniones cargados negativamente pueden unirse con los iones metálicos cargados positivamente como Ca^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} para formar complejos y quelarlos del suelo (Saravanan et al., 2020). Algunos mecanismos de eliminación de metales pesados se ilustran en la figura 10.

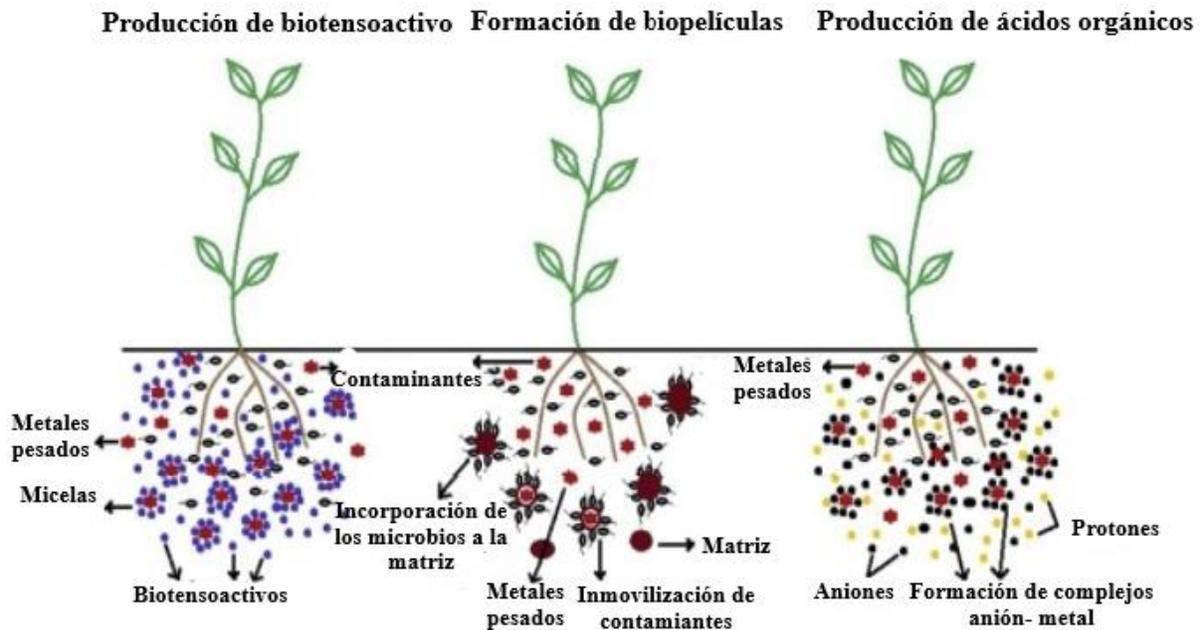


Figura 10. Mecanismos de eliminación de iones metálicos por microorganismos de rizosfera. Fuente: (Saravanan et al., 2020).

Por otro lado, las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR) colonizan la raíz de la planta y se multiplican para formar microcolonias o producir biopelículas, estas tienen un uso peculiar en rizorremediación ya que la capacidad desarrollada por estos organismos permite mejorar técnicas como la fitorremediación. Dentro de los microorganismos que eliminan iones metálicos se encuentran cepas bacterianas como *Pseudomonas aeruginosa* BS2 que aumenta la movilidad y solubilidad

del Cd y Pb, mediante la formación de biosurfactantes, estos biosurfactantes o biotensoactivos desarrollando complejos con metales pesados insolubles en la superficie del suelo que inducen la desorción de metales de la matriz del suelo (Saravanan et al., 2020). Ejemplos de estudios de casos de bacterias PGP que mejoraron la fitorremediación de metales pesados se ilustran en la tabla 14.

Tabla 14. Casos de bacterias PGP que mejoraron la fitorremediación de metales pesados.

Bacterias PGP	Plantas asociada	Metales Pesados	Conc. del metal en planta control	Conc. de metal mejorado en planta inoculada	Parte acumulada de metal	Duración del tratamiento	Conc. del metal usado	Medio
<i>Pseudomonas fluorescens</i> G10 y <i>Microbacterium</i> sp. G 16	<i>Brassica napus</i>	Pb	25 mg /Kg (brote) 10 mg /kg (raiz)	40 mg /Kg (Brote) 13 mg /kg (Raiz)	Raíces y brotes	3 semanas	800 mg/kg	suelo
<i>Rahnella</i> sp. JN6	<i>B. napus</i>	Pb	22 mg /kg (brote) 77 mg/ kg (raices)	32 mg /kg (brote)	Raíces y brotes	80 días	25 mg Cd kg ⁻¹	suelo
<i>B. thuringiensis</i> GDB-1	<i>Alnus firma</i>	Cu	1911 mg /kg (raices) 762 mg /kg (brote)	2162 mg /kg (raices) 845 mg /kg (brote)	Raíces y brotes	4 meses	N/A	Mina de relaves
<i>Enterobacter</i> sp. JYX7	<i>Polygonum pubescens</i>	Cd	65 mg /kg (raices)	170 mg /kg raices	Raíces y brotes	80 días	50 mg /kg	suelo

(Ullah et al., 2015; Ramakrishna et al., 2020; Saravanan et al., 2020; Praveen et al., 2019).

Teniendo en cuenta la información documentada en este capítulo se hacen las siguientes conclusiones:

La razón por la que los microbios son importantes en biorremediación es porque tienen una superficie más amplia para la adhesión, tasas metabólicas rápidas que conducen a la degradación de sustancias químicas resistentes y crecen mucho más rápido que otros organismos, especialmente las bacterias, con su tasa de duplicación más rápida, además otra habilidad asombrosa de los microbios es formar una comunidad en la que un consorcio de diferentes organismos pueda estar presente viviendo cordialmente, esto los hace ser los candidatos propicios en la recuperación de suelos.

En las estrategias de biorremediación, se han implementado métodos biológicos que permiten el uso de microorganismos (bacterias, micro algas y hongos) en la recuperación

de suelos y otros ambientes contaminados con metales pesados Hg, Cd y Pb. Existe una estrecha interrelación interna entre el sistema de resistencia microbiana a los iones de metales pesados y su capacidad de remediación, esta característica es particularmente aprovechada en los procesos de biorremediación.

La resistencia microbiana es particularmente relevante para la biotecnología, la capacidad de adaptación a metales pesados desarrollada a través de mecanismos como biosorción, bioacumulación, biomineralización y biotransformación, permite que las células de estos microorganismos en su metabolismo neutralicen el contaminante y contribuyan a reparar los suelos. En cuanto a su objetivo en biorremediación el estudio de esta resistencia permitiría que las cepas microbianas sensibles, que puedan desaparecer bajo estrés por metales pesados, puedan ser reemplazadas por cepas que puedan adaptarse mejor y tolerar la toxicidad de los iones de metales pesados.

la eficacia de los procesos de biorremediación también puede verse influida por factores ambientales como el pH, la temperatura y la fuerza iónica. Por ejemplo, el valor del pH influye en la biosorción, eficiencia de los iones de metales pesados al cambiar la carga de grupos funcionales en la superficie celular. Se puede lograr una mejor remediación de iones de metales pesados mediante la combinación de microorganismos con tratamiento combinado, lo que puede proporcionar a los microorganismos un entorno optimizado.

La utilización de plantas conjuntamente con microorganismos tiene el beneficio de provocar un crecimiento en el número de población microbiana y la acción metabólica en la rizosfera. Además, puede establecer una mejora de las propiedades físicas y químicas del suelo y una expansión en el contacto entre los microorganismos relacionados con las raíces y los contaminantes en el suelo.

Diferentes grupos funcionales, así como proteínas y péptidos, son responsables de la unión de metales. Las cepas de microalgas reportadas por (Abinandan et al., 2019; Shen et al., 2018, Ibuot et al., 2017; Das et al., 2016), manifestaron tolerancia y mecanismos como la adsorción extracelular, la reducción, la volatilización, así como capacidad de bioacumulación hacia metales pesados en diferentes concentraciones. Se pudo conocer además que diferentes grupos funcionales, así como proteínas y péptidos, son responsables de la unión de metales en la célula permitiendo su absorción.

Algunos microorganismos que pueden remediar la contaminación por metales pesados son patógenos condicionales, como la *Pseudomonas aeruginosa*, y su uso debe ser controlado. Para superar estas dificultades, la ingeniería genética es una buena opción. Mediante la sobreexpresión del gen funcional se puede incrementar la resistencia de los microorganismos a los iones de metales pesados. Teniendo en cuenta que la ingeniería genética puede evitar la utilización de microorganismos patógenos condicionales y mejorar la eficacia de la remediación utilizando su gen funcional, tiene un gran potencial en el futuro.

CAPITULO III. AVANCES TECNOLÓGICOS EN LA OPTIMIZACIÓN DE TÉCNICAS DE REMEDIACIÓN

Este capítulo lleva como objetivo exponer las tecnologías de biorremediación y los avances que han llevado a la optimización de estos procesos para garantizar una remediación eficiente. Para tal fin se ha hecho una revisión bibliográfica en bases de datos y artículos científicos entre el 2016- 2020. Se tratan tecnologías como, electroquímica microbiana, bacterias diseñadas, nanobiorremediación, Biochar, biorreactores y compostaje, además se nombran estrategias de optimización como nano partículas, bioaumentación, materiales de membrana, ciclodextrinas, Biofilms, sinergia entre microorganismos, Fenton, Rhamnolípidos, entre otros, mediante ejemplos de aplicación de ensayos in situ o ex situ y reportes de porcentajes de eficiencia.

3.1 TECNOLOGÍAS DE REMEDIACIÓN BIOLÓGICA

La biorremediación se ampara en el potencial metabólico de microorganismos como bacterias, hongos y algas para transformar contaminantes orgánicos e inorgánicos en compuestos más simples. Mientras que los tratamientos físicos y buena parte de los químicos están basados en transferir el contaminante entre medios gaseoso, líquido y sólido, en la biorremediación se transfiere poca contaminación de un medio a otro, por eso el uso de las tecnologías de biorremediación ha cobrado fuerza en los últimos años.

Sin embargo, estos procesos están limitados por múltiples factores ya sean físicos, químicos o ambientales, que limitan la capacidad y disponibilidad de degradación de los microorganismos, por ejemplo, la cepa de microalga *Desmodesmus sp.* MAS1, hace efectiva la eliminación de Cd a un pH de 3,5 (Abinandan et al., 2019) o cepas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa* logran la eliminación del Hg, mediante biotransformación a un pH de 7 (Yin et al., 2019). Por este tipo de limitaciones, es que se ha incursionado en los métodos o estrategias que permitan la optimización y la mejora de la capacidad de los microorganismos aplicados en esta tecnología.

Los enfoques modernos de biorremediación consisten en buscar un microorganismo nuevo en sitios contaminados. Se cree que los microbios aislados tienen un gran potencial para remediar contaminantes. El uso de cepas modificadas genéticamente

y también de consorcios microbianos se ha utilizado directa o indirectamente para aumentar la bioactividad de un biorremediante. También se han investigado varios mecanismos, incluida la bioaugmentación, o la incidencia de la ingeniería genética en el diseño de bacterias, así como nanotecnología (Vishwakarma et al., 2020).

3.1.1 ELECTROQUÍMICA MICROBIANA (MET)

Muchas veces la falta de donantes o aceptores de electrones adecuados es la razón clave por la que los contaminantes persisten en el medio ambiente. Gran parte de la transformación de estos agentes en la naturaleza es lenta debido a la falta de donantes o aceptores de electrones adecuados; en última instancia, se necesita una fuerza impulsora adecuada para impulsar sus reducciones u oxidaciones de forma bióticas o abióticas, respectivamente (Wang et al., 2020), por tal razón se ha sugerido el uso de técnicas como la electroquímica, que es aplicada a microorganismos, en lo que se conoce como electroquímica microbiana.

Esta rama de la bioelectroquímica analiza y aplica reacciones de transferencia de electrones que tienen lugar entre células microbianas vivas y conductores de electrones, como es el caso de electrodos de estado sólido o minerales naturales (Óxidos de hierro y manganeso, partículas metálicas) (Schröder et al., 2015). Esta tecnología implica que el metabolismo microbiano está vinculado a un donante o aceptor de electrones, que puede ser una partícula mineral o un electrodo, donde el electrodo funciona como aceptor de electrones (ánodo) en oposición a un cátodo donde este dona electrones (Wang et al., 2020). La tabla 15, ilustra ejemplos de microorganismos, sustratos y aceptores de electrones. Además, esta tecnología se considera para varias aplicaciones que van desde el tratamiento energéticamente eficiente de corrientes de desechos hasta la producción de productos químicos y combustibles de valor agregado, biorremediación y biosensores (Chiranjeevi & Patil, 2020).

La celda de combustible microbiana es el utensilio comúnmente utilizado en las MET y probablemente el ejemplo más conocido. Se aplica para la biorremediación de contaminantes orgánicos, teniendo como principio que los microorganismos electroactivos oxidan sustratos, como ácidos orgánicos o hidrocarburos, utilizando el ánodo como aceptor de electrones a través de diversos metabolismos, ver figura 11. Los electrones fluyen desde

el ánodo al cátodo donde, en presencia de un catalizador adecuado, se reducen los aceptores de electrones de mayor potencial (Sánchez et al., 2020).

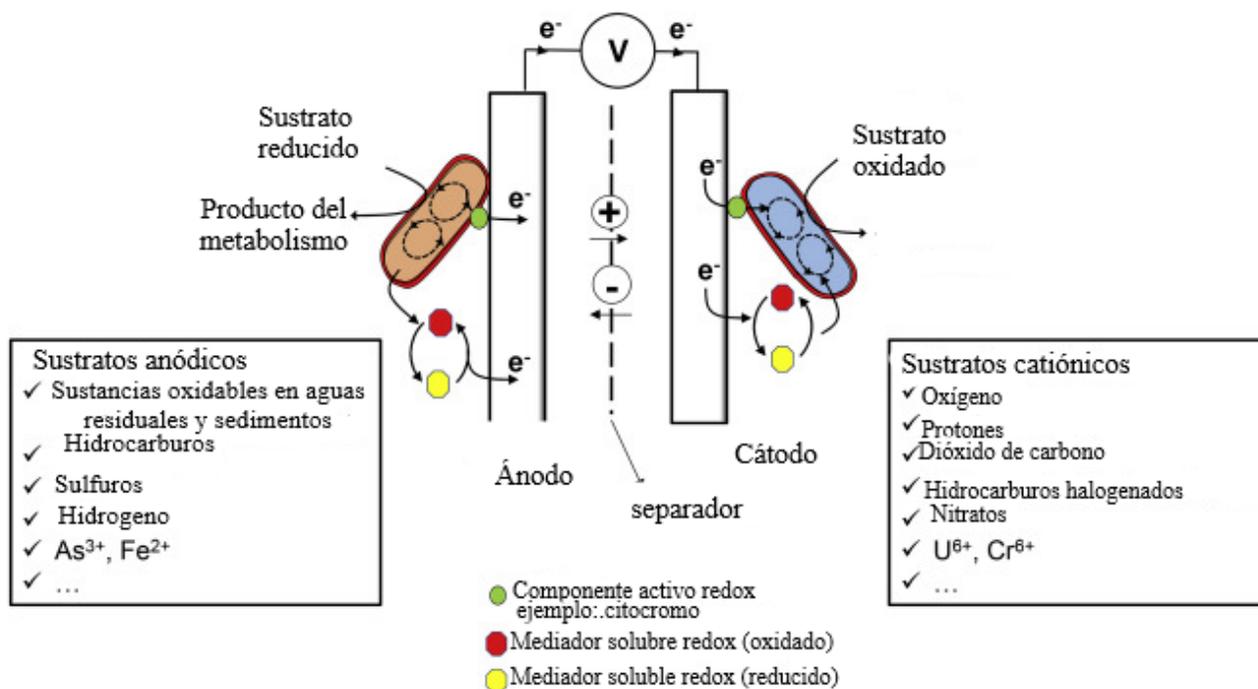


Figura 11. Descripción esquemática de las reacciones catalizadas por microbios que tienen lugar en el ánodo y en el cátodo de un sistema electroquímico microbiano. Fuente (Wang et al., 2020).

Tabla 15. Algunos microorganismos, sustratos y aceptores de electrones en electrorremediación.

MICROORGANISMO	SUSTRATO	ACEPTOR DE ELECTRONES
<i>Geoglobus acetivorans</i>	Acetato, formiato, piruvato, fumarato, malato, propionato, butirato, succinato	Oxido férrico y citrato férrico
<i>Geothrix fermentans</i>	Propionato, palmionato, lactato, fumarato y succinato	Fe(III), Mn (IV), nitrato,
<i>Bacillus pseudomorus</i>	Sacarosa, lactato, glucosa y glicerol	Fe (III), ácidos húmicos
<i>Geobacter metallireducens</i>	Ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, compuestos monoaromáticos, acetato	Hierro cristalino, Mn (IV), VI) y nitrato
<i>Shewanella oneidensis</i>	Lactato	Citrato férrico

(Cornejo, 2017)

Se puede apreciar que los microorganismos utilizan diferentes tipos de sustratos para transferir sus electrones extracelularmente a una variedad de aceptores, esto se debe a que, en ambientes naturales, como sedimentos acuáticos, suelos sumergidos, y en el subsuelo terrestre se encuentran una gran variedad de aceptores de electrones como sustancias húmicas, antraquinonas, azufre, nitratos. Entre los más importantes aceptores de electrones están los óxidos metálicos, en específico el hierro.

3.1.1.1 EJEMPLOS PUNTUALES DEL USO DE LA ELECTROQUÍMICA MICROBIANA

En cuanto al uso de esta tecnología, (Vélez et al., 2020) eliminaron Cd y Pb en un 42 y 55% en 12 horas, utilizando un método de contratamiento de drenaje ácido industrial de minas (I-AMD) y aguas residuales municipales (MWW) mediante celdas de combustible microbianas de doble cámara (DC - MFC). Se utilizaron lodos de depuradora y MWW como inóculo-combustible en la cámara anódica. Se alimentó I-AMD al lado del cátodo de la cámara. Se utilizó una resistencia de 100 Ω para conectar externamente el ánodo al cátodo. Los resultados del estudio mostraron un aumento en el pH de 2,50 a 4,12, además, se alcanzó una alta remoción de nitrato (> 90%) en ambas células, siendo la menor una concentración final <2 mg / L en Tratado con I-AMD.

(Zhang et al., 2018), introdujeron microalgas (*Chlorella* sp. QB-102) en una celda de combustible microbiana (MFC) como cátodo para la eliminación de Cd (II) utilizando espuma de níquel / grafeno (NF / rGO) como electrodos a pH de 6,5 y una resistencia de 400 Ω . Los resultados del estudio mostraron que la eficiencia de eliminación de Cd (II) de PMFC con NF / rGO se mantuvo por encima del 95% por 48 horas. Después de una concentración acumulativa de Cd (II) de 25 mg L⁻¹ y 50 mg L⁻¹ respectivamente para MFC con NF y NF / rGO, las células de las algas pierden actividad y el voltaje cae bruscamente. Otros ejemplos de aplicaciones de las celdas de combustible microbianas del suelo, se ilustran en la tabla 16.

Tabla 16. La aplicación en suelos contaminados por metales pesados de MFC y su desempeño.

METAL	CONFIGURACIÓN DEL MFC	DURACIÓN DEL PROCESO	CONTAMINANTE OBJETIVO Y CONC. INICIAL	EFICIENCIA
Pb(II)	MFC de dos cámaras	108 días	Pb 910 mg / kg	44%
Cd (II)	MFC de dos cámaras	143 días	Cd 98 mg / kg	31%
Cd (II)	MFC de tres cámaras	78 días	Cd 840g / kg	18%

Adaptación de (Li et al., 2020).

3.1.2 BIOCARBÓN (BIOCHAR) PARA BIORREMEDIACIÓN

Biochar (BC) es el producto de la descomposición térmica de materiales orgánicos (biomasa) con escaso o limitado suministro de oxígeno (pirólisis), es un tipo de material químico poroso y enriquecido con carbono, que se ha propuesto como un enfoque para mejorar la calidad del suelo (Xiao et al., 2021). Muchos desechos orgánicos pueden usarse como materia prima para producir BC, como desechos agrícolas y desechos sólidos urbanos, figura 12. Este tiene sus propias ventajas, como un alto contenido de carbono, alta capacidad de intercambio catiónico, gran superficie y estructura de estabilidad (Wang & Wang, 2019).

La adsorción es el mecanismo principal del BC para eliminar los metales pesados y los contaminantes orgánicos. Esta capacidad de adsorción esta enlazada directamente a las propiedades fisicoquímicas tales como área superficial, distribución de tamaño de poro, los grupos funcionales y la capacidad de intercambio catiónico y estas pueden variar en función de las condiciones de preparación (Escalante et al., 2016)



Figura 12. Producción y usos del biochar. Fuente (Tan et al., 2015)

3.1.2.1 PREPARACIÓN DE BC A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS

Algunos autores consideran que la composición química de los biocarbones es muy similar al carbón producido para combustible y que lo único que los distingue es el objetivo para el cual fueron preparados (Escalante et al., 2016). Estos son preparados mediante el proceso de pirólisis, el cual involucra una red compleja de reacciones asociadas a la descomposición de los principales constituyentes de la biomasa, como son la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, que se caracterizan por su reactividad diferente (Suliman et al., 2016), la tabla 17 ilustra ejemplos de diversas materias primas utilizadas para producir biocarbón.

Tabla 17. Diversas materias primas y métodos para la preparación de biocarbón.

Materia prima	Condición de preparación	Contenido de carbon
Bambú	Pirólisis, 500 ° C	83,60%
Paja de maní	Pirólisis, 400 ° C, 3 h	-
Maíz	Pirólisis, 1200 ° C, 40 min	56,10%
Cono de pino	Pirólisis, 500 ° C, 2,5 h	54%

Paja de arroz	Pirólisis, 250–450 ° C, 2, 4, 8 h	57,2 -72 %
Algas residuales	Pirólisis, 450 ° C, 2 h	59,80%
Paja de caña de azúcar	Pirólisis, 700 ° C, 1 h	73%
Estiércol de cerdo	Pirólisis, 400 ° C, 1 h	44,10%
piel de naranja	Pirólisis, 250, 400, 700 ° C, 6 h	56.5,65.7,67%

Adaptación de (Wang & Wang, 2019).

3.1.2.2 EFECTOS DEL USO DE BIOCARBÓN EN LOS SUELOS

De acuerdo con (Escalante et al., 2016), la incorporación de BC al suelo puede alterar sus propiedades físicas tales como la textura, la estructura, la distribución del tamaño de poro, el área superficial total, y la densidad aparente, con repercusión en la aireación, capacidad de retención de humedad, crecimiento de las plantas y facilidad de laboreo del suelo. Por lo general incrementa la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y, por lo tanto, la retención de NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , lo que probablemente se atribuye a su elevada superficie específica, alta carga superficial negativa y elevada densidad de carga, aspectos que no son frecuentemente desarrollados en los estudios sobre biochar.

El BC puede mejorar las funciones del suelo, así como intervenir en los procesos que en él se desarrollan (Tan et al., 2015). El contenido de altas concentraciones de N, P, Ca y K, puede proporcionar nutrientes al suelo directamente o pueden usarse como nutrientes de microorganismos. Cuando es utilizado como enmienda, la fracción de poros del suelo aumenta. Cada poro proporciona el espacio en el que pueden crecer los microorganismos y aumenta la cantidad de aire y humedad y el tiempo de residencia de los nutrientes, lo que resulta en una mayor actividad de los microorganismos y una mayor tasa de crecimiento de las plantas (Cha et al., 2016). La tabla 18, ilustra ejemplos de adsorción con biochar en la remediación de contaminantes orgánicos y metálicos.

Tabla 18. Ejemplos de absorción por biochar para remediar contaminantes orgánicos y metales.

Metal	Concentración inicial (mg / kg)	Materia prima	Temperatura de pirólisis (° C)	Dosis aplicada	Eficiencia de eliminación
Cd ²⁺	1,4	madera de eucalipto	500	2%	80%
Pb ²⁺	2935	Lodos de depuradora	500	3%	55,90%
Cd ²⁺	0,23	Paja de arroz	500	5%	50%

(Wang & Wang, 2019).

3.1.2.3 EJEMPLOS DEL USO DE BIOCARBÓN EN BIORREMEDIACIÓN

Por su parte (Wu et al., 2019) evaluó la aplicación del biocarbón en la biorremediación y la microecología en suelo envejecido con cadmio. Para esto, aplicó pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides L.*) una especie hiperacumuladora usada comúnmente para eliminar Cd en suelos, dado a que su sistema de raíces desarrollado puede penetrar capas más profundas de suelo, lo que favorece la limpieza de contaminantes de suelos profundos; además se utilizaron bacterias promotoras del crecimiento (cepa SNB6), aisladas suelo rizosférico de *C. zizanioides*, La capacidad de crecimiento bajo estrés por Cd se verificó en medio de caldo de lisogenia (LB) con concentraciones crecientes de Cd (0-150 mg / L) en las condiciones de 37 ° C y 160 rpm. El contenido de Cd fue de 13,08 a 52,55 mg / kg entre los grupos de *C. zizanioides* plantados y el valor máximo se observó en presencia de material bioquímico. La cepa SNB6 se fijó con éxito en el biocarbon BC y los grupos funcionales entre BC y la superficie de SNB6 contribuyeron al efecto de inmovilización. El BCM mejoró significativamente el contenido de Cd y el factor de bioacumulación (BCF) del acumulador, aproximadamente un 412,35% y un 403,41% más alto que el del control, respectivamente. El estudio desarrollado por (Wu et al., 2019) se ilustra en la figura 13.

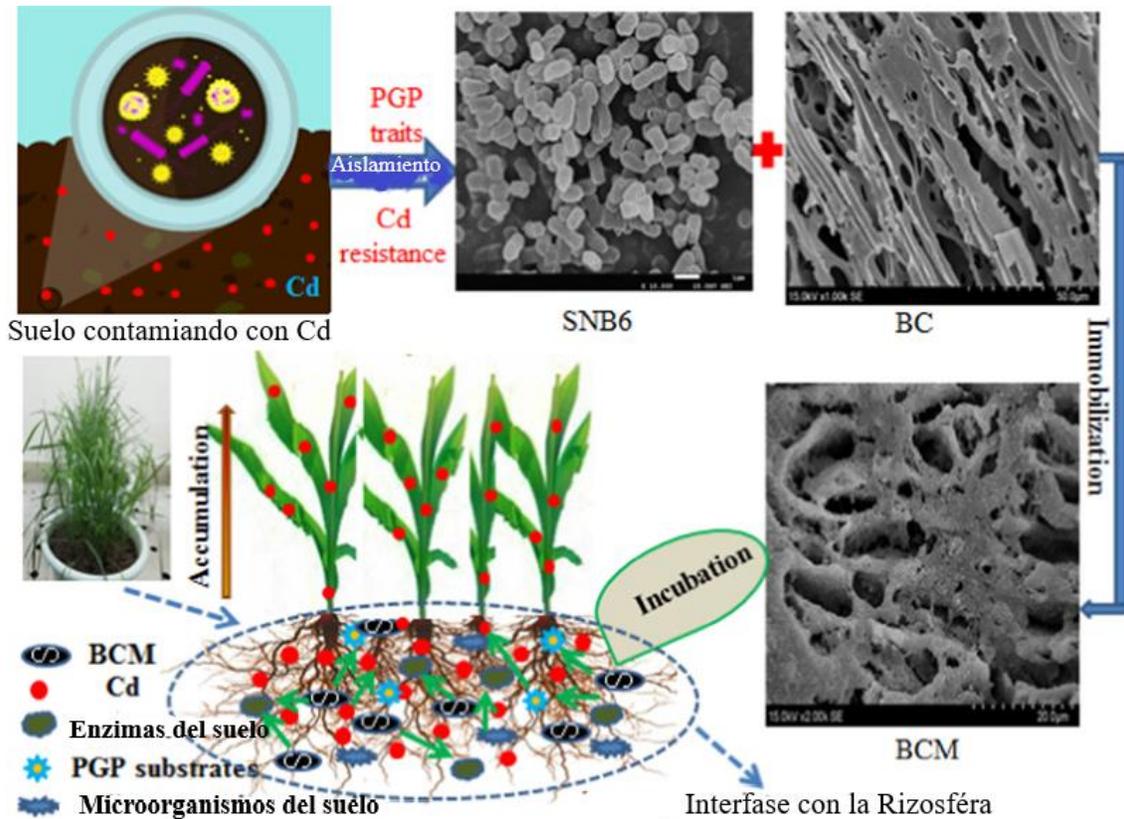


Figura 13. Esquema del proceso biorremediativo con biocarbón descrito por (Wu et al., 2019)
Fuente: por (Wu et al., 2019).

(Xiao et al., 2021), evaluó la influencia del biocarbón y *Bacillus megatherium* en la remoción de Cd de suelos contaminados artificialmente utilizando lombrices de tierra (*Eisenia fetida*). En un período de remediación de 35 días a una temperatura de 25°C, las lombrices de tierra eliminaron más del 30% del Cd del suelo contaminado (con Cd a ~ 2,5 mg/kg). Además, las lombrices de tierra también lograron una reducción de más del 22% en el contenido de Cd extraíble. Las lombrices de tierra pueden absorber metales a través de la ingestión oral o la absorción dérmica. Este estudio empleó *Eisenia fetida* excavando a una profundidad del suelo de 20 a 30 cm, para la remediación del suelo. Se seleccionó el cadmio debido a su carcinogenicidad, alta movilidad y vasta área de contaminación, se empleó *Bacillus megatherium* debido a su alta capacidad de desorción de Cd de los suelos. Se diseñaron cuatro tratamientos para evaluar la eficiencia de las lombrices de tierra en la remediación del suelo y los impactos de diferentes aditivos, a saber, suelos enriquecidos con Cd (T1, Control), suelos enriquecidos con Cd + lombrices de tierra (T2), suelos

enriquecidos con Cd + lombrices de tierra + 2% biochar (T3), suelos enriquecidos con Cd + lombrices de tierra + *Bacillus megatherium* (T4). Para el tratamiento de lombriz de tierra única (T2), el contenido de Cd en las lombrices de tierra aumentó gradualmente con el tiempo de exposición a 12,17 mg/kg hasta el día 35, tanto el biochar como el *Bacillus megatherium* estimuló la acumulación de Cd en las lombrices de tierra. En comparación con T2, el nivel de Cd en las lombrices de tierra aumentó en un 13,1% para T4. La figura 14, ilustra el proceso estudiado por Xiao et al., 2021.

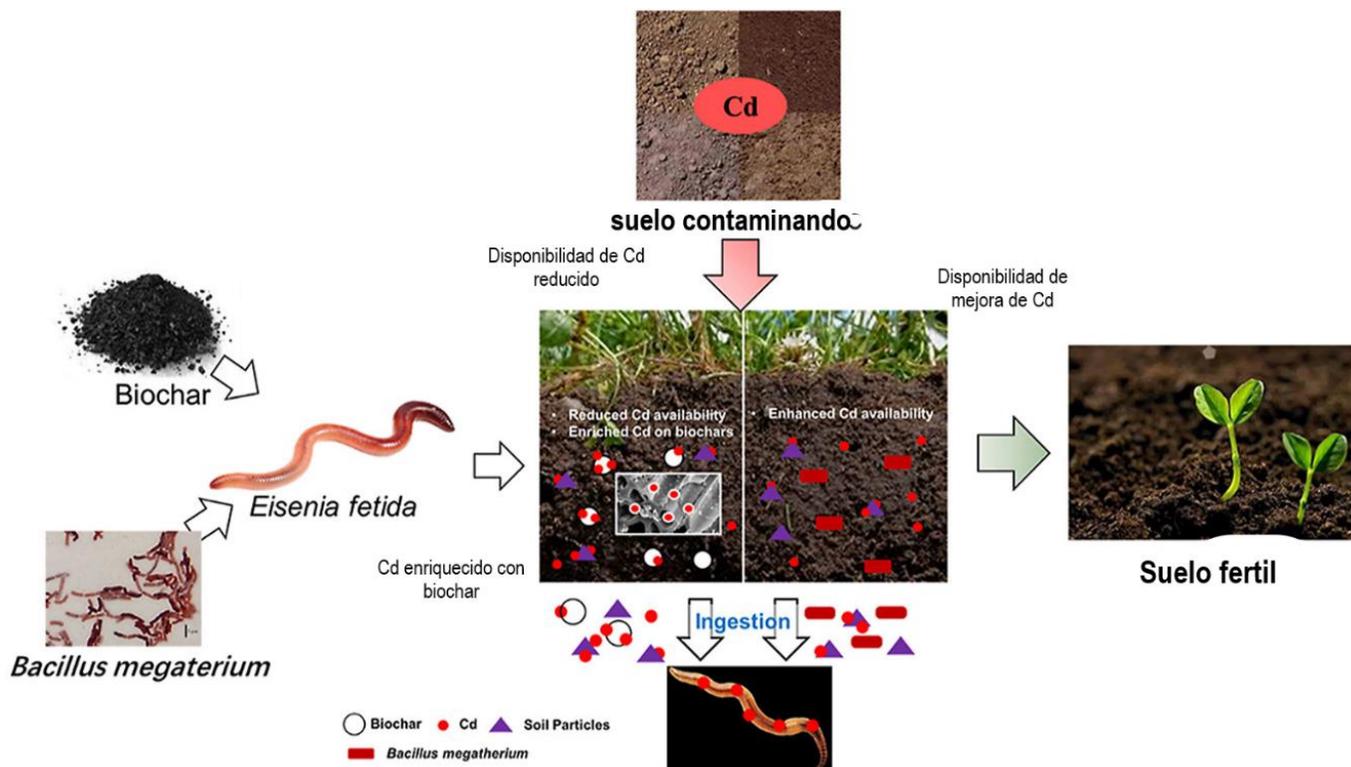


Figura 14. Biorremediación de suelos enriquecidos con Cd utilizando lombrices de tierra (*Eisenia fetida*): Mejora con biochar y *Bacillus megatherium*. Fuente (Xiao et al., 2021).

3.1.3 BACTERIAS DISEÑADAS PARA BIORREMEDIAÇÃO

El éxito de un proceso de biorremediación depende de la eficiencia de degradación de los microbios cultivados o aislados. Generalmente, se encuentra que los microbios que son autóctonos tienen una mejor eficiencia de degradación que los microbios cultivados o aislados en condiciones de laboratorio in vitro o controladas. Los organismos que han estado continuamente expuestos al contaminante se familiarizan y desarrollan la capacidad

de utilizar este contaminante como fuente de energía o tener una adaptación genética para degradarlo (Verma & Kuila, 2019). La incursión de la ingeniería genética, en el diseño de microorganismos nace de la siguiente premisa “Muchos contaminantes pueden ser degradados por la especie o cepa aislada, mediante capacidad natural de la cepa de degradar el contaminante en condiciones óptimas. Sin embargo, si se desea utilizar la misma cepa en estudios de escalamiento para la degradación masiva, se vuelve difícil ya que su productividad es menor” (Sanghvi et al., 2020), es así como se abre paso a las modificaciones genéticas de microorganismo, con el fin de mejorar los rendimientos en un proceso biorremediativo.

Para construir o diseñar la vía metabólica por la cual el microorganismo se adapta a las condiciones del medio contaminado se deben tener en cuenta los siguientes puntos: primero, se debe identificar los genes que codifican la secreción de enzimas involucradas en el catabólico, segundo, se debe estudiar que genes son responsables del transporte para la absorción del metal o contaminante, por último, se hace la identificación de la red reguladora encargada de controlar las vías metabólicas centrales.

3.1.3.1 TECNOLOGÍA DE ADN RECOMBINANTE

La recombinación genética se basa en el proceso mediante el cual una hebra de material genético (usualmente ADN, pero también puede ser ARN) se corta y luego se une a una molécula de material genético diferente (Sanghvi et al., 2020). En cualquier organismo, el conjunto de genes específicos está relacionado con una vía de degradación de contaminante propia, que se puede encontrar tanto a nivel cromosómico como extracromosómico. El material genético extracromosómico más utilizado para la clonación y los sistemas de expresión son plásmidos. Los plásmidos poseen muchos genes asociados para la degradación parcial o completa del contaminante. Las características y atributos como la estructura molecular simple con métodos de detección simples han hecho de los plásmidos un sistema fácilmente evaluable para la introducción y modificación de genes.

El proceso de ADN recombinante se desarrolla de la siguiente forma: primero un gen o parte de ADN se pone en un vector (molécula portadora) produciendo una molécula de ADN recombinante. Segundo, el vector se ubica dentro de una célula anfitriona, para este caso una bacteria, en el tercer paso el gen se copia (o clona) dentro de la bacteria.

Cuando la bacteria se divide, las moléculas de ADN recombinante se reparten entre las nuevas células. Por último, el ADN clonado puede producir una proteína que se puede usar en la investigación. (Hussaan et al., 2021).

Pseudomonas aeruginosa (NRRLB-5472) y *Pseudomonas putida* (NRRLB-5473) son dos cepas modificadas genéticamente que fueron patentadas por primera vez en 1981 por EE.UU. Construidas a principios de los 70 incluyen genes para la degradación de alcanfor, naftaleno y salicilato que son de naturaleza altamente tóxica. Estas cepas son eficaces para la degradación de toxinas. Así mismo (Verma & Kuila, 2019) menciona como ejemplo los genes catabólicos de PCB que se localizaron en el cromosoma de *R.eutropha* A5, *Achromobacter denitrificans* JB1 y *Achromobacter sp.* LBS1C1 transferidos a la cepa *Ralstonia eutropha* CH34 resistente a metales pesados mediante conjugación natural para la eliminación de bifenilos policlorados.

3.1.3.1.2 MEZCLA DEL GENOMA BACTERIANO

La mezcla del genoma se refiere a la recombinación de cromosomas en varias bacterias para mejorar la actividad de todo el organismo (Hussaan et al., 2021). La mezcla del genoma genera en la cepa mutada mejores características fenotípicas. De modo que el mutante puede aislarse para una combinación óptima entre los genomas. La reorganización del genoma es útil para la modificación de fenotipos que son difíciles de modificar directamente (Sanghvi et al., 2020).

Las investigaciones se basan en datos genómicos, que ayudan a identificar conjuntos específicos de genes en los operones que pueden ser útiles en la biorremediación (Kumari, 2020). El conjunto completo de genes de muchos microorganismos se ha secuenciado completamente. Por ejemplo (Sanghvi et al., 2020) menciona que el genoma de *Pseudomonas putida* la cepa KT2440 ha revelado la caracterización de importantes enzimas como: oxigenasas, ferredoxinas, deshidrogenasas, y glutatión S- transferasas que están relacionadas con la defensa contra sustancias tóxicas y metabolitos. De igual forma hace mención de la caracterización del genoma de especies de *Mycobacterium* PYR-1 implicadas principalmente en la degradación de compuestos moleculares pesados como los compuestos poliaromáticos.

3.1.3.1.3 USO DE ENZIMAS EN BIORREMEDIACIÓN

El proceso de degradación de contaminantes orgánicos e inorgánicos aplicando microorganismos in situ, usualmente lleva mucho tiempo. Sin embargo, se ha propuesto el uso de enzimas propias de estos microorganismos, para tratar de acelerar los procesos de remediación. Las enzimas son macromoléculas biológicas complejas que actúan como catalizadores de una serie de reacciones bioquímicas implicadas en las vías de degradación de los contaminantes. Estas pueden mejorar la velocidad de una reacción al reducir la energía de activación de las moléculas (Sharma et al., 2018). Como ejemplo, las oxidorreductasas son producidas y secretadas por diversas especies de bacterias, hongos y plantas para desintoxicar los compuestos mediante un acoplamiento oxidativo (reacción que involucra la pérdida de hidrógeno de las moléculas y la formación de enlaces C-C, C-O, C-N y otros heteroátomos) que implica la oxidación de los compuestos por transferencia de electrones de reductores oxidantes.

La ingeniería enzimática implica un cambio o modificación en la estructura básica de aminoácidos de la enzima para mejorar sus propiedades como actividad microbiana, tolerancia al estrés, temperatura, pH, entre otras. Esta implica el uso de tecnología de ADN recombinante para producir los cambios deseados en las secuencias de aminoácidos de una enzima (Kumar et al., 2013).

3.1.3.1.4 EJEMPLOS DE LA UTILIZACIÓN DE BACTERIAS DISEÑADAS EN BIORREMEDIACIÓN

(De Oliveira et al., 2020) realizó su estudio en base a dos modificaciones genéticas del hongo *Saccharomyces cerevisiae* (WT), con dos versiones de un gen de *Populus trichocarpa* (*PtMT2b*) que codifica una metalotioneína: una con la secuencia original (*PtMT2b* 'C') y la otra con una secuencia mutada, con una sustitución de aminoácidos (C3Y, nombrado en el estudio como *PtMT2b*'Y'), para la biorremediación de Cd. Ambas levaduras transformadas se cultivaron bajo estrés con Cd, en agar (0; 10; 20; Cd 50 µM) y medio líquido (0; 10; Cd 20 µM). Las células de levadura se cultivaron a 30°C (250 rpm) en medio líquido SC (5 ml; pH: 5,5). En términos de eliminación de Cd de los medios, la levadura transformada eliminó alrededor del 84% y 77% de la concentración total de Cd

inicialmente agregado (10 μM y 30 μM , respectivamente) en un período de 72 h, mientras que en la cepa WT esos valores fueron en promedio por debajo del 30%.

3.1.4 TECNOLOGÍA DE REMEDIACIÓN MEDIANTE NANO PARTÍCULAS

La demanda de nuevas tecnologías para acelerar la descontaminación de sitios contaminados y reducir los costos está creciendo cada vez más. Recientemente, se ha prestado mayor atención al uso de nanomateriales, en particular nanopartículas de hierro, como método innovador para la remediación de sitios contaminados (Sudhakar et al., 2020). Las nanopartículas son definidas como partículas que poseen un tamaño inferior a 100 nm. De acuerdo con (Cecchin et al., 2017). El comportamiento de las nanopartículas, puede ser comprendido de acuerdo a su morfología, distribución del tamaño de partícula, el área de superficie específica, la carga superficial y la caracterización cristalográfica. La morfología generalmente se determina mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Thomé et al., 2015).

Existen diversos métodos para la creación de las nanopartículas, en donde se incluyen la atrición, pirólisis y síntesis hidrotermal. En la atrición, partículas macro o micro escala son molidas en un molino de bola u otro mecanismo reductor de tallas. Las partículas resultantes son clasificadas por aire en un elutriador (equipo utilizado en metalurgia para la separación de partículas por su densidad y tamaño). En pirólisis, un vapor precursor es forzado a través de un orificio en alta presión y quemado. El sólido resultante es clasificado para recuperar partículas de óxido de los gases del producto. Un plasma termal puede liberar la energía necesaria para causar la vaporización de pequeñas partículas micrométricas. Las temperaturas del plasma termal se encuentran en 9726.85 °C, para que el polvo sólido se evapore fácilmente. Las nanopartículas se forman al enfriarse mientras salen de la región del plasma (Villar & Bonilla , 2015).

3.1.4.1 INTERACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS Y MICROBIOS

En cuanto a la caracterización detallada de las interacciones de las nanopartículas con las partículas del suelo y la microbiota local en condiciones a escala de campo es una tarea desafiante debido al número limitado de puntos de monitoreo, así como a los cortos períodos de tiempo de monitoreo. Los principales parámetros monitoreados durante la

aplicación de un sistema de remediación son el potencial de oxidación-reducción que el nanomaterial exhibe con el tiempo, oxígeno disuelto (cuando se aplica en el agua subterránea), pH, conductividad eléctrica y concentración del metal al transcurrir los procesos de óxido reducción (Cecchin et al., 2017).

Cuando las nanopartículas interactúan con las bacterias, a menudo se adhieren a la superficie bacteriana, pero solo la interacción con la superficie de la bacteria es suficiente para causar toxicidad. Ejemplo de eso es el hierro de valencia cero, al cual se le han realizado varios estudios, con el fin de evaluar su toxicidad ante especies bacterianas. La toxicidad del nZVI (Hierro de valencia cero) se debe principalmente al contacto directo con la pared celular del microorganismo.

Factores como la geoquímica local, mineralogía, microbiota, sustratos, entre otros, pueden inducir al nZVI a tener efectos más o menos dañinos para el medio ambiente en cuestión (Cecchin et al., 2017). Los estudios iniciales realizados para estudiar los efectos del hierro de valencia cero en los microbios durante la remediación del sitio, permitieron demostrar que la formación de H^+ a través de la degradación del hierro de valencia cero puede utilizarse como bioestimulante para ciertas bacterias, reductores de sulfato y deshalogenos, que utilizan nZVI como principal donante de electrones. En contraste (Lefevre et al., 2016) nos dice que el nZVI reductor de alta potencia puede desnaturalizar los lipopolisacáridos, así como las proteínas de transporte iónico, lo que deteriora la permeabilidad de la membrana y facilita la entrada de Fe^{2+} en la célula. Una vez dentro de la célula, el Fe^{2+} puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno producido, formando especies reactivas de oxígeno, promoviendo el estrés oxidativo y la posterior muerte celular.

3.1.4.2 NANOBIORREMEDIACIÓN: USO COMBINADO DE NANOMATERIALES Y BIORREMEDIACIÓN

La nanobiorremediación es el proceso que implica el uso de nanopartículas para la limpieza ambiental mediante la mejora de la actividad microbiana. Los materiales a nanoescala muestran una excelente capacidad de eliminación de metales debido a la presencia de varias propiedades fisicoquímicas únicas, como una mayor superficie, un

punto de fusión más bajo, alta reactividad superficial, magnetización específica entre otros. Entre todos los materiales a nanoescala, la aplicación de nanopartículas de óxido de hierro se ha utilizado ampliamente para la eliminación de metales pesados del agua contaminada debido a su pequeño tamaño, biocompatibilidad, mayor superficie y propiedades superparamagnéticas que permiten una fácil separación de los adsorbentes del sistema, ver figura 15 (Chatterjee et al., 2020).



Figura 15. Esquema de aplicación de nanopartículas de hierro en el proceso de remediación de aguas subterráneas. Fuente: (Chatterjee et al., 2020).

3.1.4.3 EJEMPLOS DE LA UTILIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS EN BIORREMEDIACIÓN

(Xue et al., 2018) investigaron el rendimiento del hierro de valencia cero a nanoescala (NZVI) recubierto de ramnolípidos (RL) en la inmovilización de cadmio (Cd) y plomo (Pb) en sedimentos de ríos contaminados. Se Demostró que RNZVI logró la transformación de Cd y Pb (56,40% y 43,10%) después de 42 días de incubación, respectivamente a un pH de 8. El hierro de valencia cero se caracterizó por microscopía electrónica de barrido (SEM), además se utilizó espectros infrarrojos por transformada de Fourier. (FTIR) para la identificación de los metales.

(Wang et al., 2017), Utilizaron nanopartículas de selenio (nano-Se⁰), sintetizadas por *Citrobacter freundii* Y9, una bacteria reductora de selenito aislada de lodos de un biorreactor anaeróbico reductor de sulfato en Urumqi, China y dodecilsulfonato de sodio SDS, para la remediación de suelos contaminados con Hg. El nano-Se⁰ biogénico convirtió

del 45,8 al 57,1% y del 39,1 al 48,6% del mercurio elemental (Hg^0) en el suelo contaminado en seleniuro mercúrico insoluble ($HgSe$) en condiciones anaeróbicas y aeróbicas, respectivamente. La investigación se desarrolló a un pH 7 y a temperatura de 26°C, durante 65 días, se determinó la concentración de HgT en suelo (21,43 $\mu g/g$). En condiciones anaeróbicas. Los resultados mostraron que el Hg^0 presente en el control contaminado con mercurio disminuyó en un 11,3% (1,99 $\mu g/g$). Sin embargo, hubo una disminución del 73,5% (12,96 $\mu g/g$) y del 63,5% (11,20 $\mu g/g$) en el Hg^0 cuando el suelo se suministró con $Se^0 + SDS$ biogénico y Se^0 biogénico, respectivamente.

3.1.5 BIORREACTORES EN BIORREMEDIACIÓN

Los biorreactores son definidos por (López et al., 2019) como sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo aplicados *ex situ*. En algunos casos, un biorreactor es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos. Este proceso puede ser aeróbico o anaerobio. El uso de estos sistemas en biorremediación es propicio debido a que en un biorreactor se busca mantener ciertas condiciones ambientales controladas y monitoreadas (pH, temperatura, concentración de oxígeno, entre otras) al organismo o sustancia química que se cultiva. Los microorganismos o células son capaces de realizar su función deseada con gran eficiencia bajo condiciones óptimas.

Uno de los reactores más utilizados para biorremediar suelos es el biorreactor de lodos, en el cual el suelo contaminado se mezcla constantemente con un líquido, y la degradación se lleva a cabo en la fase acuosa por microorganismos en suspensión o inmovilizados en la fase sólida, así mismo en la remediación de acuíferos los reactores de membrana son los más usados, el uso de membranas en reactores químicos o biológicos se inspira principalmente en el cambio de equilibrio provocado por una permeación selectiva y preferencial sobre los productos de reacción (Babaei & Taghizadeh, 2020).

3.1.5.1 EJEMPLOS DEL USO DE BIORREACTORES EN BIORREMEDIACIÓN

(Huang et al., 2017) utilizaron una cepa de la bacteria acumuladora de Cd (II), identificada como *Pseudoalteromonas sp.* SCSE709-6, la cual se inoculó en un biorreactor

de membrana dinámica aeróbica (ADMBR) como bioaumentación para tratar aguas residuales que contienen Cd (II). En el diseño experimental se trabajó con 1% (p/p) de *Pseudoalteromonas sp* SCSE709-6 inoculado con lodo activado en un ADMBR (etiquetado como R_B), en contraste con un reactor de control (etiquetado como R_A) utilizando únicamente lodo activado, ambos con un volumen de 10 L, operado por 170 días. El módulo de membrana sumergido en el biorreactor estaba compuesto por tela y marco de PVC, con un área de filtración efectiva de 0.026 m². En cuanto al rendimiento del biorreactor (ADMBR), la concentración final de Cd (II) fue de 10,5 mg/L. Se encontró una mayor remoción de Cd (II) en R_B (99%, valor promedio de la operación de 170 días) que en R_A (95%).

(Fard & Mehrnia, 2017) utilizaron biorreactor de membrana dinámica (DMBR) de microalgas y biorreactor de membrana de control (CMBR) durante siete días para la eliminación de Hg presente en aguas residuales de amalgamas. Trabajándose con cuatro concentraciones diferentes de mercurio (0,30, 0,45, 0,65y 0,80 mg/kg) a temperaturas de 30 a 50 ° C. Los resultados del estudio mostraron que pasadas 24 horas, DMBR logro la remoción de Hg en 73,08% (en 0,30 mg/Kg), 75,08% en (0,45 mg/kg), 78,16% (0,65 mg/kg), 85,88% (en 0,80 mg/kg), el último día de experimento el porcentaje de remoción aumento a 99,82%. El experimento se repitió en presencia de lodo activado, sin embargo, durante este proceso, la eliminación de mercurio después de 24 horas se redujo de 85,88 a 79,02%.

3.2 TÉCNICAS DE OPTIMIZACIÓN APLICADAS A LA BIORREMEDIACIÓN

En ocasiones cuando se aplica una tecnología de biorremediación solo se logra neutralizar o eliminar cierto porcentaje del contaminante presente en una matriz. Ante este problema se han investigado estrategias que permitan obtener un mejor rendimiento en el proceso remediativo. En estos casos se aplican estrategias de optimización, cuya finalidad es aumentar la eficiencia de remoción de los contaminantes orgánicos e inorgánicos en los microbios, mejorando así la descontaminación de ambientes a los cuales se les aplique biorremediación.

3.2.1 MATERIALES DE MEMBRANA PARA TECNOLOGÍAS DE ELECTROQUÍMICA MICROBIANA

Las membranas se definen como una capa delgada de materiales semipermeables que separan las sustancias no deseadas de una solución cuando se aplica una fuerza impulsora (Banerjee et al., 2018). La fuerza impulsora puede ser la presión (para micro y ultrafiltración, nanofiltración, ósmosis inversa y separación de gases), gradiente de concentración (para diálisis), potencial eléctrico (para electrólisis y electrodiálisis) y temperatura (para pervaporación y destilación por membrana).

En las tecnologías de electroquímica microbiana se utilizan varios tipos de membranas, las más utilizadas son las membranas de intercambio iónico (membranas de intercambio catiónico y aniónico), membranas compuestas, membranas porosas y membranas cerámicas.

- ✓ **membranas de intercambio iónico (IEM):** Compuestas principalmente por membranas de intercambio catiónico (CEM) y membranas de intercambio aniónico (AEM) en las que las propiedades de las membranas están determinadas por el tipo de grupos funcionales cargados unidos a la matriz de la membrana. Figura 16. Las CEM permiten rechazar aniones por medio de grupos cargados negativamente unidos (como $-\text{SO}_3^-$, $-\text{COO}^-$, $-\text{PO}_3\text{H}^-$) a la columna vertebral de la membrana, mientras que las AEM permiten rechazar cationes debido a sus propiedades de membrana con carga positiva (como $-\text{NH}_3^+$, $-\text{NRH}_2^+$, $-\text{NR}_2\text{H}^+$). (Daud et al., 2015).

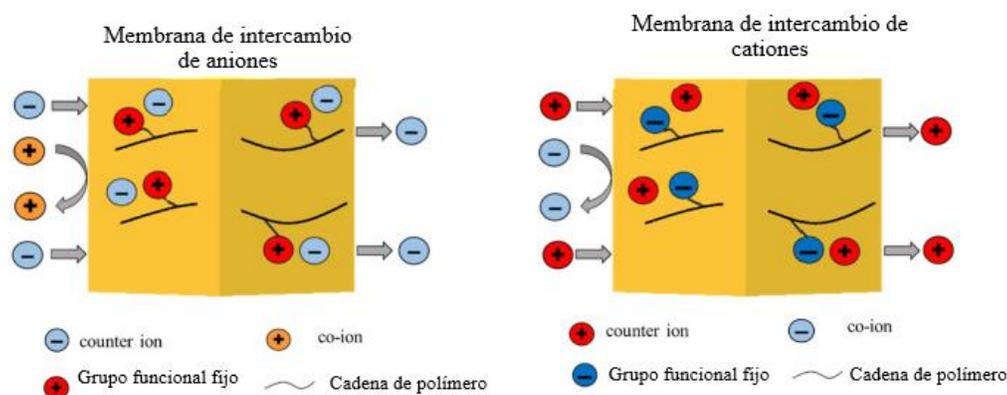


Figura 16. Diagrama esquemático del intercambio iónico a través de membranas AEM y CEM. Fuente: (Dizge et al., 2019).

- ✓ **Membranas compuestas:** Este tipo de membrana está constituida por al menos dos elementos estructurales compuestos por diferentes materiales, Figura 17. Por lo general, presentan una estructura asimétrica, esta contiene una capa fina y selectiva ubicada sobre un soporte microporoso. Una membrana compuesta multicapa consiste en un soporte poroso de manera similar a una membrana compuesta de una sola capa y estas membranas contienen varias capas de diferentes materiales, cada uno de los cuales realiza una función específica (Dizge et al., 2019).

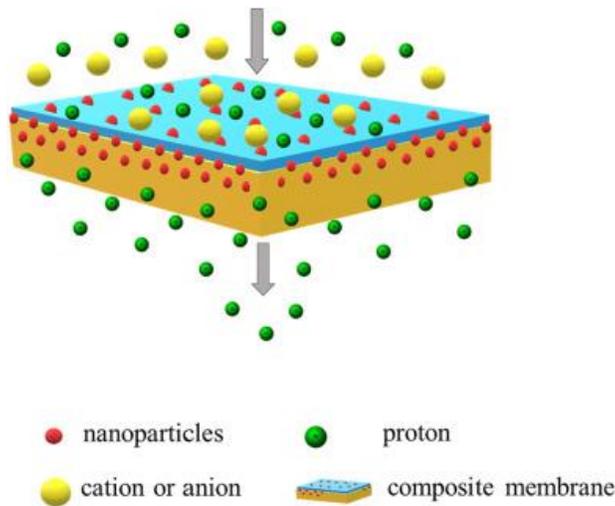


Figura 17. Esquema de una membrana compuesta. Fuente (Dizge et al., 2019).

- ✓ **Membranas de cerámica (porosas):** Son un tipo de membranas artificiales hechas de materiales inorgánicos (como alúmina, titania, óxidos de zirconia, carburo de silicio o algunos materiales vítreos), Figura 18. Dentro de la tecnología de electroquímica microbiana, las membranas cerámicas se introdujeron como una posible opción debido a su mayor resistencia y estabilidad estructural, menor costo de producción, mayor disponibilidad que los otros materiales de membrana. Las membranas cerámicas tienen ventajas muy amplias como estabilidad química y térmica, bajo costo, lavado simple, fácil disponibilidad, varios métodos de síntesis (Yousefi et al., 2017),

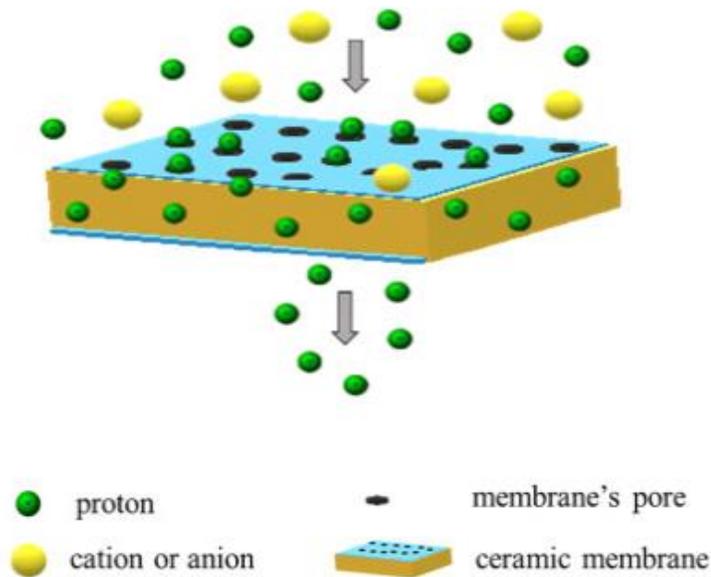


Figura 18. Diagrama esquemático del transporte de iones a través de membranas cerámicas. Fuente (Dizge et al., 2019).

En cuanto a la aplicación, (Berbar et al., 2019), llevaron a cabo el estudio de eliminación de iones Pb^{2+} y Cd^{2+} en soluciones acuosas, utilizando membrana ionica polietersulfona (PES), nanopartículas de sílice funcionadas con membrana de polietersulfona sulfonada (SPES). Para la eliminación de Pb y Cd utilizaron una solución que contenía 50 ppm (mg/l) de los metales a pH neutro como solución de alimentación en un proceso de diálisis. Las tasas óptimas de eliminación de los cationes Pb^{2+} y Cd^{2+} tratados por separado fueron 30,1% y 27,2%, respectivamente, después de 8 horas de diálisis. La membrana PES-SiO₂ -(CH₂)₃ -NH₂ realizó una eliminación de cationes de aproximadamente 43,2% y 31,6% para Pb^{2+} y Cd^{2+} , respectivamente. Por otro lado, al mismo tiempo, la membrana PES-SiO₂-(CH₂)₃ -SH eliminó 40,8% y 26,9% de Pb^{2+} y Cd^{2+} , respectivamente.

3.2.2 BIOFILMS EN BIORREMEDIACIÓN

Las biopelículas son comunidades de microorganismos, que se adhieren a una superficie biológica o inerte y se recubren en una matriz auto-sintetizada que comprende carbohidratos, agua, proteínas y ADN extracelular (Mani, 2020). En condiciones

ambientales naturales, la mayoría de las bacterias persisten en modo de biopelícula encerradas en una matriz de sustancia polimérica extracelular (EPS) que también proporciona una estructura beneficiosa a los microbios que forman biopelículas en la biorremediación. La Figura 19, ilustra esquemáticamente el proceso de formación del biofilm.



Figura 19. Esquema de la formación de biofilm. Fuente: (Kumar et al., 2020).

La biorremediación basada en biopelículas es un sustituto de la biorremediación con microorganismos que flotan libremente (planctónicos) porque las células formadoras de biopelículas están protegidas dentro de la matriz y tiene más capacidad de adaptación y supervivencia. La biorremediación microbiana mediada por biopelículas se está utilizando progresivamente en la eliminación de diferentes tipos de contaminantes, incluidos los contaminantes orgánicos persistentes, derrames de petróleo y xenobióticos. La remediación de biopelículas ha sido principalmente útil en el tratamiento de muestras contaminadas con metales pesados de agua subterránea y suelo para metales pesados que se encuentran con frecuencia, como cromo, cadmio, cobre y uranio (Kumar et al., 2020)

(Huang et al., 2019) utilizaron un reactor de biopelícula de membrana desnitrificante (MBfR), para la remediación simultánea de mercurio y óxido nítrico. En 93

días de operación, la eficiencia de remoción de Hg y NO alcanzó 90,7% y 74,1%, respectivamente, se utilizaron cepas de *Thauera*, *Pseudomonas*, *Paracoccus* y *Pannonibacte*, el reactor fue operado a condiciones de pH 7,4-7,5.

(Wu et al., 2017) utilizaron biofilm perifítico (agregados de rápido crecimiento, que pueden crecer en casi cualquier lugar, no requieren tierras fértiles, están ampliamente distribuidos en arrozales, humedales y río), para el tratamiento de suelos enriquecidos con concentraciones de Cd y Cu (13,8 mg/kg y 8,15mg/Kg) expuestos a pH 3-7 respectivamente. Los resultados del experimento concluyeron que, la concentración umbral de metal que la biopelícula perifítica podría acumular fue de 4,35 mg/g para Cu y 2,9 mg/g para Cd. El biofilm presento una eficacia de eliminación de 80.5 y 65.7% para Cu (II) y 42,9 y 68,6% para Cd (II) en 9 días.

3.2.3 BIOAUMENTACIÓN COMO MEJORA DE UN PROCESO BIORREMEDATIVO

La bioaumentación es una estrategia comúnmente utilizada para eliminar los contaminantes orgánicos del medio ambiente, basado en la inoculación en ambientes dados, (suelo, lodos activados, sedimentos, agua, entre otros) con microorganismos caracterizados con las capacidades catalíticas deseadas (Cycoñ et al., 2017). Su aplicación se recomienda principalmente para sitios donde el número de microorganismos autóctonos que permiten la degradación de los contaminantes es insuficiente y / o aquellos en los que las poblaciones nativas no tienen las vías catabólicas necesarias para metabolizar los contaminantes.

La mejora del potencial catabólico de las comunidades microbianas del suelo para la degradación de contaminantes puede lograrse mediante la inoculación del suelo con cepas individuales seleccionadas de bacterias y/u hongos o sus consorcios con las capacidades catabólicas deseadas (Herrero & Stuckey, 2015). Para la selección de las cepas apropiadas para bioaumentación, se debe tener en cuenta características de los microorganismos tales como: un alto potencial de degradación de contaminantes,

crecimiento rápido, facilidad de cultivo, la capacidad de soportar altas concentraciones de contaminantes y sobrevivir en una amplia gama de condiciones ambientales.

De acuerdo con (Cycoń et al., 2017), se pueden distinguir tres enfoques en función del origen de los inoculantes: autóctono, alóctono y bioaumentación génica. En el primer método, los microorganismos se aíslan de los entornos contaminados (principalmente mediante un cultivo enriquecido) y se vuelven a inyectar en el mismo sitio. Para la bioaumentación alóctona, los microorganismos se reclutan desde otro sitio, después de lo cual se introducen en el sitio contaminado. La bioaumentación genética implica el uso de la GEM (microorganismos modificados genéticamente) equipados con genes que codifican las enzimas responsables de algunas funciones deseadas.

(Mahbub et al., 2017), estudiaron cuatro suelos contaminados con mercurio (Hg) con diferente pH (7.6, 8.5, 4.2 y 7.02) y contenidos de carbono orgánico total (2.1, 2.2, 4 y 0.9%) sometidos a biorremediación utilizando una cepa bacteriana volatilizante de Hg *Sphingobium* SA2 y enmienda de nutrientes, a una concentración de 280 mg/kg de Hg. Se eliminó el 60% de Hg mediante bioaumentación en 7 días, y la eliminación mejoró cuando se agregaron los nutrientes. Mientras que, en suelos artificialmente enriquecidos, con 100 mg/kg Hg, la remoción fue de 33 a 48% en 14 días. En el suelo contaminado de campo, la enmienda de nutrientes sola sin bioaumentación eliminó el 50% de Hg en 28 días.

(Rojjanateeranaj et al., 2017), en su investigación utilizaron cepas de bacterias resistentes al Cd, *Icrococcus* sp., *Pseudomonas* sp. y *Arthrobacter* sp., para promover la remediación conjunta con *Glycine max* L, se trabajó con suelo esterilizado contaminado con cadmio a concentraciones de Cd de 50,35 mg/kg y se bioestimuló con nutrientes en relaciones C: N de 5: 1, 10: 1 y 20: 1, en conjunto con un tratamiento de control sin bioestimulación (relación inicial C: N de 11,7: 1), temperatura de 32°C y pH de 7. La bioestimulación de nutrientes promovió la absorción y acumulación de cadmio en plantas inoculadas. El contenido de cadmio en las raíces, tallos y hojas de plantas inoculadas con *Arthrobacter* sp., después del trasplante en suelo con bioestimulación de nutrientes durante tres meses fue mayor que el del testigo no inoculado sin bioestimulación en 71,6%, 96,1%

y 43,0%, respectivamente, el efecto de estimulación de la adición de nutrientes sobre los microorganismos autóctonos, se observó que después del trasplante durante dos meses en condición de bioestimulación, las plantas inoculadas con *Arthrobacter sp.*- y *Micrococcus sp.* presentaron un contenido de cadmio mayor que la planta no inoculada, en 3.36 y 3.22 veces, respectivamente. Entre las diferentes relaciones C: N, las concentraciones más altas de cadmio biodisponible en el suelo se encontraron en una relación C: N de 20: 1 con inoculación bacteriana. Suelo con *Arthrobacter sp.*, la inoculación a una relación C: N de 20: 1 tuvo la concentración más alta de cadmio biodisponible; 29,4 y 38,2% más alto que el suelo no inoculado con y sin bioestimulación de nutrientes.

3.2.4 SINERGIA ENTRE MICROORGANISMOS EN BIORREMEDIACIÓN

La sinergia hace referencia a un fenómeno por el cual actúan en conjunto varios factores, o varias influencias, observándose así un efecto conjunto adicional del que hubiera podido esperarse operando independientemente. La sinergia se puede utilizar como estrategia de biorremediación que permite aprovechar la acción conjunta de los microbios para degradar un contaminante.

(Cui et al., 2017) Desarrollo su estudio en biorremediación de la contaminación por metales pesados utilizando un agente microbiano compuesto de *Mucor circinelloides*, *Actinomucor sp.* y *Mortierella sp.* En su investigación tomó los relaves de la mina en la ciudad de Anshan como área de remediación. Se seleccionaron Pb, Mn y Zn como elementos principales para futuras investigaciones debido a su alta concentración. Se exploró una fórmula especial de agente microbiano compuesto basada en las características del suelo de relaves. Las condiciones óptimas del agente microbiano compuesto fueron aproximadamente 1,2 mL de IIA, pH de 7 y temperatura de 26 ° C. En la etapa inicial del proceso de biorremediación (7 días), *Kentonobacteria* fue el microbio dominante en el grupo de tratamiento, 14 días después, *Acidobacteriase* convirtió en la bacteria dominante que aumentó de 2,50 % (7 días) a 19,58% (49 días). El microbio dominante en el grupo de control fue *Betaproteobacteria* y *Ascomycota*. Las capacidades máximas de adsorción de

Pb, Mn y Zn fueron 77,42 mg / g, 75,00 mg /g y 68,57mg / g. La eficiencia de inmovilización de metales pesados fue de hasta 74,98% (Zn), 85,29% (Pb) y 79,41% (Mn).

Por su parte (Jin et al., 2019) estudiaron la cepa del hongo *Simplicillium chinense* QD10 en conjunto con *Phragmites communis* (Carrizo) para remediación de Pb y Cd en suelos contaminados artificialmente. Los resultados del experimento mostraron que el hongo presentó una capacidad de biosorción de los metales de 88,5 y 57,8 g/kg para Cd y Pb a un pH 7, temperatura de 30°C. El trabajo conjunto de *Phragmites communis* y *Simplicillium chinense* QD10, presento una eficacia de 59,6% Cd y el 75,2% Pb en 8 meses de tratamiento.

3.2.5 CICLODEXTRINAS (CD) Y RAMNOLÍPIDOS EN BIORREMEDIACIÓN

Se ha desarrollado una amplia variedad de técnicas, pero muchas de ellas están asociadas con inconvenientes, como pueden ser complejidad, altos costos, riesgos ambientales, entre otros (Zhi et al., 2020). Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos obtenidos de la degradación enzimática del almidón, compuestos de unidades de glucosa asociadas por enlaces α -1,4-glicosídicos. Sus principales representantes son CD nativos, α , β y γ con 6-8 unidades de glucosa, respectivamente, ver figura 20. (Morillo et al., 2020).

El interés que fomenta este tipo de moléculas está asociado a una característica peculiar en su estructura, las CD poseen caras hidrófilas, debido a la presencia de grupos hidroxilo primarios y secundarios, y una cavidad interior hidrófoba capaz de encapsular moléculas orgánicas hidrófobas (formación de complejos). De igual manera pueden formar complejos de metal-CD, debido a la presencia de grupos hidroxilo primarios y secundarios en las CD nativas proporcionando sitios de coordinación para quelar iones metálicos y formar enlaces covalentes a pH básico, donde los grupos OH pueden desprotonarse y actuar como nucleófilos (Prochowicz et al., 2016). Esta formación de complejos puede promover la eliminación de metales de soluciones contaminadas y de suelos. Además, que su aplicabilidad puede ser in situ o ex situ.

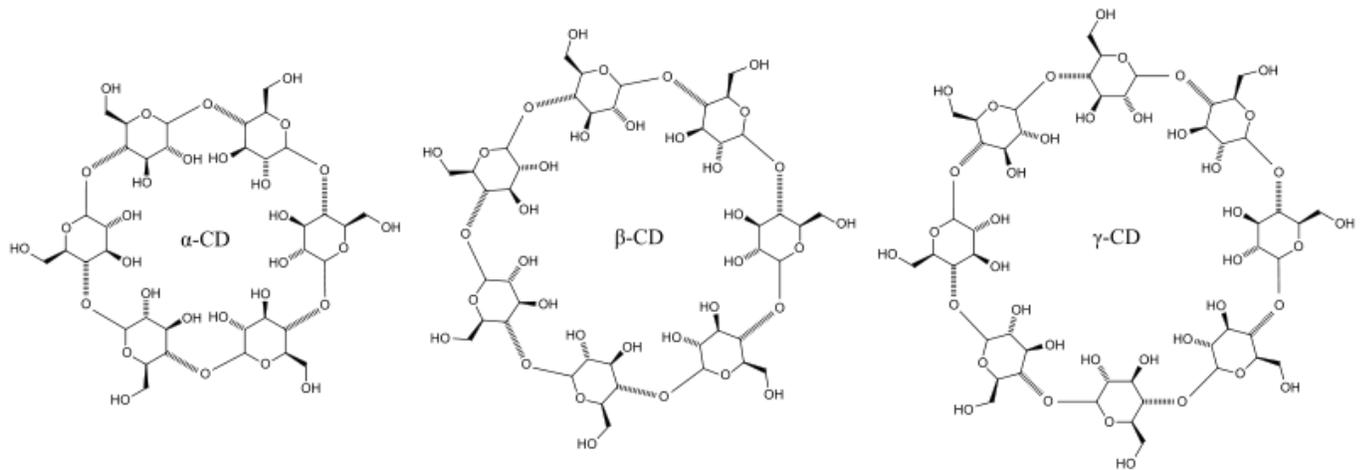


Figura 20. Especies de ciclodextrinas nativas. Fuente (Unknown, 2016).

Los CD pueden proporcionar diferentes efectos para mejorar la remediación de suelos contaminados. En primer lugar, aumentan la biodisponibilidad de contaminantes orgánicos hacia los microorganismos degradadores presentes en el suelo. Como consecuencia, hay una mejora en la remoción y la posibilidad de su absorción por las plantas. Además, proporcionan una ventaja adicional, por dado a que la encapsulación de los contaminantes por los CD disminuye su toxicidad hacia las células bacterianas de microorganismos y plantas, y la presencia de CD en el suelo bioestimula la actividad microbiana del suelo porque también son fuentes de carbono.

(Jiang et al., 2020) utilizaron compuestos de β-ciclodextrina / MCM y quitosano / MCM como bioadsorbentes para los iones Cd^{2+} . El quitosano/MCM y la β-ciclodextrina/MCM lograron capacidades de absorción de 122,4 y 152,2 mg/g, a un pH de 7 y temperatura de 30°C respectivamente donde se mostró una eficacia de eliminación de 83,4% para CD y 62% para quitosano, los intervalos de absorción probados (30 min a 720 min). Por su parte (Li et al., 2018) llevaron a cabo un experimento en macetas para investigar el efecto de una serie de concentraciones de β-ciclodextrina (β-CD) sobre la biorremediación del suelo contaminado con Cd (7,96 mg /kg), utilizando amaranto y el hongo de la pudrición blanca *Phanerochaete chrysosporium*. Los resultados del estudio mostraron que, de los tratamientos evaluados, RF +β_{1.2} (Suelo plantado inoculado con el hongo y agregado con 1.2% de β-CD (P/P)) logró una eficiencia de 65,6 % en la eliminación de Cd. Así mismo, (Usman et al., 2019) prepararon moléculas de hidroxipropil-β-

ciclodextrina grafeno (HP- β -CD-GO) a partir de hidroxipropil- β -ciclodextrina y óxido de grafeno (GO), cargadas con nanopartículas de Fe₃O₄ por el método hidrotermal para obtener una nanopartícula magnética, para la adsorción de Pb (II). Los resultados del ensayo mostraron una adsorción de Pb de 50,39 mg/g, con eficiencia del 80% trabajando a pH menor de 6.

Otra estrategia de optimización empleada en biorremediación es el uso de ramnolípidos, principalmente para recuperar ambientes contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y metales pesados como Cu, Pb y Cd. Los ramnolípidos comúnmente conocidos como tensoactivos bacterianos, son una clase de glicolípidos producidos por microorganismos, de los cuales los de mayor potencial aplicativo son los de *Pseudomonas aeruginosa*. De acuerdo con (Giraldo et al., 2015) estos tensoactivos microbianos, pueden obtenerse a partir de diversos sustratos de bajo costo que van desde azúcares hasta hidrocarburos, también se incluyen compuestos tales como alcanos, piruvatos, citratos, fructosa, aceites vegetales, glicerol, glucosa, así como residuos agroindustriales o aceites vegetales reciclados usados como fuentes de carbono.

La figura 21. Ilustra la representación molecular de ramnolipidos, tenemos un centro hidrófilo que consta de una (mono-ramnolípidos) o dos (di-ramnolípidos) moléculas de ramnosa, mientras que la parte hidrófoba está representada por dos (o más raramente uno) ácidos grasos β -hidroxi, saturados o insaturados, de diferentes longitudes de cadena (C₈ -C₂₄).

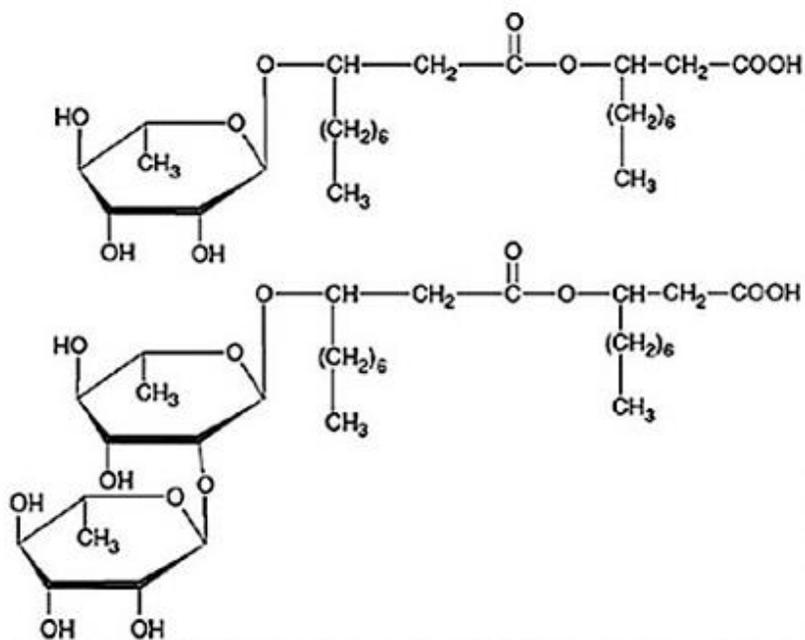


Figura 21. Representación molecular de mono-ramnolipidos (parte superior), di-ramnolipidos (parte inferior), producidos por la cepa *Pseudomonas aeruginosa*. Fuente (Giraldo et al., 2015)

El estudio de (Boveiri et al., 2019) para la eliminación de Cd en soluciones acuosas, utilizando conjuntamente ramnolípidos de la cepa *Pseudomonas aeruginosa* MA01 y residuos de carbón, mostró una eficiencia de adsorción del metal del 99,6% en 60 minutos trabajándose con una concentración de 100 ppm de Cd, a un pH de 9; el reporte también muestra que la eliminación de cadmio tubo una disminución significativa a valores de pH de 3 y 11 con valores de eficiencia de 6,6% y 66%, respectivamente. Por su parte (Salamat et al., 2018) evaluaron la adsorción de Pb mediante la producción de biosurfactante de la cepa grampositiva *Bacillus sp*, se observó adsorción bacteriana de plomo a una concentración de 50 mg /l del medio de cultivo. El porcentaje de eliminación de plomo se calculó como 82% de la concentración de Pb en 2.5 h. La máxima absorción de plomo se produjo después de 30 min de la inoculación a temperatura de 30°C y pH 6.

(Tang et al., 2018) utilizaron ramnolípidos para mejorar la eficiencia de la técnica electrocinética de remediación, en la eliminación de Pb y Hg (52,5 mg/kg y 18,1 mg/kg) de lodos de aguas residuales a pH 7-8. Los resultados mostraron eficiencias de eliminación de Pb (30,8%) y Hg (30%) en el tratamiento sin ramnolípidos. Sin embargo, cuando se aplicó electrocinética y ramnolípidos se logró una eficiencia del 64% para Pb y 35% para Hg, el

trabajo concluye que debido a los grupos funcionales de ramnolípidos, como carboxilo e hidroxilo, estos grupos tienen la capacidad de formar complejos móviles de metales pesados y facilitar su eliminación.

Con los reportes de tecnologías de biorremediación y estrategias de optimización expuestas en este capítulo se resume y concluye lo siguiente:

La eficiencia del proceso remediativo, es evaluada principalmente en base al tiempo requerido para lograr una concentración aceptable o la eliminación del contaminante en la matriz de estudio, así como el porcentaje de eficiencia presentado en el experimento. De las tecnologías de biorremediación estudiadas en este capítulo tenemos: la electroquímica microbiana presenta porcentajes de eficiencia de 43,2 para la remediación de Cd y 31,6 para Pb. La tecnología de biorremediación con biocarbón reporto eliminación de Cd en 35 días aplicada *in situ*, tal como lo reporto (Xiao et al., 2021), combinada con microorganismos como lombrices y bacterias, disminuyendo su eficiencia a 30%. En cuanto al diseño de microorganismos, la gran parte de las investigaciones se reportan *ex situ*. Aún se presentan desafíos en esta tecnología para ser aplicada *in situ*, como tolerancia a las condiciones extremas de contaminantes, toxicidad entre otras presentes en un ambiente natural, (De Oliveira et al., 2020) aplicó un hongo modificado genéticamente para biorremediar Cd, el hongo modificado logró eliminar el Cd en el medio de cultivo con una eficacia del 84% en un tiempo de 72 horas.

Por su parte la aplicación de nanopartículas presentó eficacia entre baja y aceptable en un tiempo estimado de 42 días, para la eliminación de metales como el Cd y Pb, (56,4 y 43,1%) respectivamente, con nanopartículas de hierro de valencia cero (Xue et al., 2018). Para el Hg presento una eficiencia de 57,1 % en 65 días con nanopartículas de selenio (Wang et al., 2017). Aunque la aplicación de nanopartículas en biorremediación es un campo en investigación, aun presenta desafíos en cuanto al conocimiento en los que se identifican: insuficiente definición del punto en el que de hecho las propiedades cambian en relación con el tamaño, las implicaciones de la interacción de las nanoestructuras con el medio natural entre otras. De forma que su uso debe cuestionarse, por los riesgos a la salud

que pueden generar el tamaño y la facultad de atravesar membranas, incurriendo en problemas de toxicidad.

Así mismo el uso de tecnologías de biorreactores, reportado eficiencias altas 99 y 99,8 % en el tratamiento de Cd y Hg, en 170 y 7 días respectivamente (Huang et al., 2017; Fard & Mehrnia, 2017). Se puede decir que los biorreactores son un sistema muy prometedor por el control que se le puede dar a cada variable, permitiendo crear condiciones óptimas a los microbios; en remediación, su uso se limita al equipamiento y montaje para ser aplicado *in situ*.

De las tecnologías expuestas, presento mayor eficiencia el uso de biorreactores (99,8%). Así mismo para el tiempo de eliminación, esta misma tecnología presento un tiempo menor (7 días). De modo que se puede sugerir el uso de biorreactores por su menor tiempo de aplicación y alta eficiencia en la eliminación de metales tales como Cd y Hg aplicados *ex situ*.

Otro punto de análisis en este capítulo son las técnicas de optimización que permiten la mejora del proceso biorremediativo. Analizándolas del mismo modo (% eficiencia y tiempo), tenemos: los materiales de membrana, específicamente membranas de intercambio iónico, presentaron una eficacia del 31,6 % y 43,2% en la remoción de Pb y Cd respectivamente, en un tiempo de 8 horas, de acuerdo con (Berbar et al., 2019). La eficacia de estos materiales se aplica directamente a las propiedades de la membrana, las cuales están determinadas por el tipo de grupos funcionales cargados unidos a la matriz de la misma y la afinidad del metal. Por otra parte, otras técnicas de optimización con un objetivo inclinado más a la parte biológica y bioquímica de los microorganismos, son los biofilms con eficacia de aplicación en la remoción de Hg y Cd de 90,7 y 80,5 % en 93 y 9 días respectivamente (Huang et al., 2019; Wu et al., 2017), esta técnica es beneficiosa porque busca inducir al refuerzo de las comunidades microbianas existentes en un ambiente contaminado. Así mismo la sinergia entre microorganismos, presento una eficiencia del 85,2 y 75,2% en la eliminación de Pb, en 49 días y 8 meses respectivamente, de acuerdo a los estudios de (Cui et al., 2017; Jin et al., 2019); del mismo modo presento eficacia de 59,6% en 8 meses cuando es aplicada al Cd (Jin et al., 2019).

Por su parte al aplicar la técnica de bioaumentación enriqueciendo el suelo con nutrientes y cepas bacterias, se obtuvo una eficacia de 96,1% en la remoción de Cd (Rojjanateeranaj et al., 2017) en 3 meses; también se logró eliminar un 50% de Hg en 28 días (Mahbub et al., 2017). Por su parte las Ciclodextrinas CD contribuyeron a la eliminación de 83,4% de Cd en 12 horas (Jiang et al., 2020) y Pb en un 80% de eficacia (Usman et al., 2019). Los ramnolípidos contribuyeron a la eliminación de Cd (99,6%), Pb (82%) y Hg (35%) en 1 hora, 30 minutos respectivamente (Boveiri *et al.*, 2019; Salamat *et al.*, 2018; Tang *et al.*, 2018).

Con respecto a la eficiencia, las técnicas de optimización presentaron resultados mayores comparadas con las tecnologías de biorremediación expuestas en este capítulo. Dentro de estas técnicas, se destaca con un porcentaje alto la aplicación de Ramnopilidos (99,6%), así mismo también registro un menor tiempo de acción (1 hora) en la eliminación de Cd. Seguida de la técnica de bioaumentación con 96,1% de eficiencia.

Del mismo modo, este capítulo permite discutir otros aspectos de las tecnologías de biorremediación tales como:

Se pudo conocer que la mayoría de los contaminantes no se degradan o eliminan en el medio ambiente, o lo hacen lentamente, debido a la falta de un donante o aceptor de electrones adecuado. Las estrategias actuales de biorremediación se centran, por tanto, en la provisión de este donante / aceptor. Los procesos electroquímicos microbianos tratan este problema proporcionando o extrayendo electrones directamente a través de un electrodo o un donante / aceptor de electrones en estado sólido, como el hierro de valencia cero. Por tanto, puede establecerse una interacción directa y bastante específica entre el donante / aceptor y el biocatalizador.

También se debe tener en cuenta que los sistemas bioelectroquímicos BES estimulan bacterias específicas en el sistema a través de reacciones electroquímicas que pueden mejorar la actividad metabólica de las bacterias. Los sistemas pueden proporcionar más electrones para mejorar la eficiencia de la degradación de contaminantes

4. CONCLUSIONES

Con base a la información científica citada en este trabajo, se concluye lo siguiente:

Hay suelos con graves problemas de contaminación por metales pesados en el mundo, es notorio el riesgo a la salud pública y al ecosistema, por lo que se deben tomar medidas en el tratamiento y rehabilitación de los mismos.

Los reportes aquí expuestos para la biorremediación de Hg, Cd y Pb, mostraron una eficiencia variada utilizando diversos tipos de microorganismos y técnicas, se observaron eficiencias en un rango de 20-99%. Sin embargo, la biorremediación es una tecnología que necesita más estudio por los diversos factores bióticos y abióticos que la limitan.

En cuanto al uso de microorganismos para el tratamiento de Hg, Cd y Pb se sugiere utilizar cepas bacterianas como *Pseudomonas aeruginosa* para contaminantes como Hg dado a su capacidad de adsorción máxima de 180 mg/g, o microalgas como *Phormidium sp*, quien presenta una eficiencia de 92,2% en eliminación de Hg. Para Cd se sugiere el uso de microalgas como *Chlorella sp* y *Scenedesmus* quienes presentan eficacias del 92,5 y 60,5% en la eliminación de Cd respectivamente. Del mismo modo para Pb, se sugiere algas como *Fucus vesiculosus* y hongos como *Aspergillus niger* por sus capacidades de adsorción del metal (229 y 172 mg/g), también se recomienda el uso de microalgas como *Phormidium sp* (eficacia de 92,2%) y *Chlorella sp*. (eficacia de 78%) en la eliminación de Pb.

No se recomienda el uso de microorganismos extremófilos dado a que hay poca información de su uso aplicado a remediación biológica. Se conoce que pueden vivir en ambientes extremos, sin embargo, su utilidad es limitada dado a su aislamiento y manejo de las condiciones en las que sobreviven.

Por eficiencia (99 y 99,8 %) y tiempo se recomienda el uso de tecnologías como biorreactores, específicamente para el tratamiento de Cd y Hg. Del mismo modo se sugiere el uso de técnicas de optimización como bioaumentación y ramnolípidos para el tratamiento de Cd, biofilm para Hg, sinergia entre microorganismos y uso de ramnolípidos para Pb.

Técnicas como materiales de membrana y sinergia de microorganismos aún están en estudio.

Se ha incursionado en crear bacterias modificadas genéticamente con un nivel adecuado de certeza ambiental para su liberación en campo. De igual manera existen limitaciones en el diseño de bacterias, como son la supervivencia de las mismas a ambientes extremos de contaminación. Aún está en estudio los mecanismos que permitan optimizar a las bacterias en la remediación de Hg, Cd y Pb.

Recomendaciones:

- Muchos de los estudios publicados se investigaron en condiciones de laboratorio controladas arbitrariamente. El diseño de parámetros experimentales debe tratar de simular las condiciones naturales, incluidas las condiciones climáticas, meteorológicas, contaminantes y estrés oxidativo.
- Para sitios con presencia de altas concentraciones de metales pesados, los microorganismos y plantas deben ser tratados en un periodo de adaptación y dopaje, de igual forma se necesita un tratamiento posterior para evitar la contaminación secundaria una vez removidas las plantas.
- Los mecanismos de interacción de diferentes contaminantes en los procesos de Biorremediación necesitan más estudio, para enriquecer las investigaciones en el diseño de microorganismos.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aabida, A. (2018). *Tecnologías físico-químicas en la regeneración de suelos contaminados*. Sevilla: Escuela Técnica Superior de Ingeniería; Universidad de Sevilla.
- Abinandan, S., Subashchandrabose, S., Venkateswarlu, K., Adhiwarie, I., & Megharaj, M. (2019). Acid-tolerant microalgae can withstand higher concentrations of invasive cadmium and produce sustainable biomass and biodiesel at pH 3.5. *Bioresource Technology*, 469-473.
- Agencia Nacional de Minería ANM. (18 de Febrero de 2016). *ANM.gov.co*. Obtenido de https://www.anm.gov.co/?q=bolivar_esta_hablando_de_mineria_boletin_
- Agencia nacional de minería ANM. (23 de Enero de 2017). *anm.gov.co*. Obtenido de https://www.anm.gov.co/sites/default/files/DocumentosAnm/bullets_bolivar_23-01-2017.pdf
- Alvarez, A. (2017). Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere*, 41-62.
- Amjad, M., Khan, S., Khan, A., & Alam, M. (2017). Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Ciencia del Medio Ambiente Total*, 1591-1605.
- Beltrán, M., & Gómez, A. (2016). Biorremediation of heavy metal cadmium (cd), chrome (cr) and mercury (hg), biochemical mechanisms and genetic engineering: a review. *Facultad de Ciencias Básicas*, 172-197.
- Berber, Y., Hammache, Z., Bensaadi, S., Soukeur, R., & Bruggen, B. (2019). Effect of functionalized silica nanoparticles on sulfonated polyethersulfone ion exchange membrane for removal of lead and cadmium ions from aqueous solutions. *Journal of Water Process Engineering*
- Babaei, A., & Taghizadeh, M. (2020). Procesos de oxidación avanzados integrados por reactores de membrana y biorreactores para diversos tratamientos de aguas residuales: una revisión crítica. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.
- Bilal, U., Padovese, I., & Souza, A. (2020). Chapter 12 - - Biomolecules produced by extremophiles microorganisms and recent discoveries. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, 247-270.
- Cameron, H., Mata, M., & Riquelme, C. (2018). El efecto de los metales pesados sobre la viabilidad de *Tetraselmis marina* AC16-MESO y una evaluación del uso potencial de esta microalga en la biorremediación. *Microbiología*.

- Boveiri , R., Shojaei, V., & Khoshdast, H. (2019). Eliminación eficiente de cadmio de soluciones acuosas utilizando un residuo de carbón de muestra activado por biosurfactante ramnolípido. *Revista de Gestión Ambiental*, 1182-1192.
- Casallas, M., & Martínez, J. (2015). Panorama de la minería del oro en Colombia. *Contraloría General de la República*, 20-27.
- Cecchin, I., Reddy, K., Thomé, A., Tessaro, E., & Schnaid, F. (2017). Nanobioremediation: Integration of nanoparticles and bioremediation for sustainable remediation of chlorinated organic contaminants in soils. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 419-428.
- Cha, J., Park, S., Jung, S.-C., Ryu, C., Jeon, J.-K., Shin, M.-C., & Park, Y.-K. (2016). Production and utilization of biochar: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 1-15.
- Chang, J., Shi, Y., Si, G., Yang, Q., & Dong, J. (2020). Los potenciales de biorremediación y los mecanismos resistentes al mercurio (II) de un nuevo hongo *Penicillium* spp. DC-F11 aislado de suelo contaminado. *Journal of Hazardous Materials*.
- Chavez, E. (2017). Cadmio en Cacao: enfoque científico para mitigar el impacto regulaciones internacionales. *ESPOL*, 25-37.
- Chiranjeevi , P., & Patil, S. (2020). Strategies for improving the electroactivity and specific metabolic functionality of microorganisms for various microbial electrochemical technologies. *Biotechnology Advances*.
- Cornejo, A. (2017). Estudio del microbioma presente en celdas de combustible microbianas. *Centro de investigación y desarrollo tecnológico en electroquímica, S.C.*, 1-98.
- Correa, M. V. (20 de Octubre de 2017). Minería en Colombia: 80% en ilegalidad . *El Colombiano*.
- Cortada, U., Hidalgo, C., Martínez, J., & Rey, J. (2018). Impacto en suelos causado por metales (loid) s en metalurgia del plomo. El caso de la Fundación La Cruz (Sur de España). *Journal of Geochemical Exploration*, 302-313.
- Cui, Z., Zhang, X., Yang, H., & Sun, L. (2017). Biorremediación de la contaminación por metales pesados utilizando un agente microbiano compuesto de *Mucor circinelloides*, *Actinomucor* sp. y *Mortierella* sp. *Revista de ingeniería química ambiental*, 3616-3621.
- Das, D., Chakraborty, S., Bhattacharjee, C., & Chowdhury, R. (2016). Biosorción de iones de plomo (Pb²⁺) de aguas residuales simuladas utilizando biomasa residual de microalgas. *Desalin. Tratamiento de agua*, 4576-4586.

- Daud, S., Kim, B., Ghasemi, M., & Daud, W. (2015). Separadores utilizados en tecnologías electroquímicas microbianas: estado actual y perspectivas futuras. *Bioresour. Technol.*
- De Oliveira, V., Ullah, I., Dunwell, J., & Tibbett, M. (2020). Bioremediation potential of Cd by transgenic yeast expressing a metallothionein gene from *Populus trichocarpa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
- Deomedesse, G., & Carareto, L. M. (2020). Bioremediation potential of new cadmium, chromium, and nickel-resistant bacteria isolated from tropical agricultural soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 112-123.
- Dizge, N., Ozbey, B., Bezirhan, E., Karagunduz, A., & Keskinler, B. (2019). Recent progress and developments in membrane materials for microbial electrochemistry technologies: A review. *Bioresource Technology Reports*.
- Dunia, H. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. *MEDISAN*, 12-21.
- Edogbo, B., Okolocha, E., Maikai, B., Aluwong, T., & Uchendu, C. (2020). Risk analysis of heavy metal contamination in soil, vegetables and fish around Challawa area in Kano State, Nigeria. *Scientific African*.
- Escalante, A., Pérez, G., Hidalgo, C., López, J., Campo, J., Valtierra, E., & Etchevers, J. (2016). Biocarbon (biochar) I: Nature, history, manufacture and use in soil. *Terra Latinoamericana*, 367-382.
- FAO. (2020). *Portal de Suelos de la FAO*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura : <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedades-biologicas/es/>
- FAO. (s.f.). *Fao.org*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/w1309s/w1309s04.htm>
- Giovanella, P., Vieira, G., Ramos, I., Pais, E., Fontes, B., & Sette, L. (2020). Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. *Journal of Hazardous Materials*, 243-252.
- Giraldo, D., Gutiérrez, S., & Merino, F. (2015). Actividad emulsificante y de remoción de metales pesados del ramnolípido producido por *Pseudomonas aeruginosa* PB 25. *Revista de la Sociedad Química del Perú*.
- Guo, S., Li, F., Li, P., Wang, S., Zhao, Q., Li, G., . . . Tai, P. (2018). Estudio sobre tecnologías de remediación de suelos orgánicos y contaminados con metales pesado. *Veinte años de investigación y desarrollo sobre contaminación y remediación del suelo en China*, Springer Singapur, Singapur, 238-243.
- Hamedi, J., Dehghani, M., & Mohammadian, F. (2015). Isolation of Extremely Heavy Metal Resistant Strains of Rare Actinomycetes from High Metal Content Soils in Iran. *Int. J. Environ*, 475-480.

- Hatami, G., & Mehrina, M. (2017). Investigación de la eliminación de mercurio mediante un biorreactor de membrana dinámica Micro-Algae a partir de aguas residuales dentales simuladas. *Revista de ingeniería química ambiental*, 366-372.
- Herrera, T. (2015). Cadmiun contamination in agricultural soils. *Instituto de Edafología. Facultad de Agronomía*, 42-47.
- Higueras, P., Oyarzun, R., & Maturana, H. (2018). *Mineria y Toxicología*. Obtenido de [previa.uclm.es:https://previa.uclm.es/_users/higueras/MAM/Mineria_Toxicidad4.htm](https://previa.uclm.es/previa.uclm.es/_users/higueras/MAM/Mineria_Toxicidad4.htm)
- Hryniewicz, K., Złoch, M., Kowalkowski, T., Baum, C., & Buszewski, B. (2018). Efficiency of microbially assisted phytoremediation of heavy-metal contaminated soils. *Environmental Reviews*, 316-332.
- Huang, Z., Liu, D., Zhao, H., Zhang, Y., & Zhou, W. (2017). Performance and microbial community of aerobic dynamic membrane bioreactor enhanced by Cd(II)-accumulating bacterium in Cd(II)-containing wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 368-375.
- Huang, Z., Wei, Z., Xiao, X., Tang, M., Li, B., & Zhang, X. (2019). Oxidación simultánea de mercurio y reducción de NO en un reactor de biopelícula de membrana. *Ciencia del Medio Ambiente Total*, 1465-1474.
- Ibuot, A., Dean, A., McIntosh, O., & Pittman, J. (2017). Biorremediación de metales mediante la sobreexpresión de Chlamydomonas reinhardtii de CrMTP4 en comparación con cepas de microalgas naturales tolerantes a las aguas residuales. *Algal Research*, 89-96.
- IPBES. (28 de Mayo de 2018). *IPBES: Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*.
- Islas, A., Peralta, M., Vega, L., & Aguilar, R. (2016). Biorremediación por bioestimulación y bioaumentación con microorganismos nativos de un suelo agrícola contaminado con hidrocarburos. *Centro de Investigación y de Estudios Avanzados- México*.
- Jiang, Y., Abukhadra, M., Refay, N., Sharaf, M., El-Meligy, M., & Awwad, E. (2020). Síntesis de compuestos de quitosano / MCM-48 y β -ciclodextrina / MCM-48 como bioadsorbentes para la eliminación ambiental de iones Cd²⁺; estudios cinéticos y de equilibrio. *Polímeros reactivos y funcionales*.
- Jin, Z., Deng, S., Wen, Y., Jin, Y., Pan, L., Zhang, Y., . . . Zhang, D. (2019). Application of Simplicillium chinense for Cd and Pb biosorption and enhancing heavy metal phytoremediation of soils. *Science of The Total Environment*.
- Kalita, D., & Joshi, S. (2017). Estudio sobre biorremediación de plomo por bacteria metalofílica productora de exopolisacáridos aislada de hábitat extremo. *Biotechnology Reports*, 48-57.

- Kit Leong, Y., & Chang, J.-C. (2020). Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. *Bioresource Technology*, 1-11.
- Kumar, R., Behera, S., Kumar, J., Thatoi, H., & Kumar, P. (2020). Potential application of bacterial biofilm for bioremediation of toxic heavy metals and dye-contaminated environments. *Current Research and Future Trends in Microbial Biofilms*, 267-281.
- Kumari, S. (2020). Recent developments in environmental mercury bioremediation and its toxicity: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*.
- Kushwaha, A., Hans, N., Kumar, S., & Rani, R. (2018). A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1035-1045.
- Lefevre, E., Bossa, N., Wiesner, M., & Gunsch, C. (2016). Una revisión de las implicaciones ambientales de in situ Remedación mediante hierro de valencia cero a nanoescala (nZVI): comportamiento, transporte e impactos en las comunidades microbianas. *Science of The Total Environment*, 889-901.
- Limcharoensuk, T., Sooksawat, N., Sumarnrote, A., Anchana, T., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., & Auesukaree, C. (2015). Bioacumulación y biosorción de Cd²⁺ y Zn²⁺ por bacterias aisladas de una mina de zinc en Tailandia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 322-330.
- Liu, L., Li, W., & Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *Science of the Total Environment*, 206-219.
- Londoño Franco, L., Londoño Muñoz, P., & Muñoz García, F. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14 No.2, 145-153.
- Malakootian, M., & Khodashenas, Z. (2017). La eficiencia de la biosorción de plomo de las aguas residuales industriales por microalga spirulina platensis. *J. Environ*, 357-366.
- Mani, I. (2020). 18 - Biofilm in bioremediation. *Bioremediation of Pollutants*, 375-385.
- Marrugo, J. (25 de Julio de 2018). *Semana*. Obtenido de Así es el consumo de mercurio en Colombia: <https://www.semana.com/contenidos-editoriales/colombia-sin-mercurio/articulo/asi-es-el-consumo-de-mercurio-en-colombia/577132>
- Martínez, J. A., & Reinaldo, M. (2018). Extracción de Oro en Colombia. *Contaminación y remediación de suelos en colombia: aplicado a la minería del oro* (págs. 12-15). Bogotá- Colombia: Ediciones EAN.
- Martínez, S., Gonzalez, M., Paternina, J., & Cantero, M. (2017). Contaminación de suelos agrícolas por metales pesados Zona minera el Alagran Cordoba- Colombia. *Universidad de Cordoba*, 20-32.

- Mahbub, K., Krishnan, K., Megharaj, M., & Naidu, R. (2016). Potencial de biorremediación de una cepa bacteriana altamente resistente al mercurio *Sphingobium* SA2 aislado de suelo contaminado. *Chemosphere*, 330-337.
- Mahbub, K., Krishnan, K., Andrews, S., Venter, H., Naidu, R., & Megharaj, M. (2017). Bio-augmentation and nutrient amendment decrease concentration of mercury in contaminated soil. *Science of The Total Environment*, 303-309.
- Mahecha, J., Trujillo, J., & Torres, M. (2015). Contenido de metales pesados en suelos agrícolas de la región del Ariari, Departamento del Meta. *Grupo de Investigación en Gestión Ambiental Sostenible –GIGAS*, 1-5.
- Ministerio de ambiente. (2018). *minambiente.gov.co*. Obtenido de Ley 1658 de 2013: <https://www.minambiente.gov.co/index.php/component/content/article?id=600:planta-asuntos-ambientales-y-sectorial-y-urbana-sin-galeria-51#:~:text=En%20el%20art%C3%ADculo%20de,establece%20plazos%20para%20erradicar%20el>
- Ministerio de Minas y Energía. (2016). Informe EITI (Iniciativa de Transparencia de las Industrias Extractivas). *Ministerio de Minas y Energía*.
- Mosa, k., Saadoun, I., Kumar, K., Helmy, M., & Parkash, O. (2016). Potential Biotechnological Strategies for the Cleanup of Heavy Metals and Metalloids. *Frontiers in Plant Science*.
- Morillo, E., Madrid, F., Lara, A., & Villaverde, J. (2020). Soil bioremediation by cyclodextrins. A review. *International Journal of Pharmaceutics*.
- Muñoz, H. M. (2017). *potencial fitorremediador de dos especies ornamentales como alternativa de tratamiento de suelos contaminados con metales pesados*. Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Navarro, G. (2014). *Química Agrícola, El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. México: Ediciones Mundi-Prensa.
- Naguib, M. (2018). Diversidad microbiana de los genes del operón Mer y sus posibles reglas en la biorremediación y resistencia al mercurio. *The Open Biotechnology Journal*, 56-77
- Niane, B., & Moritz, R. (2019). Quantification and characterization of mercury resistant bacteria in sediments contaminated by artisanal small-scale gold mining activities, Kedougou region, Senegal. *Journal of Geochemical Exploration*, 18-27.
- OMS. (23 de Agosto de 2019). *Organización Mundial de la Salud OMS*. Obtenido de Intoxicación por plomo y salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
- ONU. (2017). Convenio de minamata sobre el mercurio. *Programa de las naciones unidas para el medio ambiente*, 1-73.

- O'Connor, D., Hou, D., Sik Ok, Y., Mulder, J., Duan, L., Wu, Q., . . . Rinklebe, J. (2019). Mercury speciation, transformation, and transportation in soils, atmospheric flux, and implications for risk management: A critical review. *Environment International*, 747-761.
- Paz Cardona, A. (2018). *es.mongabay.com*. Obtenido de Colombia prohíbe el uso de mercurio en la minería.
- Peláez, M., Bustamante, J., & Gómez, E. (2016). presencia de cadmio y plomo en suelos y su bioacumulación en tejidos vegetales en especies de brachiaria en el magdalena medio colombiano. *Luna Azul*, 1-20.
- Peng, Y., Deng, A., Gong, X., Li, X., & Zhang, Y. (2017). Coupling process study of lipid production and mercury bioremediation by biomimetic mineralized microalgae. *Bioresource Technology*, 628-633.
- Pescador, S., Mazo, N., & Moncada, A. (2016). *Biología del Suelo UdeA*. Obtenido de Universidad de Antioquia: <https://sites.google.com/site/biologiadelsueloudea/microbiologia>
- Piñeros, K. (2017). *larepublica.co*. Obtenido de En el top cinco del ranking de los departamentos con más títulos mineros están Antioquia y Boyacá con 1.448 y 1.4.
- Praveen, A., Pandey, V., Marwa, N., & Singh, D. (2019). Fitgestión de sitios contaminados. *Capítulo 15 - Rizorremediación de sitios contaminados : aprovechamiento de las interacciones planta-microbio*, 389-407.
- Prochowicz, D., Kornowicz, A., Justyniak, I., & Lewiński, J. (2016). Metal complexes based on native cyclodextrins: Synthesis and structural diversity. *Coordination Chemistry Reviews*, 331-345.
- Puicon, Y., & Hurtado, J. (2016). Bioremediation of soils polluted with mercury by using *Pseudomonas* sp isolated from informal. *Peru Oral*.
- Rambabu, K., Banat, F., Pham, Q., Ho, S.-H., Ren, N.-Q., & Show, P. (2020). Biological remediation of acid mine drainage: Review of past trends and current outlook. *Environmental Science and Ecotechnology*.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M., & González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 66-77.
- Rojjanateeranaj, P., Sangthong, C., & Prapagdee, B. (2017). Fitorremediación de cadmio mejorada de *Glycine max* L. mediante bioaumentación de bacterias resistentes al cadmio asistida por bioestimulación. *Quimiosfera*, 764-771.
- Rocha, L., Olivero, J., & Caballero, K. (2018). Impacto de la minería del oro asociado con la contaminación por mercurio en suelo superficial de san martín de loba, sur de bolívar (colombia). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 93-102.

- Rodríguez Albarracín, H. S. (2017). Dinámica del cadmio en suelos con niveles altos del elemento, en zonas productoras de cacao de Nilo y Yacopí, Cundinamarca. *Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias*, 21.
- Roqueme , J., Marrugo, J., Pinedo, J., & Aparicio, A. (2014). Metales pesados en suelos agrícolas del valle medio y bajo del río Sinú, departamento de Córdoba. *Memorias del II Seminario de Ciencias Ambientales Sue-Caribe & VII Seminario Internacional de Gestión Ambiental. Universidad de Córdoba*.
- Salamat, N., Lamoochi, R., & Shahaliyan, F. (2018). Metabolism and removal of anthracene and lead by a *B. subtilis*-produced biosurfactant. *Toxicology Reports*, 1120-1123.
- Salwan, R., & Sharma, V. (2020). Chapter 1 - Overview of extremophiles. *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*, 3-11.
- Sánchez Barrón , G. (2016). Ecotoxicología del cadmio. *Facultad de Farmacia, Universidad de Complutense*, 1-3.
- Sánchez, C., Dessì, P., Duffy, M., & Lens, P. (2020). Microbial electrochemical technologies: Electronic circuitry and characterization tools. *Biosensors and Bioelectronics*.
- Sanyal, D., Dasgupta, S., & Banik, A. (2020). Biosorción de cadmio y producción de biomasa por dos microalgas de agua dulce *Scenedesmus acutus* y *Chlorella pyrenoidosa* : un enfoque integrado. *Chemosphere*.
- Saravanan, A., Sathasivam, J., Narayanan, V., Kumar, P., Yaashikaa, P., & Marimuthu, C. (2020). Rhizoremediation – A promising tool for the removal of soil contaminants: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.
- Schröder, U., Harnisch, F., & Angenent, L. (2015). Microbial electrochemistry and technology: terminology and classification. *Energy & Environmental Science*.
- Sharma, B., Kumar , A., & Shukla, P. (2018). Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. *Journal of Environmental Management*, 10-22.
- Soledad , H. (2017). Dinámica del cadmio en suelos con niveles altos del elemento, en zonas productoras de cacao de Nilo y Yacopí, Cundinamarca. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Sudhakar, M., Aggarwal, A., & Kumar , M. (2020). Chapter 14 - Engineering biomaterials for the bioremediation: advances in nanotechnological approaches for heavy metals removal from natural resources. *Emerging Technologies in Environmental Bioremediation*, 323-339.
- Suganya, S., Saravanan, A., Kumar, S., & Sundar, P. (2016). Secuestro de iones Pb (II) y Ni (II) de una solución acuosa utilizando microalga *Rhizoclonium hookeri*:

- termodinámica de adsorción, cinética y estudios de equilibrio. *Reutilización de agua*, 214-227.
- Suliman, W., Harsh, J., Abu-Lail, N., Fortuna, A.-M., Dallmeyer, I., & Garcia, M. (2016). Influence of feedstock source and pyrolysis temperature on biochar bulk and surface properties. *Biomass and Bioenergy*, 37-48.
- Tang, J., He, J., Xin, X., Hu, H., & Liu, T. (2018). Biosurfactants enhanced heavy metals removal from sludge in the electrokinetic treatment. *Chemical Engineering Journal*, 2579-2592.
- Thomé, A., Reddy, K., Reginatto, C., & Cecchin, I. (2015). Revisión de la nanotecnología para la remediación de suelos y aguas subterráneas: perspectivas brasileñas. *Agua, aire, suelo contaminado*, 1-20.
- Thompson, E., Freguia, S., Edrak, M., Berry, L., & Ledezma, P. (2020). Staged electrochemical treatment guided by modelling allows for targeted recovery of metals and rare earth elements from acid mine drainage. *Journal of Environmental Management*.
- Ubando, A., Africa, A., Maniquiz, M., Culaba, A., Chen, W.-H., & Chang, J.-S. (2021). Microalgal biosorption of heavy metals: A comprehensive bibliometric review. *Journal of Hazardous Materials*.
- US EPA. (1996). *Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos*. Obtenido de Soil screening guidance: technical background document: EPA/540/ R-95/128. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC, p A-5.
- Unidad de Planeación Minero Energética UPME. (2016). *upme.gov.co*. Obtenido de http://www1.upme.gov.co/simco/Cifras-Sectoriales/Datos/mercado-nal/MNAL_oro.pdf
- UPME. (2017). *Plan Nacional de desarrollo minero con horizonte a 2025*. Bogota: Ministerio de minas y energía. UPME. (2018). Plomo, caracterización y análisis de mercado internacional de minerales en el corto, mediano y largo plazo con vigencia al año 2035. *Unidad de Planeación minero energética*, 1-49.
- Usman, T., Xintai, S., Mengqi, Z., Yinnian, L., Ronglan, W., & Dejun, C. (2019). Preparación de hidroxipropil-ciclodextrina-grafeno / Fe₃O₄ y sus propiedades de adsorción para metales pesados. *Superficies e interfaces*, 43-49.
- Vélez, L., Ramirez, J., Hernández, G., Talavera, O., Escamilla, C., Poggi, H., . . . López, J. (2020). Industrial acid mine drainage and municipal wastewater co-treatment by dual-chamber microbial fuel cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 13757-13766.
- Verma, S., & Kuila, A. (2019). Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environmental Technology & Innovation*.

- Villar, M., & Bonilla, M. (2015). Obtención y caracterización de nanopartículas. *Centro de investigación en materiales avanzados S.A.*
- Wang, J., & Wang, S. (2019). Preparation, modification and environmental application of biochar: A review. *Journal of Cleaner Production*, 1002-1022.
- Wang, X., Zhang, D., Lee, D.-J., Al-Misned, F., Mortuza, M., & Gadd, G. (2017). Aerobic and anaerobic biosynthesis of nano-selenium for remediation of mercury contaminated soil. *Chemosphere*, 266-273.
- Wu, B., Wang, Z., Zhao, Y., Gu, Y., Wang, Y., Yu, J., & Xu, H. (2019). The performance of biochar-microbe multiple biochemical material on bioremediation and soil microecology in the cadmium aged soil. *Science of The Total Environment*, 719-728.
- Wu, Y., Yang, J., Tang, J., Kerr, P., & Wong, P. (2017). The remediation of extremely acidic and moderate pH soil leachates containing Cu (II) and Cd (II) by native periphytic biofilm. *Journal of Cleaner Production*, 846-855.
- Xia, X., Wu, S., Zhou, Z., & Wang, G. (2020). Microbial Cd(II) and Cr(VI) resistance mechanisms and application in bioremediation. *Journal of Hazardous Materials*, 50-62.
- Xiao, R., Liu, X., Ali, A., Chen, A., Zhang, M., Li, R., . . . Zhang, Z. (2021). Bioremediation of Cd-spiked soil using earthworms (*Eisenia fetida*): Enhancement with biochar and *Bacillus megatherium* application. *Chemosphere*.
- Xue, W., Huang, D., Zeng, G., Wan, J., Zhang, C., Xu, R., . . . Deng, R. (2018). Nanoscale zero-valent iron coated with rhamnolipid as an effective stabilizer for immobilization of Cd and Pb in river sediments. *Journal of Hazardous Materials*, 381-389.
- Yin, K., Wang, Q., Lv, M., & Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. *Chemical Engineering Journal*, 1553-1563.
- Yousefi, V., Mohebbi-Kalhari, D., & Samimi, A. (2017). Ceramic-based microbial fuel cells (MFCs): A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 1672-1690.
- Wang, X., Aulenta, F., Puig, S., Núñez, A., He, Y., Mu, Y., & Rabaey, K. (2020). Microbial electrochemistry for bioremediation. *Environmental Science and Ecotechnology*.
- Zhang, Y., He, Q., Xia, L., Li, Y., & Song, S. (2018). Algae cathode microbial fuel cells for cadmium removal with simultaneous electricity production using nickel foam/graphene electrode. *Biochemical Engineering Journal*, 179-187.
- Zhanga, H., Yuan, X., Wang, H., & Jiang, L. (2020). Bioremediation of co-contaminated soil with heavy metals and pesticides: Influence factors, mechanisms and evaluation methods. *Chemical Engineering Journal*, 1385-8947.

- Zhao, Y., Xueting, C., Yu, L., Han, B., Li, T., & Yu, X. (2019). Influence of cadmium stress on the lipid production and cadmium bioresorption by *Monoraphidium* sp. QLY-1. *Energy Conversion and Management*, 76-85.
- Zhou, Z., Chen, Z., Pan, H., Sun, B., Zeng, D., He, L., & Zhou, G. (2018). Contaminación por cadmio en suelos y cultivos en cuatro áreas mineras, China. *Revista de exploración geoquímica*, 72-84.