UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
VALPARAISO – CHILE

ESTUDIO TÉCNICO-ECONÓMICO DE LA APLICACIÓN DE NANOMATERIALES DE INGENIERÍA EN UN PROCESO DE FITORREMEDIACIÓN DE RELAVES

Camila Belén Estay Torres

Memoria de Titulación como requisito para optar al título de:
INGENIERA CIVIL QUÍMICO.

Profesor Guía: Dra. Andrea Lazo
Profesor Correferente: Dr. Daniel Ramírez
Profesor Correferente: Dra. Pamela Lazo (Universidad de Valparaíso)

Valparaíso, Agosto 2022

Dedicado a

Mis padres

Y todos aquellos que tienen el valor de enfrentarse a sí mismos.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis padres Rosa y Camilo, por los valores con los que me criaron y por su apoyo incondicional en todo mi proceso formativo, sin ellos esto no hubiese sido imposible. A mi hermano Jorge y mi cuñada Daniela, gracias por su preocupación y por todos los momentos que hemos compartido, buenos o malos, pero siempre aguantándonos. Familia, gracias por todo.

Debo agradecer honrosamente a Felipe Cisternas, mi gran compañero, por su empeño en conseguir la mejor versión de mí y por amarme en todas mis formas. Gracias por ser la mejor compañía en tiempos de amor, guerra y pandemia. Gracias por hacer todo más fácil. Gracias por permitirme compartir la vida contigo.

De forma especial, agradezco a mis amigos de la universidad, por ser mi contención y fuente de alegría durante tantos años, crecimos juntos y hemos formados lazos que durarán para siempre. Doy gracias por haberlos conocido y poder ser parte de su vida. Gracias por toda su ayuda. A mis amigas Carla, Yoselin y Gianina, por siempre creer en mí y darme ánimos, por su preocupación e infinito amor.

Por otro lado, quiero agradecer a la Dra. Andrea Lazo, por su gran apoyo en esta etapa final. Agradezco su confianza, buena voluntad y dedicación. Gracias por compartirme sus conocimientos y guiarme a sacar adelante la tarea en tiempos difíciles. A la Dra. Pamela Lazo y Dr. Daniel Ramírez, por la oportunidad de ayudarme con su experiencia y la buena disposición al aconsejarme al momento de resolver algún inconveniente.

RESUMEN

A lo largo de los años, la minería se ha instaurado como la principal actividad económica del país, sin embargo, el actual modelo extractivo provoca un impacto ambiental significativo, generando pasivos ambientales como los depósitos de relaves abandonados, compuestos, entre otras cosas, por metales pesados que se acumulan y persisten en el medio ambiente provocando problemas de salud y contaminación. Chile, a pesar de sus esfuerzos, hoy no presenta una política suficiente para la gestión de esta problemática.

Para dar solución a la contaminación por metales pesados tóxicos en suelos, existen una serie de técnicas que se han aplicado para su remediación, entre las cuales destaca la fitorremediación, técnica que se basa en el uso de plantas para eliminar degradar o aislar los contaminantes del medio. Actualmente busca mejorarse a través del desarrollo de estrategias como la incorporación de nanomateriales.

En este trabajo de título se analizan los distintos tipos de nanomateriales de ingeniería y enmiendas agrícolas, a fin de escoger los más apropiados para un proceso de fitorremediación, proponiendo un procedimiento experimental a escala de laboratorio que permita evaluar el efecto de su aplicación sobre la remoción de plomo y cromo desde un relave de cobre empleando especies nativas o endémicas de las zona norte y central de Chile.

Se propone el uso de las especies *Cistanthe grandiflora* y *Solidago chilensis* en experimentos ex-situ, con diferentes sustratos y en condiciones de invernadero por un periodo de siete meses. Además, se considera la adición de nanopartículas de hierro cero valente en diferentes dosis, las cuales se sintetizan por el método de precipitación reductora con borohidruro de sodio. A través del análisis por ICP-OES de las concentraciones iniciales y finales de los metales en raíces, hojas, tallos y en el relave, se busca determinar la variación en los factores de bioacumulación, translocación y en la eficiencia de remoción previamente reportados.

Respecto a la evaluación económica de la propuesta experimental, esta requiere una inversión total de $8.833.158 en el horizonte de evaluación. Finalmente, es importante recalcar que se trata de un proyecto de carácter científico, social y ambiental. Su implementación contribuye a solucionar la problemática presentada por depósitos de relaves abandonados, impulsando una técnica económica y amigable con el medio ambiente que podría ser aplicada por instituciones como los municipios encargados de la gestión de estos residuos.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 7
1.1 Objetivos del estudio 9
1.1.1 Objetivo General 9
1.1.2 Objetivos Específicos 9
2. ANTECEDENTES 10
2.1 Problemática 10
2.2 Marco Teórico 12
2.2.1 Contaminación del suelo 12
2.2.2 Pasivos ambientales mineros (PAM) 13
2.2.3 Relaves 14
2.2.4 Metales pesados 17
2.2.6 Fitorremediación 22
2.3 Nanofitorremediación 36
2.3.1 Nanomateriales de ingeniería (ENMs) 37
2.3.2 Factores que afectan los mecanismos de acción de los nanomateriales 44
2.3.3 Aplicación de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados asistida de nanomateriales de ingeniería. 46
3. ESTUDIO TÉCNICO 56
3.1 Recolección de muestra 57
3.1.1 Faena Minera Las Cenizas 57
3.1.2 Muestras de relaves 58
3.2 Metales pesados: Pb y Cr 59
3.3 Elección de especies 62
3.3.1 *Cistanthe grandiflora* 62
3.3.2 *Solidago chilensis Meyen var. chilensis* 63
3.4 Elección del nanomaterial de ingeniería 65
3.5 Selección de enmienda 70
3.6 Diseño de experimento: Sistema de nanofitorremediación 72
3.7 Metodología experimental 73
3.7.1 Síntesis de nZVI 73
3.7.2 Preparación de relave 74

3.7.3 Germinación de semillas 74
3.7.4 Preparación de matriz de sustrato 75
3.7.5 Acondicionamiento y trasplante 75
3.7.6 Cosecha y preparación de muestras 76
3.7.7 Muestreo y mediciones ICP-OES. 76
3.8 Materiales y equipos 77
3.9 Datos 78
3.9.1 Análisis de datos 78
3.10 Plan de seguimiento y monitoreo 79
3.11 Especificaciones de diseño 81
3.11.1 Sistema de invernadero 81
3.11.2 Unidades experimentales 81
3.11.3 Matriz de sustrato 82
3.11.4 Dosis de nZVI 83
3.11.5 Etiquetado 84
3.11.6 Espectroscopía de emisión óptica de acoplamiento inductivo (ICP-OES) ... 84
3.12 Listado de equipos requeridos 85
3.12.1 Especificaciones de equipos 86
3.13 Insumos y materiales 88
3.14 Requerimiento de obra civil 95
3.15 Ubicación 96
3.16 Layout 97
3.17 Residuos 98
4. ESTUDIO ECONÓMICO 99
4.1 Moneda para la evaluación 99
4.2 Alternativa de financiamiento 99
4.3 Listado de inversión 100
4.4 Listado de insumos 101
4.5 Detalle de costos 101
4.5.1 Costos iniciales 101
4.5.2 Costos fijos 102
4.6 Flujo de caja 103

4.7 Evaluación de costos 103
4.8 Análisis de sensibilidad 104
5. CONCLUSIONES 107
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 110
7. ANEXOS 123
Anexo A: Resumen estudios de fitorremediación con aplicación de nanomateriales de ingeniería para suelos contaminados con metales pesados como Pb, Cd, Cr y As. 123
Anexo B: Memoria de cálculo - Especificaciones de diseño experimental 125
Anexo C: Planillas de seguimiento y monitoreo 129

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de criterios para la clasificación de tecnología de remediación de suelos 20
Figura 2: Esquema representativo de estrategias de fitorremediación. 25
Figura 3:Relación entre la concentración de metales en plantas y suelo 26
Figura 4: Mecanismos involucrados en la acumulación de metales en plantas. 29
Figura 5: Uso de nanotecnología en la asistencia de fitorremediación de suelos contaminados. 48
Figura 6: Mecanismos de nanofitoestabilización y nanofitoextracción. 48
Figura 7: Emplazamiento de las dependencias de la Minera Las Cenizas, Cabildo, V Región 58
Figura 8: Imagen satelital de explanada Quebrada Rincón del Chincorro, Cabildo, V Región, año 2016. 58
Figura 9: Cistanthe grandiflora (A: Flor; B: Planta y varas florales). 63
Figura 10: Solidago chilensis var. chilensis (A: Planta entera, B: Fruto, C: Detalle de tallo, hojas e inflorescencia). 65
Figura 11: Estructura núcleo-coraza de las nanopartículas de hierro cero valente 67
Figura 12:Eliminación de iones metálicos utilizando nZVI. (A) mecanismo y (B) fenómeno de aglomeración de partículas. 68
Figura 13 Métodos de modificación de las nZVI. 68
Figura 14: Montaje de cada unidad experimental según tipo de sustrato y especie. 72

Figura 15: Diagrama esquemático del montaje experimental de la síntesis de nZVI. 73
Figura 16: Montaje de la totalidad de unidades experimentales según N° de experimento, especies y dosis de nZVI. 82
Figura 17: Formato de etiquetado de plantas..... 84
Figura 18: Esquema típico de la técnica ICP-OES..... 85
Figura 19: Medidor portátil de pH/CE/TDS 86
Figura 20: Medidor de pH/humedad/temperatura/Intensidad de la luz solar 86
Figura 21: Termómetro/Higrómetro digital..... 87
Figura 22: Plataforma de pesaje 88
Figura 23: Jardineras rectangulares 88
Figura 24: Kit de herramientas de jardín 89
Figura 25: Bandeja almaciguera 89
Figura 26: Pulverizador/Rociador 90
Figura 27: Acrílico transparente 90
Figura 28: Etiquetas de plantas..... 91
Figura 29: Guantes multipropósito 91
Figura 30: Biocarbón 92
Figura 31: Compost 93
Figura 32: Sustrato de huerto y autocultivo..... 93
Figura 33: Biofertilizante..... 94
Figura 34: Estructura de invernadero (Izquierda: Dimensiones; Derecha: Armazón interno) 95
Figura 35: Ingreso instalación de invernadero 96
Figura 36: Patio de gravilla, lugar de instalación de invernadero 96
Figura 37: Layout de la propuesta (en verde)..... 97
Figura 38: Flujo de caja de gastos simplificado 103
Figura 39: Planilla de seguimiento y monitoreo en formato Excel 129
Figura 40: Planilla de registro de la producción de biomasa (cosecha) en formato imprimible 130

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Catastro de los depósitos de relaves en Chile. 15
Gráfica 2: Estado de los depósitos de relaves abandonados en Chile según dueño. 15
Gráfica 3: Distribución de depósitos de relaves según región. 16
Gráfica 4: Proyección de volúmenes de relaves producto del proceso de concentrado de cobre 2014-2026 16
Gráfica 5: Análisis de sensibilidad del % de inversión vs tamaño de partícula (En amarillo caso base) 106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Principales tecnologías para remediación de suelos contaminados con metales pesados 21
Tabla 2: Criterios de clasificación de plantas de acuerdo con su concentración de metales pesados en biomasa aérea. 27
Tabla 3: Ventajas y limitaciones de la técnica de fitorremediación de suelos contaminados 34
Tabla 4: Características granulométricas de muestra de relave. 59
Tabla 5: Concentraciones de metales (Pb y Cr) en relave seco ± intervalo de confianza. 59
Tabla 6: Estándares neerlandeses para la evaluación de la contaminación del suelo en términos de concentración total de metales pesados en los suelos. Ministerio de vivienda, ordenamiento del territorio y medioambiente, Países Bajos. 60
Tabla 7: Cantidad necesaria de nZVI por cada maceta según N° de experimento 75
Tabla 8: Cantidades necesarios (kg) según composición del experimento No. 1. 82
Tabla 9: Cantidades necesarias (kg) según composición de experimento No. 2. 82
Tabla 10: Cantidades necesarias (kg) para todo el procedimiento experimental. 83
Tabla 11: Cantidad necesaria (kg) de nanomaterial nZVI. 83
Tabla 12: Especificaciones medidor digital portátil de pH, CE, TDS y temperatura. 86
Tabla 13: Especificaciones medidor de pH/humedad/temperatura/Intensidad de la luz solar 87
Tabla 14: Especificaciones termómetro/Higrómetro digital. 87

Tabla 15: Especificaciones plataforma de pesaje. 88
Tabla 16: Especificaciones semillas de estudio. 88
Tabla 17: Especificaciones jardineras rectangulares. 89
Tabla 18: Especificaciones herramientas de jardín. 89
Tabla 19: Especificaciones bandeja almaciguera. 90
Tabla 20: Especificaciones pulverizador/rociador. 90
Tabla 21: Especificaciones acrílico transparente 91
Tabla 22: Especificaciones etiquetas. 91
Tabla 23: Especificaciones guantes. 92
Tabla 24: Especificaciones biocarbón. 92
Tabla 25: Especificaciones compost 93
Tabla 26: Especificaciones de sustrato. 94
Tabla 27: Especificaciones biofertilizante. 94
Tabla 28: Detalle de inversión inicial. 100
Tabla 29: Detalle costos de insumos. 101
Tabla 30: Detalle de costos iniciales 102
Tabla 31: Detalle costos fijos 102
Tabla 32: Resumen costos del estudio experimental de nanofitorremediación. 103
Tabla 33: Costos comparativos de diferentes tecnologías de remediación por unidad métrica de sustrato tratado 104
Tabla 34: Cotización nanopartículas de hierro cero valente en diferentes tamaños de partícula 104
Tabla 35: Análisis de sensibilidad VAN vs % de inversión del nanomaterial. 105
Tabla 36: Variación % de inversión (Respecto al caso base: Síntesis de nZVI en laboratorio) 106
Tabla 37: Estudios de fitorremediación asistida por nanomateriales. 123

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La minería es la principal actividad económica de Chile con una participación del 15% en el PIB nacional durante el 2021 [1], donde la explotación de los yacimientos minerales de cobre ha sido predominante durante las últimas décadas. El modelo extractivo que se sigue empleando hasta la actualidad ha ido creciendo en intensidad y extensión, concentrando gran parte de la producción nacional y sus pasivos en el norte del país, puesto que los recursos minerales se encuentran mayoritariamente en esta zona.

Si bien la minería ha generado importantes beneficios económicos, también ha ocasionado diversos impactos significativos a nivel social y ambiental, como la generación de una gran cantidad de pasivos ambientales, especialmente faenas mineras que fueron quedando abandonadas sin tener un proceso adecuado de cierre, incluso cerca de sitios poblados, originando focos de contaminación en aire, agua y suelo, expandiendo así el alcance de sus impactos, afectando principalmente a las especies, ecosistemas, actividades económicas y la salud de comunidades cercanas a los lugares donde se han realizado o se realizan procesos asociados a la extracción y procesamiento de minerales.

Dentro de las faenas mineras abandonadas y/o paralizadas, los depósitos de relaves son una de las principales fuentes de riesgo [2]. La contaminación por metales pesados en suelos capta particularmente la atención debido a su toxicidad, acumulación en la cadena trófica y persistencia ambiental puesto que estos metales, a diferencia de contaminantes orgánicos, no pueden ser degradados naturalmente en componentes menos perjudiciales y tienden a ser incorporados por los seres vivos mediante los procesos de bioacumulación y biomagnificación superando los límites de tolerancia y aumentando sucesivamente el nivel de los contaminantes según el nivel trófico provocando problemas ambientales y de salud pública.

La información disponible indica que los métodos tradicionales de remediación para suelos contaminados por metales son mayormente fisicoquímicos o térmicos. Entre estos se encuentra la vitrificación, la desorción térmica, la electrocinética, la solidificación, el lavado y sellado de suelos, las barrera físicas, etc., sin embargo, requieren en general un alto consumo de energía, el uso de reactivos químicos o el traslado de grandes cantidades de residuos, por lo que resultan costosos y alteran las propiedades naturales de los suelos, restringiendo sus posibilidades de uso posterior; no obstante, tienen la bondad de solucionar el problema en corto tiempo y, además, poseen una eficacia totalmente probada [3]. Debido a las desventajas de estos métodos se han buscado tecnologías más económicas y ambientalmente más amigables.

En este contexto, en las últimas dos décadas han surgido con fuerza nuevas tecnologías que se agrupan bajo el nombre de biorremediación, cuya característica esencial es la utilización de organismos vivos para degradar, transformar o extraer contaminantes del suelo. Las técnicas de biorremediación son poco invasivas, permitiendo luego cualquier tipo de uso del suelo, además de ser más económicas comparadas con los métodos tradicionales.

Aunque son varias las tecnologías incluidas en el término biorremediación, una de las técnicas más prometedora para aplicar en suelos contaminados por metales es la fitorremediación [4]. Ésta se define como el uso de especies vegetales para remover o dejar en formas inocuas contaminantes del suelo o agua. A pesar de sus múltiples beneficios, presenta desventajas como extensos periodos de tiempo para obtener los resultados esperados y que la mayoría de las plantas aptas para el proceso tienen baja producción de biomasa y lenta tasa de crecimiento.

A menudo es difícil lograr una optimización del proceso de remediación con una sola tecnología, por lo que entre las estrategias de mejoramiento de la fitorremediación se encuentran las siguientes: el mejoramiento genético, la adición de quelantes, la aplicación de rizobacterias, el uso de técnicas híbridas como la nanotecnología, la remediación eléctrica, entre otros. Además, se realizan esfuerzos por llevar a cabo catastros de flora nativa o endémica presente en sitios contaminados con metales que presenten características fitorremediadoras [5, 6, 7].

1.1 Objetivos del estudio

El objetivo general y los objetivos específicos del presente trabajo de memoria se establecen con la intención de llevar a cabo una evaluación y definir el rumbo de la investigación.

1.1.1 Objetivo General

En base al desafío de este proyecto y la problemática planteada se estableció el siguiente objetivo general:

Realizar un estudio técnico-económico sobre el uso de nanomateriales de ingeniería en asistencia de un proceso de fitorremediación de relaves mineros utilizando especies de plantas nativas de Chile.

1.1.2 Objetivos Específicos

Los objetivos específicos se definieron con la finalidad de lograr el objetivo general de este proyecto de memoria:

- Hacer una revisión bibliográfica con el fin de estudiar y analizar exhaustivamente el estado del arte relacionado al uso de nanomateriales de ingeniería en procesos de fitorremediación.
- Seleccionar en función del estado del arte, el tipo de nanomaterial de ingeniería y enmiendas a emplear en una propuesta de proceso de fitorremediación.
- Proponer una alternativa de fitorremediación para suelos contaminados con metales pesados, principalmente con plomo (Pb) y cromo (Cr) con la asistencia de nanomateriales de ingeniería y enmiendas orgánicas.
- Evaluar técnica y económicamente, a escala de laboratorio, el proceso de fitorremediación propuesto y tener un primer acercamiento a los costos asociados para un posible escalamiento.
- Promover la investigación e implementación de nuevas tecnologías y/o técnicas híbridas de fitorremediación.

CAPÍTULO II

2. ANTECEDENTES

2.1 Problemática

Antes de la entrada en vigor de la ley N° 19.300 de Bases Generales del Medio Ambiente (LBGMA, 1994) [8], el decreto D.S N° 86 (1970) del Ministerio de Minería [9] era el único que establecía reglas en materia de relaves, respecto a su construcción y operación, pero no constituía nada sobre la etapa posterior a la operación de un proyecto minero, por lo tanto, sus dueños no tenían ninguna obligación legal de implementar medidas de cierre, provocando que muchas faenas y sus depósitos quedaran abandonados. Afortunadamente, con su promulgación en el año 1994, que estableció la creación del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA) y su respectivo reglamento, los proyectos mineros debieron predecir y evaluar sus impactos en el medio ambiente. Aún más, en el año 2010 se promulga la Ley N° 20.417 [10], que modifica la LBGMA y que introduce al ordenamiento jurídico, nuevas competencias legales como el Ministerio de Medio Ambiente (MMA), el Servicio de Evaluación Ambiental (SEA) y la Superintendencia de Medio Ambiente, que vienen a establecer en un nuevo ámbito el contenido de la garantía constitucional de vivir en un ambiente libre de contaminación.

Recién, a partir del 2004 por disposición del D.S N° 132 del Ministerio de Minería [11], que establece el reglamento de seguridad minera, cuyo propósito es proteger la vida e integridad de las personas que se desempeñan en la industria minera, y de las instalaciones e infraestructura, es que en su título X incorpora normas sobre cierre de faenas, obligando por primera vez a las compañías mineras, a ejecutar un plan de cierre al término de su fase productiva, incluyendo el cierre de depósitos de relaves.

Actualmente, estos proyectos además deben regirse por el D.S. N° 248 del Ministerio de Minería (2007) [12], el cual establece el reglamento para la aprobación de proyectos de diseño, construcción, operación y cierre de los depósitos de relaves de la gran, mediana y pequeña minería chilena, derogando el anterior D.S N°86, fijando nuevas reglas y exigencias con el objetivo final de garantizar la seguridad de las personas y el medio ambiente. Del mismo modo, se deben tener en consideración otras disposiciones vigentes, las cuales incluyen contar con la aprobación del SEA mediante la Declaración de Impacto Ambiental (DIA) o del Estudio de Impacto Ambiental (EIA) según lo establecido en el art. 11 de la LBGMA entregando una descripción detallada de las actividades susceptibles de causar impacto ambiental, vida útil del proyecto y medidas que serán implementadas en cada una de las etapas del proyecto [13].

Por último, se promulga en 2012 la Ley N° 20.551 del Ministerio de Minería [14] que regula el Cierre de Faenas e Instalaciones Mineras, con el objetivo de prevenir la generación de nuevos pasivos ambientales y mitigar los efectos negativos de la industria minera. Si una empresa quiere dejar de operar su faena, debe presentar un plan de cierre y un análisis de riesgos del comportamiento de las instalaciones a largo plazo, estableciendo las medidas que serán implementadas para asegurar la estabilidad física y química de las obras remanentes y presentando las garantías financieras que aseguren la disponibilidad de recursos para garantizar el cierre de una faena minera al final de su vida útil.

Si bien, este problema ha sido solucionado para aquellas faenas en operación, aún existen las que cesaron su actividad con anterioridad a la implementación de esta normativa y no han tenido un cierre adecuado, siendo lo más preocupante y riesgoso, el caso de los depósitos de relaves abandonados puesto que contienen contaminantes, que sobre ciertas concentraciones pueden ser considerados tóxicos, y por cualquier causa reaccionan con agua y oxígeno, se solubilizan y movilizan a otros compartimientos ambientales. A lo anterior, se suma una constante baja en las leyes de los minerales, lo que obliga a procesar una mayor cantidad de roca para lograr igual producción y, como consecuencia de ello, un incremento en la generación de relaves. Finalmente, se añade la necesidad de avanzar a una mejor convivencia con la industria agrícola y las comunidades.

En el marco de lo anterior, en el año 2019 se impulsó un Plan Nacional de Depósitos de Relaves, el cual busca establecer directrices, programas y herramientas que, por una parte, aborden las problemáticas del pasado, como es el caso de las faenas y depósitos abandonados, pero también abarque los nuevos desafíos de la minería, avanzando a una industria más segura y sostenible ambientalmente. Para alcanzar este objetivo, la política descansa en tres pilares: seguridad de la población, medio ambiente, y economía circular e innovación.

Pese a los esfuerzos de los últimos años, la política nacional de relaves no aborda de manera suficiente la remediación de estos pasivos ambientales ni presenta proyectos específicos para la rehabilitación de sitios contaminados con metales pesados, que en ocasiones se encuentran cercanos a sectores poblados y los municipios no tienen los recursos necesarios para hacerse cargo de ellos.

En este contexto, se busca contribuir a la recuperación del medio ambiente utilizando nuevas tecnologías amigables y económicas que puedan dar solución y permitir una minería sostenible o "*minería verde"* que garantice a las futuras generaciones la capacidad de satisfacer sus propias necesidades, aportando significativamente al crecimiento económico y al desarrollo social con el menor impacto medioambiental posible, y legando una herencia positiva a las comunidades, lugares, países y territorios en los que opera después del cese de la minería activa, habiendo ejecutado un cierre responsable, dejando a cambio otros bienes perdurables de valor, en lo posible, equivalente a los extraídos [15].

2.2 Marco Teórico

2.2.1 Contaminación del suelo

El término "contaminación del suelo" hace referencia a una alteración del suelo por la presencia de elementos o sustancias químicas que en concentraciones más alta de las permitidas provocan efectos adversos sobre el medio ambiente y los organismos vivos, generando afectaciones en la biota edáfica, las plantas, la vida animal y la salud humana [16].

En la actualidad, el suelo sufre una degradación acelerada en consecuencia de diversas actividades antropogénicas y el desconocimiento sobre su importante papel ambiental, así también con sus límites y técnicas apropiadas para su máximo aprovechamiento, puesto que

se trata de un recurso finito no renovable, lo que implica que su pérdida es irreversible en el curso de una vida humana.

2.2.2 Pasivos ambientales mineros (PAM)

El concepto de *Pasivos Ambientales Mineros* (PAM) tiene relación con las externalidades negativas generadas por las operaciones mineras abandonadas con o sin dueño u operador identificable, y en donde no se haya producido un cierre regulado de la instalación, considerando la certificación correspondiente de la autoridad. Esta denominación alberga los impactos que pueden causar los residuos (líquidos, sólidos y gaseosos), producto de las diferentes etapas del proceso productivo minero sin una gestión ambiental óptima.

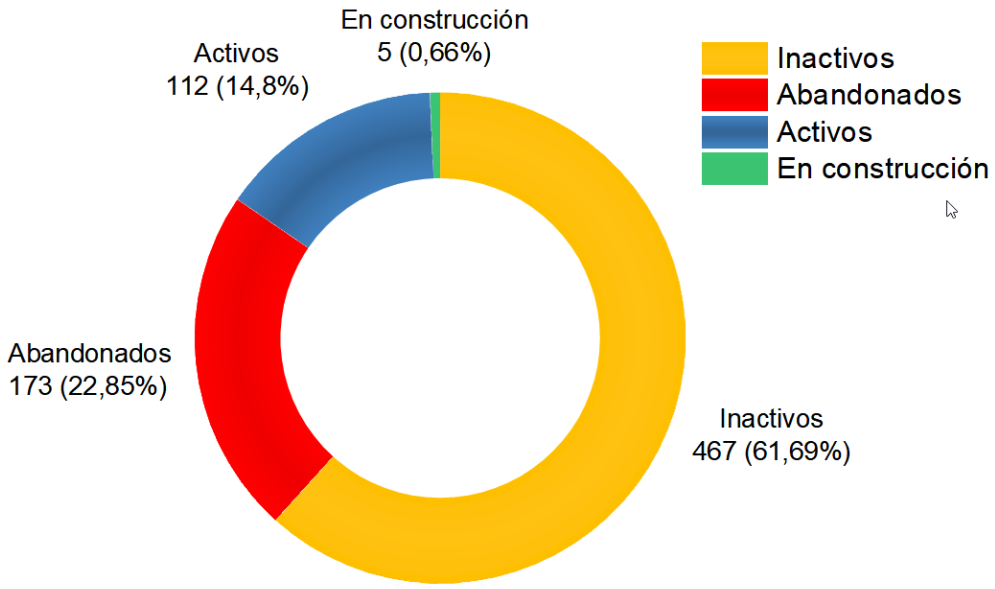
Si bien la terminología posee diversas connotaciones, de acuerdo al marco legal establecido en cada país, en Chile según el "Anteproyecto de Ley sobre la Remediación de Pasivos Ambientales Mineros", elaborado en el proyecto de cooperación "Bases para la Remediación de Pasivos Ambientales Mineros" por el Instituto Federal de Geociencias y Recursos Naturales de la república federal de Alemania (BGR) y Servicio Nacional de Geología y Minería de Chile (SERNAGEOMIN) en el año 2005 [2], se "define" que un Pasivo Ambiental Minero es "*aquella faena minera abandonada o paralizada, incluyendo sus residuos, que constituye un riesgo significativo para la vida o salud de las personas o para el medio ambiente"*, a diferencia de otros países que los consideran como riesgos permanentes o potenciales [17]. Luego, la definición se apoya en el D.S N° 41 (2012) [18], en donde se considera que "*una faena minera abandonada corresponde a toda faena que haya cesado las operaciones sin cumplir con las obligaciones que le impone la Ley de Cierre y su Reglamento o que, habiendo finalizado el plazo de paralización autorizado, no haya reiniciado sus operaciones*". Asimismo, el mismo reglamento define que "*se entenderá por riesgo significativo aquel que revista importancia en atención a la probabilidad de ocurrencia de un hecho y la severidad de sus consecuencias, conforme la metodología de evaluación de riesgos utilizada por la empresa, referidas a la estabilidad física y química de la faena minera, en orden a otorgar el debido resguardo a la vida, salud, seguridad de las personas y medio ambiente*" [19, 20].

2.2.3 Relaves

De acuerdo con lo que establece el D.S. N° 248 (2007) [12], los relaves mineros son "*una suspensión de sólidos en líquidos, formando una pulpa, que se generan y desechan en las plantas de concentración húmedas de especies minerales que han experimentado una o varias etapas de molienda fina. El vocablo se aplicará, también, a la fracción sólida de la pulpa que se ha descrito precedentemente".* Asimismo, el decreto establece en su artículo 5 letra k) que los depósitos de relaves son "*todas aquellas obras estructuradas en forma segura para contener los relaves provenientes de una planta de concentración húmeda de especies minerales. Su función principal es la de servir como depósito, generalmente, definitivo de los materiales sólidos provenientes del relave transportado desde la planta, permitiendo así la recuperación, en gran medida, del agua que transporta dichos sólidos*".

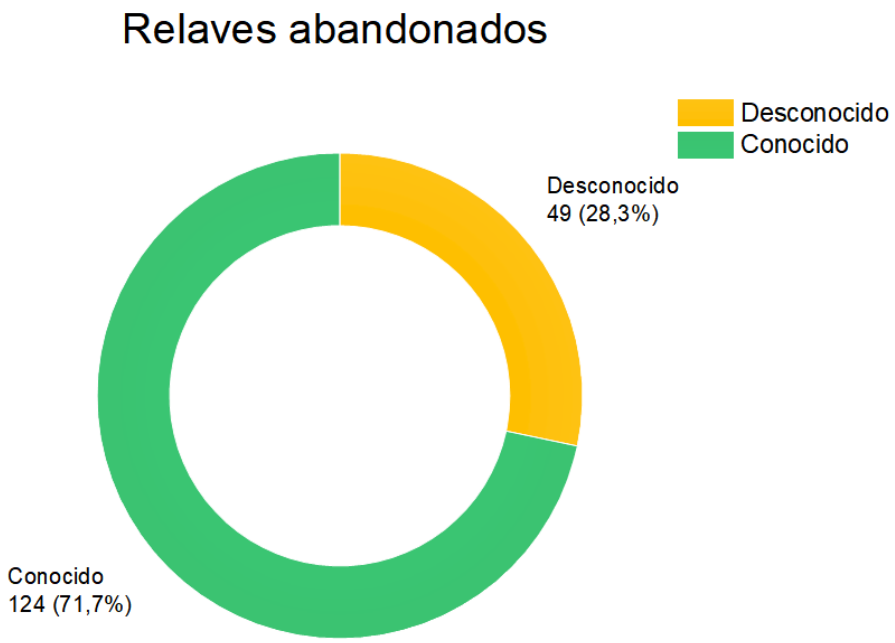
Según lo anterior, vale decir, que los relaves son un tipo de desecho minero que consiste en una mezcla residual de minerales, agua y otros productos químicos, en forma de suspensión, derivados del proceso metalúrgico-extractivo de sulfuros. Estos residuos son transportados y acopiados en depósitos de relaves (DR). La composición mineralógica de los relaves es variable, y depende fundamentalmente del tipo de depósito mineral que se esté explotando y del proceso metalúrgico empleado. Dentro de los pasivos ambientales más relevantes, se encuentran los DR, debido a su gran tamaño y los riesgos que suponen. Éstos representan entre un 60-80% de los PAM de una faena minera [21].

Desde el año 2007 y en el marco del Proyecto FOCIGAM (*Fortalecimiento de la capacidad institucional en la gestión ambiental minera*), el SERNAGEOMIN ha realizado catastros de depósitos de relaves en el territorio nacional, clasificándolos en activos, inactivos, abandonados o paralizados. Según el último registro, correspondiente al año 2020, se han identificado un total de 757 depósitos, de los cuales 112 se encuentran activos, 467 inactivos, 173 en calidad de abandonados y 5 en proceso de construcción, donde los inactivos y abandonados representan un 85% [22]. Los depósitos se encuentran distribuidos entre las regiones de Tarapacá y Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo. La mayor concentración de estos se ubica entre la región de Atacama (22%) y la región de Coquimbo (51%). Los datos anteriores se representan gráficamente a continuación:



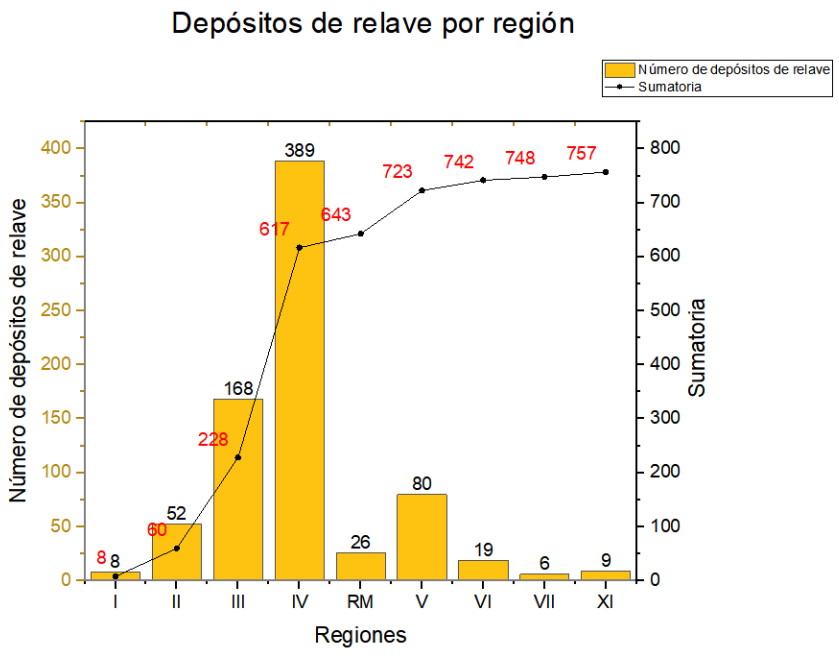
Gráfica 1: Catastro de los depósitos de relaves en Chile.

Fuente: Elaborado a partir de Catastro de Depósito de Relaves SERNAGEOMIN, 2020 [22].



Gráfica 2: Estado de los depósitos de relaves abandonados en Chile según dueño.

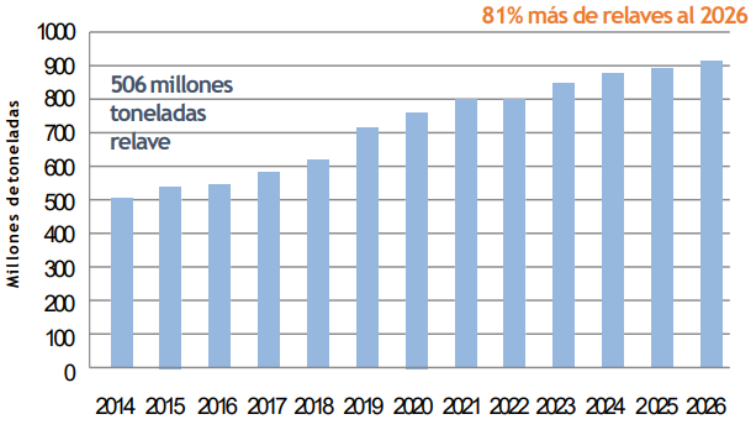
Fuente: Elaborado a partir de Catastro de Depósito de Relaves SERNAGEOMIN, 2020 [22]



Gráfica 3: Distribución de depósitos de relaves según región.

Fuente: Elaboración a partir de Catastro de Depósito de Relaves SERNAGEOMIN, 2020 [22].

Sobre la base de información entregada por las empresas mineras que registran la operación de los depósitos activos, en Chile para el año 2016 se depositaban cerca de 537 millones de toneladas anuales de relaves, con una proyección de 800 millones de toneladas para el 2022 como se puede observar en la gráfica 4, que presenta un plano de proyección hasta el año 2026 [23]. Además, el Plan Nacional de Depósitos de Relaves para una Minería Sostenible reporta que para el año 2019 se acumula un total de casi 6.500 millones de metros cúbicos de relaves activos [24].



Gráfica 4: Proyección de volúmenes de relaves producto del proceso de concentrado de cobre 2014-2026.

Fuente: Extraído de COCHILCO [23].

Los riesgos asociados a los DR según el SERNAGEOMIN, se relacionan principalmente con tres variables específicas: (i) riesgos asociados a la inestabilidad física, que corresponde a fallas en el muro, talud del depósito o colapso al cual puede estar expuesto el relave; (ii) riesgos asociados al ambiente como la inestabilidad química, como el drenaje de ácido al que pueden estar expuestos los acuíferos, napas subterráneas y cursos de agua colindantes o contaminación por metales pesados; y (iii) el impacto visual en el paisaje que generan este tipo de depósitos utilizando grandes espacios de terreno causando rechazo en la comunidad, considerando que este punto no constituye un peligro propiamente. Generalmente los DR presentan nula o escasa cobertura vegetal y un sustrato de sedimentos de composición muy homogéneo y nada rugoso, por lo que son altamente susceptibles a la erosión del viento, favoreciendo la contaminación del aire y del agua con dispersión de material particulado [20, 24].

2.2.4 Metales pesados

Entre los principales elementos presentes en los relaves se encuentran diversos metales tales como: cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), mercurio (Hg) y plomo (Pb), entre otros. Los metales pesados, hacen referencia a cualquier elemento químico metálico que tenga una densidad relativamente alta (>4,5 g/cm^3) cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 y que pueden causar problemas de toxicidad incluso a bajas concentraciones. Otros no metales (o metaloides) que con frecuencia se consideran con los metales pesados son el arsénico (As), antimonio (Sb) y el selenio (Se) [16].

A su vez, se pueden clasificar en los de tipo esenciales y no esenciales, siendo los primeros un tipo de elemento metálico que en pequeñas dosis desempeñan funciones fisiológicas en los organismos, considerando entre estos, Cu, Zn y Cr, y que en concentraciones mayores (superando ciertos umbrales) pasan a ser tóxicos. Por otro lado, los no esenciales están constituidos por los metales que no cumplen funciones fisiológicas conocidas, pero sí una clara toxicidad; entre ellos se encuentran el As, Cd, Hg y Pb.

Los metales pesados pueden presentarse en el suelo bajo diferentes formas: solubles en la solución-suelo, como iones intercambiables de los coloides que integran el complejo de cambio, formando complejos con la materia orgánica, adsorbidos en los óxidos e hidróxidos

de Fe, Mn y Al, sulfuros y fosfatos y como constituyentes de los minerales del suelo [25]. A su vez, dichas formas de retención representan diferentes grados de disponibilidad para los organismos, la vegetación, etc. La disponibilidad de los metales en el suelo depende de diversos factores como el pH, la capacidad de intercambio de cationes, el potencial redox, la especiación química de los elementos metálicos, entre otros.

Las especiaciones de los metales pesados permiten clasificarlos generalmente en cuatro formas. La fracción soluble en ácido está compuesta por las especies de metales más móviles, los que se caracterizan por tener la mayor toxicidad y biodisponibilidad (que se refiere a si los metales están en una especiación en la cual puedan ser captados -ingeridos o absorbidos- por un organismo presente en el ambiente). La fracción reducible y oxidable podría transformarse a una forma más fácilmente disponible cuando el potencial redox cambia, lo que implica una potencial toxicidad de estas formas. La fracción residual (es decir, los metales en minerales primarios y secundarios) de los metales es bastante más estable que las otras [26].

El riesgo para la salud humana y los ecosistemas depende de la solubilidad y la biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo, por ende, la inmovilización química de estos contaminantes reduciría el riesgo ecológico. Por su parte, los efectos en la salud por la exposición a cualquiera de estas sustancias dependen del tipo, la concentración de la sustancia y la cantidad del tiempo [27]. Los factores adicionales que deben ser considerados son la edad, el género, la dieta, las características familiares, el estilo de vida y las condiciones previas de salud.

En este caso de estudio, los depósitos de relaves son fuentes de preocupación ambiental dado que contienen sustancias que en presencia de agua o en condiciones oxidantes pueden ser liberadas en solución, como los metales tóxicos contenidos en los sólidos de éstos. Al liberarse como iones se pueden difundir causando la contaminación de aguas subterráneas y superficiales, o dispersarse hacia los alrededores por acción de agentes climáticos, pudiendo expandir así el rango de afectación. Cabe destacar que, pese a sus características, los relaves no son considerados como residuos sólidos peligrosos [28].

2.2.5 Técnicas de remediación de suelos contaminados

En términos generales, las tecnologías de remediación de suelos abarcan todas aquellas operaciones que tienen por objetivo reducir la toxicidad, movilidad o concentración del contaminante presente en el medio, mediante la alteración de la composición de la sustancia peligrosa o del medio, a través de acciones químicas, físicas o biológicas. Actualmente se dispone de un amplio abanico de tecnologías de remediación de sitios contaminados, algunas de aplicación habitual y otras aún en fase experimental, diseñadas para aislar o destruir las sustancias contaminantes. La elección de cada tecnología depende de las características del suelo y del contaminante, de la eficacia esperada, y por supuesto, de la factibilidad técnico-económica y el tiempo requerido para su ejecución.

Las tecnologías de remediación normalmente pueden agruparse en función de sus características de operación o finalidad, según los siguientes criterios: (i) objetivo de la remediación, (ii) lugar en que se aplica el proceso de remediación y (iii) tipo de tratamiento utilizado. Además de los criterios anteriores, también pueden clasificarse en base al grado de desarrollo técnico en el que se encuentran.

En particular, según el objetivo de la remediación se pueden distinguir tres técnicas: La técnica de descontaminación hace referencia a la eliminación o disminución de las concentraciones de los contaminantes, la contención se refiere al aislamiento de los contaminantes del medio, sin actuar sobre él, y la técnica de confinamiento altera las características fisicoquímicas del suelo para reducir la movilidad de los contaminantes. En función del tipo tratamiento que se aplique se pueden clasificar en los tratamientos biológicos, enfocados en la degradación, transformación y/o remoción de contaminantes mediante actividad metabólica natural de ciertos organismos, los tratamientos fisicoquímicos, que logran separar, contener y/o destruir los contaminantes aprovechando sus características físicas o las del medio, y los tratamientos térmicos, que utilizan altas temperaturas para descomponer, volatilizar o fundir contaminantes. Según el lugar de aplicación del proceso de remediación, se habla de tratamientos *in situ*, cuando las tareas de remediación se realizan directamente en el sitio contaminado, y de tratamientos *ex situ*, cuando se requiere de la extracción del medio contaminado para su tratamiento posterior, ya sea en el mismo lugar (*on site*) o en instalaciones externas (*off site*). Finalmente, según su

grado de desarrollo, son clasificadas como tecnologías tradicionales aquellas utilizadas comúnmente a gran escala, de probada efectividad y cuya información acerca de costos y eficiencia es de fácil acceso. Aquellas tecnologías propuestas más recientemente y que se encuentran en etapas de investigación y/o desarrollo son clasificadas como tecnologías innovadoras y la información en cuanto a su aplicación, costos y efectividad es aún limitada.

El esquema presentado en la figura 1 presenta los distintos criterios expuestos para la clasificación de tecnologías de remediación de suelos contaminados.

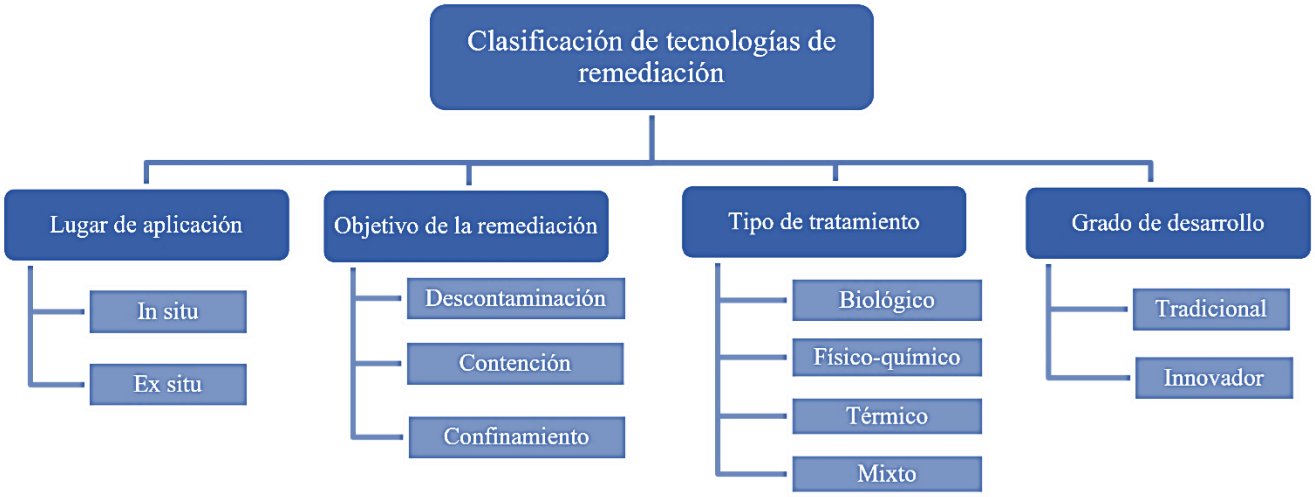


Figura 1: Esquema de criterios para la clasificación de tecnología de remediación de suelos.

Fuente: Extraído de Fundación Chile, 2015 [29].

2.2.5.1 Técnicas de remediación de suelos contaminados con metales pesados

A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no pueden descomponerse o degradarse por vía biológica, física ni química de manera natural, por lo que la remediación de sitios contaminados con metales o metaloides se limita a la alteración de su solubilidad, movilidad y/o toxicidad, básicamente a través de cambios en su estado de valencia, favoreciendo su inmovilización (quelación: formación de complejos con iones de metales pesados) y/o movilización (disolución) [30].

En la tabla 1, se presenta un listado con los principales tratamientos para la remediación de suelos contaminados por metales pesados. Actualmente, se está dando preferencia al estudio

de los métodos in situ, que son menos perjudiciales para el medio ambiente y más económicos de aplicar. Por otra parte, no es recomendable el tratamiento ex situ para relaves mineros, ya que el traslado de grandes volúmenes de residuos encarece el tratamiento.

Tabla 1: Principales tecnologías para remediación de suelos contaminados con metales pesados.

Fuente: Extraído de Fundación Chile, 2015 [29].

Objetivo	Tipo de tratamiento	Tratamiento	Aplicación
Confinamiento	Fisicoquímico	Estabilización fisicoquímica	Ex situ
		Inyección de solidificantes	Ex situ – In situ
	Térmico	Vitrificación	Ex situ – In situ
Contención	Fisicoquímico	Barreras verticales	In situ
		Barreras horizontales	In situ
		Barreras de suelo seco	In situ
		Sellado profundo	In situ
		Barreras hidráulicas|	In situ
Descontaminación	Fisicoquímico	Extracción	In situ
		Lavado	Ex situ
		Flushing	In situ
		Electrocinética	In situ
		Adición de enmiendas	In situ
		Barreras permeables activas	In situ
	Térmico	Incineración	Ex situ
		Desorción térmica	Ex situ
	Biológico	Biotransformación de metales	In situ
		Landfarming	Ex situ
		Biopilas	Ex situ
		Compostaje	Ex situ
		Fitorremediación: - Fitoextracción - Fitoestabilización	In situ

A pesar de que los tratamientos fisicoquímicos y los térmicos tradicionales tanto ex situ como in situ presentan ventajas por sobre los biológicos en cuanto a la eficiencia y tiempo de remediación, generalmente son más costosos, ya que su valor aumenta en función del uso de energía y equipamiento y limita su aplicación a grandes áreas, alteran las características del suelo restringiendo su uso posterior y generan subproductos perjudiciales para el medio ambiente.

A partir de las estrategias de remediación expuestas y los lineamientos del proyecto señalados en el objetivo del estudio, se ahondará en la tecnología de fitorremediación, puesto que en comparación con las otras técnicas esta no impacta en gran medida al medio ambiente, promueve el restablecimiento de las propriedades fisicoquímicas del suelo, el crecimiento de plantas y la reducción de toxicidad de los contaminantes, es económica y aplicable a grandes áreas contaminadas. Sus principales fundamentos teóricos se describen a continuación:

2.2.6 Fitorremediación

La palabra "fitorremediación" deriva del griego "*phyton*", que significa "planta", y del latín "*remedium*", que significa "remediar" o "corregir". La fitorremediación puede entenderse como el uso de plantas (árboles, arbustos, hierbas y plantas acuáticas), microorganismos asociados, enmiendas de suelos y técnicas agronómicas convencionales para eliminar, degradar o aislar sustancias tóxicas del medio ambiente.

Entre las sustancias que pueden ser objeto de fitorremediación se encuentran los metales (Pb, Zn, Cr, Cd, Cu, Ni, Hg), metaloides (As, Sb), compuestos inorgánicos (NO_3^- NH_4^+, PO_4^{3-}), elementos químicos radiactivos (U, Cs, Sr), hidrocarburos de petróleo, plaguicidas y herbicidas (atrazina, bentazona, compuestos clorados y nitroaromáticos), explosivos (TNT, DNT), disolventes clorados (TCE, PCE) y residuos orgánicos industriales (PCP, HAP), entre otros [31].

Actualmente, la fitorremediación se considera como una alternativa eco-sustentable para el tratamiento in situ de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos (EPT) [32]. Esta es una tecnología amigable con el ambiente, no invasiva, de fácil operación y permite recuperar la estructura y la función del suelo. Su aplicación entrega una especie de cobertura “verde”, lo que la hace agradable estéticamente y aceptable desde el punto de vista visual. Se estima que su costo es de 10 a 100 veces más barato en comparación con los métodos físicos y químicos que se usan tradicionalmente, cuyos costos varían entre 0,27 y 1,6 millones de dólares por hectárea [32]. A modo de referencia, la fitorremediación de un suelo contaminado con Pb (50 cm de profundidad) puede costar entre 24.000 y 40.000 USD/ha [29].

2.2.6.1 Tipos de fitorremediación

Las técnicas de fitorremediación se clasifican dependiendo de la naturaleza química y las propiedades del contaminante (si es inerte, volátil o está sujeto a degradación en la planta o en el suelo), y de las características de la planta. Así, la fitorremediación comprende esencialmente seis estrategias diferentes, las cuales se pueden ver representadas en la figura 2, aunque la planta puede utilizar más de una simultáneamente. A continuación, se entrega una descripción de cada técnica:

1. **Fitodegradación** (fitotransformación): Los contaminantes orgánicos son degradados o mineralizados en el interior de las células vegetales a través de procesos metabólicos por enzimas específicas que incluyen nitrorreductasas (degradación de compuestos nitroaromáticos), deshalogenasas (degradación de disolventes clorados y pesticidas) y lacasas (degradación de anilinas). Los contaminantes se descomponen en moléculas simples que pueden incorporarse a los tejidos vegetales. Se utiliza principalmente para compuestos orgánicos, como disolventes clorados, herbicidas, insecticidas, municiones (TNT) y fenoles, e inorgánicos como el nitrato.

2. **Fitovolatilización:** Esta técnica se basa en la capacidad de algunas plantas para absorber y volatilizar determinados metales/metaloides. Estos son absorbidos por las raíces, convertidos en formas no tóxicas y luego liberados a la atmósfera a través de sus hojas u otras partes de la planta mediante la transpiración. Puede ser aplicada para la remoción de contaminantes orgánicos como solventes clorados e inorgánicos como Hg, Se y As.

3. **Fitoestabilización** (fitoinmovilización): Es la inmovilización in situ de los contaminantes en la zona de la raíz de la planta, a través de la absorción y acumulación de contaminantes en las raíces; la adsorción en las raíces o la precipitación (o complejación) en la zona de rizosfera como formas insolubles por acción directa de los exudados de las raíces y atrapados en la matriz del suelo. El objetivo principal es evitar la movilización de los contaminantes y limitar su difusión en el suelo, además evita que se dispersen por el viento, agua y suelo, impidiendo la lixiviación y la erosión. Esta técnica es eficaz para el tratamiento de suelos contaminados con metales pesados.

4. **Fitoextracción** (fitoacumulación, fitoabsorción): Consiste en la absorción de los contaminantes por las raíces, seguida de su translocación y acumulación en las partes aéreas (brotes u hojas). Esta técnica utiliza preferentemente plantas hiperacumuladoras y es la más eficaz y reconocida para reducir la contaminación del suelo. Los contaminantes son eliminados generalmente por la cosecha y recolección de las plantas, sin ningún efecto adverso sobre las propiedades del sitio contaminado. Se aplica principalmente para remover Cr, Cd, Ni, Cu, Zn y Pb pudiéndose emplear también para la remoción de Se y As junto con compuestos orgánicos.

5. **Rizodegradación** (fitoestimulación): Las raíces utilizan los exudados y los metabolitos de las plantas como fuente de carbono y energía para la proliferación de microorganismos encargados de la degradación de contaminantes de la rizosfera. La aplicación de la fitoestimulación se limita a los contaminantes orgánicos como: TPH (hidrocarburos de petróleo), HAP (hidrocarburos aromáticos policíclicos), BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos), disolvente clorados y PCP (pentaclorofenol).

6. **Rizofiltración**: Utiliza las plantas para absorber, concentrar y/o precipitar los contaminantes, especialmente metales pesados o elementos radiactivos, de un medio acuoso a través de su sistema de raíces u otros órganos sumergidos. Las plantas se mantienen en un sistema hidropónico en humedales, por el que los efluentes pasan y son "filtrados" por las raíces. Se ha observado que las plantas con alta biomasa radicular o alta superficie de absorción, con mayor capacidad de acumulación y tolerancia a los contaminantes solubles son las que mejores resultados obtienen.

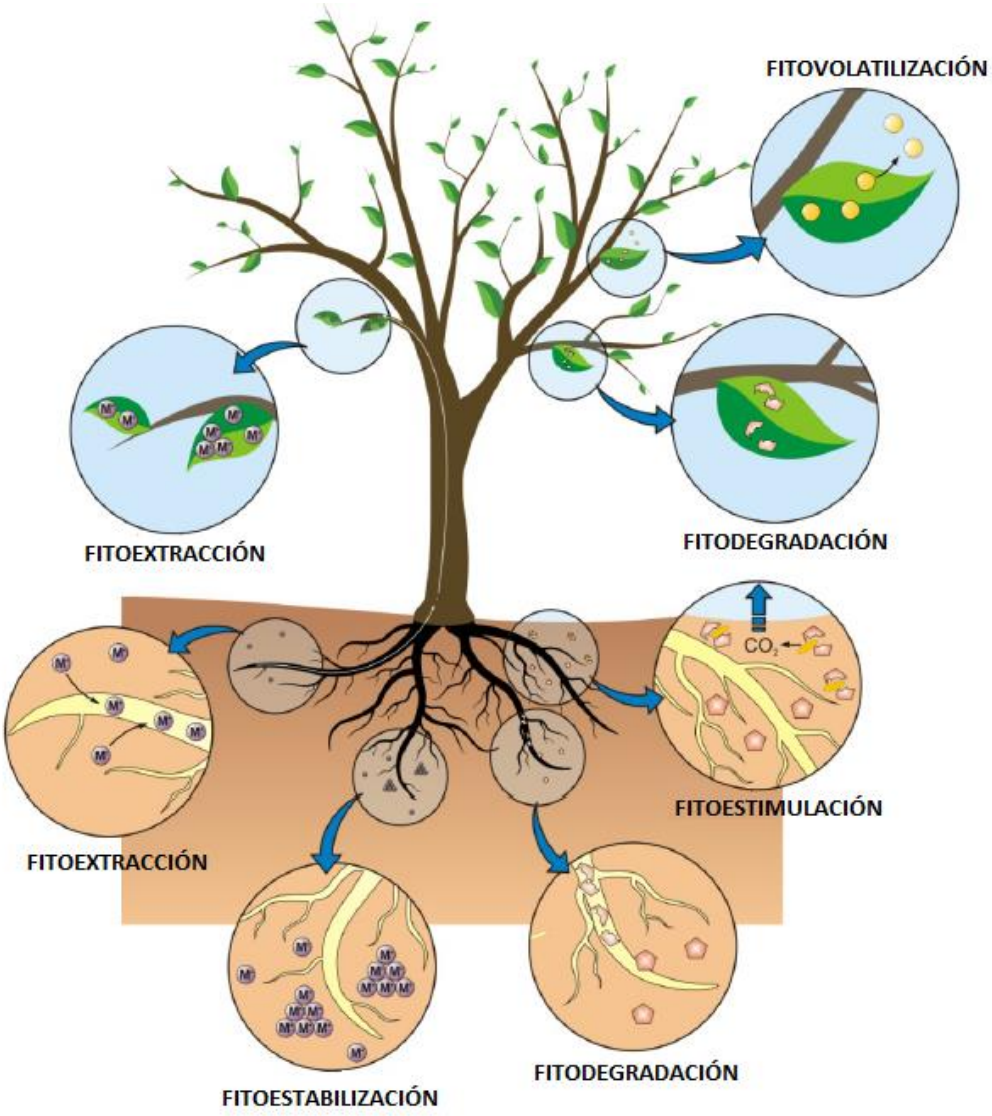


Figura 2: Esquema representativo de estrategias de fitorremediación.

Fuente: Adaptación de [31].

2.2.6.2 Plantas hiperacumuladoras

Las plantas que crecen en suelos metalíferos han desarrollado durante la evolución mecanismos fisiológicos para evitar la toxicidad por los metales. Algunas controlan la entrada del metal en la raíz y su transporte a la parte aérea, y otras han desarrollado mecanismos para evitar el efecto nocivo de los iones en las células de las hojas. De acuerdo con estas características, las plantas se han clasificado en: exclusoras, indicadoras y acumuladoras de metales, como se muestra en la figura 3 [33, 34].

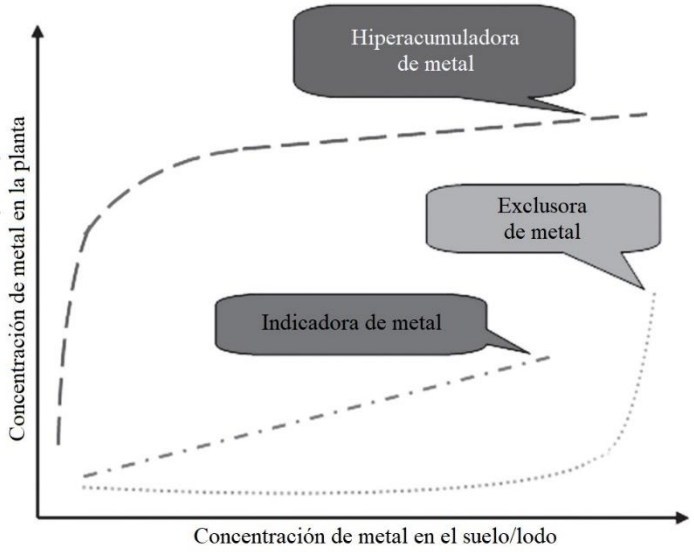


Figura 3:Relación entre la concentración de metales en plantas y suelo

Fuente: Adaptación de [35].

Las exclusoras de metales son plantas que limitan eficazmente los niveles de translocación de metales desde la raíz a la parte aérea, de forma que los niveles son relativamente bajos en sus brotes y hojas en una amplia gama de niveles de concentración de contaminantes en el suelo.

Las plantas indicadoras de metales son plantas que acumulan metales pesados en sus tejidos aéreos y raíces, y dichos niveles suelen reflejar los niveles de metales en el suelo. Sin embargo, si se produce una absorción continuada de metales pesados, los efectos de la toxicidad se hacen visibles. La absorción y el transporte de los metales se regulan de tal manera que la relación entre la concentración de metales en la planta y la del suelo se aproxima a 1.

Las acumuladoras de metales son plantas que pueden absorber altos niveles de contaminantes concentrados en sus raíces, brotes y/u hojas, con valores muy superiores a los presentes en el suelo o en comparación con especies no acumuladoras que crecen en las proximidades sin la presencia de síntomas o limitación alguna para su crecimiento, desarrollo y reproducción.

Estas plantas se distinguen por tener tres características: (i) la mayor parte de los metales pesados absorbidos por las plantas se distribuyen en la parte aérea; (ii) la concentración de algún elemento en el organismo es superior a un determinado valor crítico y (iii) el

crecimiento de las plantas no muestra signos evidentes de toxicidad. Generalmente, las plantas hiperacumuladoras tienen poca biomasa debido a que utilizan más energía en los mecanismos necesarios para adaptarse a las altas concentraciones en sus tejidos [36].

Como se aprecia en la tabla 2, Brooks y luego otros científicos [37] han sugerido los siguientes valores de concentración de metales en los brotes de las plantas para la hiperacumulación sin síntomas evidentes de toxicidad o al menos en ese orden de magnitud.

Tabla 2: Criterios de clasificación de plantas de acuerdo con su concentración de metales pesados en biomasa aérea.

Fuente: Extraído de [37].

Clasificación	Zn	Cd	Pb	Ni	Cu	Cr
	[mg/kg en materia seca]					
Normal en sitios no contaminados (Alloway, 1995)	1-400	0,1-2,4	0,2-20	0,02-5	4-20	0,03-14
Fitotóxico (Vamerali et al., 2010)	150-200	5-10	10-20	20-30	15-20	1-2
Hiperacumulación (Brooks, 2000)	10.000	100	1.000	1.000	1.000	1.000
Hiperacumulación Nueva Propuesta (van der Ent et al., 2013)	3.000	100	1.000	1.000	300	300

El hiper enriquecimiento de elementos metálicos pesados por parte de las plantas es un fenómeno natural complejo y poco frecuente, resultado de la adaptación y la evolución biológica, en donde algunos metales no esenciales son absorbidos, translocados y acumulados en la planta debido a que presentan un comportamiento electroquímico similar a los elementos nutritivos requeridos.

De acuerdo con la figura 4, se describe de manera simplificada el mecanismo de captación y acumulación de metales por parte de las plantas hiperacumuladoras. En primer lugar, los exudados de las raíces (sustancias orgánicas liberadas por las raíces, que incluyen proteínas, aminoácidos, enzimas y hormonas cuya función es inhibir microbios dañinos, promover el crecimiento de la planta y movilización de iones, entre otras) crean un entorno ácido en la rizosfera, que promueve la disolución de los metales pesados en el suelo. En condiciones de

contaminación por metales pesados, las raíces de los hiperacumuladores pueden segregar más materia orgánica soluble, lo que hace que el valor del pH del suelo de la rizosfera sea más bajo, aumentando la biodisponibilidad de los metales pesados. Al mismo tiempo, algunos exudados radiculares específicos pueden formar complejos con los metales pesados para promover la acumulación. En segundo lugar, las plantas hiperacumuladoras absorben los metales pesados biodisponibles a través de las vías del simplasto (o ruta intracelular, en donde ingresan a la célula vegetal a través de la membrana plasmática de la célula de la raíz) y apoplásticas (o ruta extraceular, en donde no necesitan atravesar la membrana celular y entran directamente desde la punta de la raíz), y luego los transportan a través del sistema vascular o también llamado xilema. Después de que los metales pesados entren en las raíces, son transportados desde las raíces a la parte superior a través del xilema y el floema. En cuarto lugar, después de que los metales pesados se acumulan en las raíces, se transportan a las hojas y los tallos para lograr el enriquecimiento, el aislamiento de los metales pesados se realiza a través de las vacuolas. Los metales pesados se almacenan principalmente en las vacuolas de las hojas, para evitar daños en los procesos fisiológicos importantes de las células [38].

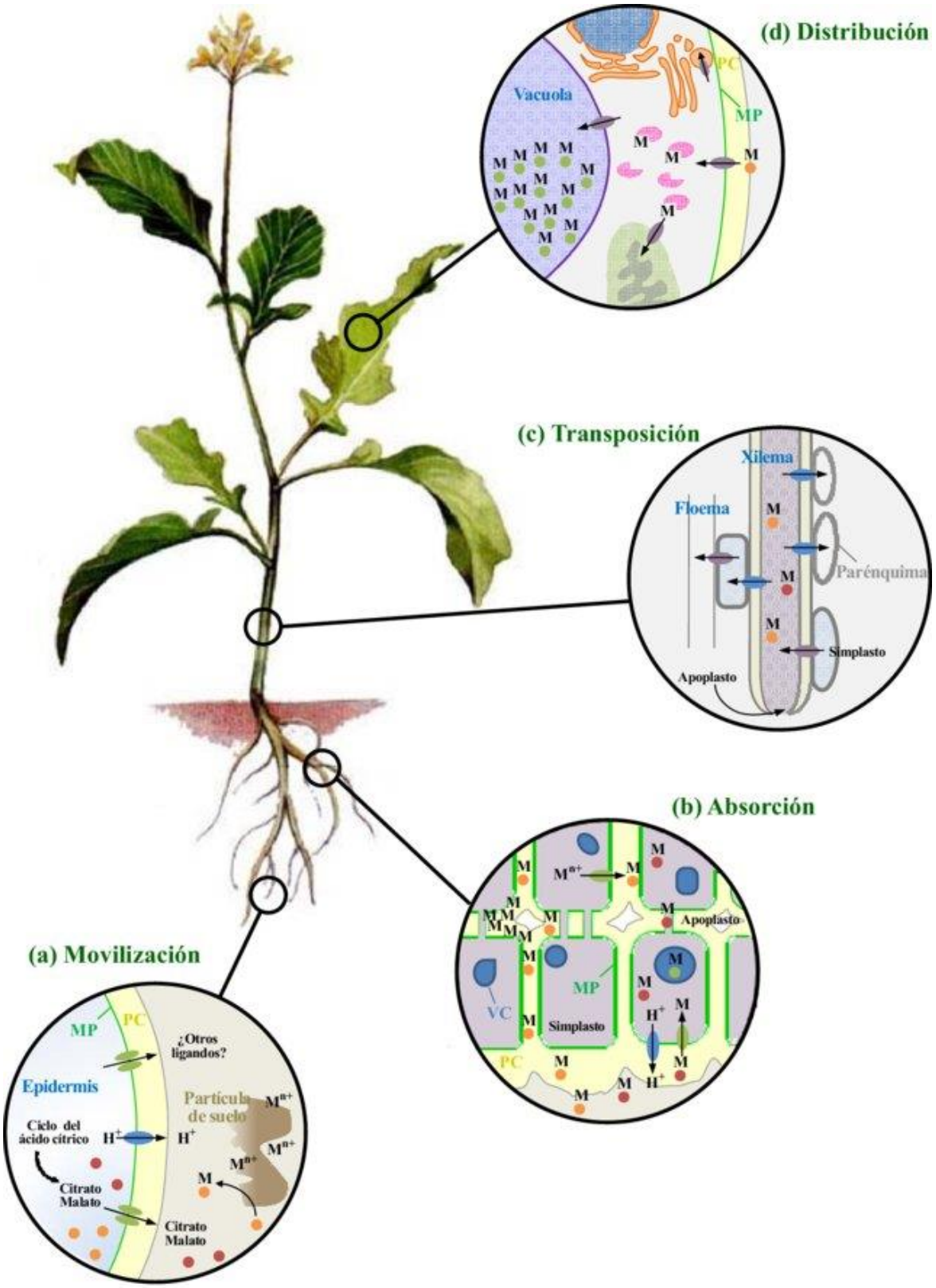


Figura 4: Mecanismos involucrados en la acumulación de metales en plantas.

Fuente: Extraído de [39].

2.2.5.3 Consideraciones en la fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados

La EPA (Environmental Protection Agency: en español, Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos), en su documento "*Introducción a la Fitorremediación"* entrega las bases para desarrollar un sistema de fitorremediación adecuado, poniendo atención principalmente en el tipo de medio contaminado, la concentración y los tipos de contaminantes y el potencial de crecimiento de vegetación en el lugar. Además de planificar los objetivos de remediación deseados, como el destino de los contaminantes y las concentraciones objetivos deseadas [40]. Para lo anterior se deben tener las siguientes consideraciones:

1. *Consideraciones de los medios contaminados:*

La fitorremediación puede utilizarse para aplicaciones in situ o ex situ. Las principales consideraciones para la fitorremediación del suelo son la profundidad y el volumen de la contaminación, y las características que afectan al crecimiento de las plantas, como la textura y el contenido de agua (grado de saturación) y materia orgánica. Además, el suelo contaminado debe estar dentro de la zona de las raíces de las plantas para que la vegetación tenga un impacto directo sobre la contaminación.

La fitorremediación es la técnica más apropiada para grandes áreas de suelo con poca o moderada contaminación, las cuales serían prohibitivamente caras de remediar usando tecnologías convencionales.

2. *Consideraciones sobre los contaminantes:*

Es importante conocer la naturaleza de los contaminantes, por ejemplo, estado de valencia, si es volátil, etc. Las concentraciones de contaminantes no pueden ser fitotóxicas ni causar impactos inaceptables en la salud de las plantas o en el rendimiento.

3. *Consideraciones sobre las plantas:*

La fitorremediación añade un nivel adicional de complejidad al proceso de remediación porque las plantas constituyen un sistema biológico que tiene sus propias características. La finalidad del proceso de selección de plantas es elegir una especie vegetal con características

adecuadas para el crecimiento en las condiciones del lugar y que cumpla con los objetivos de la fitorremediación. Las plantas autóctonas o nativas del lugar a remediar son una buena alternativa, dado que se encuentran adaptadas climatológicamente y no es necesario la introducción de nuevas especies. Por otra parte, las plantas más eficientes para fitorremediar son las llamadas hiperacumuladoras, las cuales pueden tolerar y acumular metales del suelo. También es importante que estas posean un sistema radicular fibroso con numerosas raíces, con el fin de obtener el máximo contacto con el suelo.

Otra consideración importante es la tasa de crecimiento de la planta, que afecta directamente a la tasa de remediación. Pueden ser agrupadas de distintas maneras dependiendo de la técnica de fitorremediación. Por ejemplo, para la rizodegradación, la rizofiltración y la fitoestabilización; es deseable tener plantas de crecimiento rápido en términos de profundidad de las raíces, densidad, volumen, superficie y extensión lateral. Para la fitoextracción, es deseable una rápida tasa de crecimiento de la masa vegetal sobre el suelo.

Es relevante a su vez también estudiar los efectos alelopáticos (inhibición del crecimiento de una especie vegetal debido a la presencia de sustancias químicas producidas por una especie vegetal diferente) para garantizar que una especie no obstaculice el crecimiento de otra.

4. Consideraciones climáticas:

Existen condiciones climáticas que afectan el proceso de fitorremediación. Las más frecuentes son:

- Precipitaciones: La cantidad y la época de las precipitaciones determinarán el momento de la preparación del suelo, de la plantación y la necesidad de riego.
- Temperatura: La media, los extremos y las fluctuaciones de la temperatura del aire afectarán a la capacidad de crecimiento de las plantas.
- La luz solar y radiación: La cantidad de luz solar afecta al crecimiento de las plantas, la temperatura del aire y la evapotranspiración.
- El viento: La cantidad de viento afecta a la evaporación, causa daños a las plantas y dispersa los volátiles y desechos.
- Ubicación: Los patrones meteorológicos regionales y locales podrían afectar.

5. *Consideraciones sobre el agua:*

El drenaje de aguas superficiales y agua de escorrentía afectarán a la estabilidad del suelo, semillas, plantas y el contenido del agua.

Puede que el riego de las plantas sea necesario, por lo que se debe considerar la fuente, disponibilidad, volumen, calidad y el costo del agua para regar.

6. *Consideraciones agronómicas e instalación y mantenimiento del sistema:*

Todos los factores que hay que tener en cuenta en el éxito de la agricultura también deben considerarse durante la fitorremediación.

• Selección previa a la planta:

- El suelo debe tener un rango de pH que permita el crecimiento de las plantas. Puede ser necesario modificar y controlar este parámetro.
- Fertilidad, estructura, salinidad, contenido de nutrientes y contenido de agua del suelo.
- Textura y porosidad del suelo.
- Capacidad de campo (contenido de agua o humedad que es capaz de tener el suelo luego de la saturación).

• Selección posterior a la planta:

- Se debe preparar el suelo, si es necesario se agregan fertilizante o enmiendas de materia orgánica para mejorar la fertilidad y la retención de la humedad del suelo.
- Consideraciones sobre la plantación, como el método y momento de la aplicación de las semillas o plántulas.
- Equipamiento y programación de riego necesario.
- Control de plagas de las plantas (con herbicidas, pesticidas, nutrientes, otros) y animales indeseables (ej: aves, animales de pastoreo, insectos, con la instalación de cercos o redes).
- Control de olores de la planta, del suelo y de los contaminantes en caso de presentar.

7. *Consideraciones de eliminación:*

Dependiendo del tipo de fitorremediación a emplear, se debe determinar el método de recolección de la biomasa contaminada (generalmente mediante técnicas agrícolas convencionales) y la disposición de residuos vegetales, como plantas muertas o enfermas, hojas y ramas caídas o material de poda, etc. De esta forma asegurar un correcto y seguro funcionamiento de la técnica cumpliendo con los requisitos reglamentarios de la manipulación y eliminación de material peligroso y/o tóxico. Existen varios métodos para la eliminación de la biomasa, como la incineración, la gasificación, la pirólisis lenta e instantánea, la hidrólisis, la licuefacción y la tecnología de fitominería que pueden dar un valor agregado.

8. *Otras:*

Hasta el momento se ha observado que las dos técnicas que presentan mejores resultados en la fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados son la fitoextracción y la fitoestabilización.

Las plantas utilizadas en la fitoextracción preferiblemente deben presentar, entre otras, las siguientes características: tolerancia a las altas concentraciones de metales; acumular altas concentraciones en sus tejidos aéreos; crecimiento rápido y alta producción de biomasa; sistema radicular profuso y ramificado**;** fácil de cultivar y cosechar y no consumible por humanos y animales.

Las siguientes características generales de las plantas son óptimas para la técnica de fitoestabilización: raíces de rápido crecimiento; exclusoras (no hay translocación de metales de raíces a brotes de la planta) y capaz de acumular metales en sus raíces.

2.2.5.4 Ventajas y limitaciones

La fitorremediación es una estrategia económica y respetuosa con el medio ambiente, capaz de sustituir a las técnicas convencionales o complementarse con ellas. Presenta varias ventajas respecto a los métodos tradicionales, pero también algunos inconvenientes, que deben tenerse en cuenta a la hora de aplicar esta tecnología. Si bien el bajo costo y su

aplicación a grandes áreas contaminadas destacan entre las virtudes, el tiempo necesario de remediación suele ser largo.

A continuación, la tabla 3 resume y detalla las características de la técnica de fitorremediación en función de sus ventajas y limitaciones:

Tabla 3: Ventajas y limitaciones de la técnica de fitorremediación de suelos contaminados.

Fuente: Adaptación de [41].

Ventajas	Limitaciones
Técnica in situ o ex situ aplicable para amplias áreas contaminadas y contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos.	Solo tiene efecto sobre la contaminación que está dentro de la rizosfera de la planta.
Actúa positivamente sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo. Generalmente, consigue condiciones adecuadas para su uso posterior.	Es un proceso relativamente más lento que las técnicas tradicionales. Podría demorarse meses, años o incluso décadas.
Tiene bajo costo en comparación con los métodos tradicionales. No requiere consumo de energía y es de fácil implementación y mantención puesto que utiliza prácticas agronómicas convencionales.	La eficiencia suele estar limitada por la lenta tasa de crecimiento y la baja biomasa de las plantas acumuladoras, las condiciones climáticas, las propiedades fisicoquímicas del medio y la biodisponibilidad de los metales
Forma una cobertura vegetal contribuyendo a una mejora en la estética del lugar. Tiene gran aceptación pública.	Las plantas son selectivas en la remediación de metales, por lo que su selección no es fácil. Pueden no adaptarse a las condiciones climáticas y ambientales de los sitios contaminados
Reduce la erosión por el viento. La dispersión de material particulado y lixiviación de contaminantes hacia aguas subterráneas.	La contaminación puede propagarse a través de la cadena trófica si las plantas acumuladoras son ingeridas.
Menos perjudicial para el medio ambiente, tiene baja generación de residuos secundarios y emisiones al aire o agua.	Las concentraciones de metales en el suelo pueden ser tóxicas y letales para las plantas.
En la fitoextracción, la biomasa cosechada puede ser económicamente valiosa.	En el caso de la fitovolatilización, los contaminantes acumulados en las hojas pueden ser liberados nuevamente al ambiente. El material vegetal residual de la fitoextracción podría llegar a representar un riesgo ambiental si no es tratado debidamente.

2.2.5.5 Indicadores de fitorremediación

Para analizar el potencial de fitorremediación de una planta se determinan los factores de bioconcentración y translocación, y la eficiencia de remoción. Estos factores permiten concluir si una planta tiene carácter de fitoextractora o fitoestabilizadora [42].

- El factor de bioconcentración (BCF: Bioconcentration Factor) se define como la relación entre la concentración total del metal en el tejido vegetal cosechado (hojas y tallos o raíz) y la concentración inicial del metal en el sustrato. Da información sobre la capacidad de la planta para acumular el elemento objetivo. Se calcula de la siguiente manera [43]:

$$BCF = \frac{Concentración\ del\ metal\ en\ la\ raíz\ o\ parte\ aérea\ de\ la\ planta \left[\frac{mg}{kg}_{masa\ seca\ (MS)}\right]}{Concentración\ inicial\ del\ metal\ en\ el\ sustrato \left[\frac{mg}{kg}_{MS}\right]} \quad (Ec.1)$$

- El factor de translocación (TF: Translocation Factor) definido como la relación entre la concentración total de elementos en las partes aéreas de la planta (tallos-hojas) y la concentración en la raíz. Este permite evaluar la capacidad de la planta para translocar los contaminantes desde las raíces hasta los brotes y hojas. Se calcula según [44]:

$$TF = \frac{Concentración\ del\ metal\ en\ la\ parte\ aérea\ de\ la\ planta \left[\frac{mg}{kg}_{MS}\right]}{Concentración\ del\ metal\ en\ la\ raíz \left[\frac{mg}{kg}_{MS}\right]} \quad (Ec.2)$$

Respecto a los factores, las plantas con valores de BCF > 1 indican que tienen capacidad de acumulación de dicho metal y potencial para ser utilizada en la técnica de fitorremediación. Por otra parte, valores de BFC < 1 indican la capacidad de tolerancia al metal.

Si el valor de TF > 1, el contaminante se almacena principalmente en la parte aérea y no en la raíz; entonces, se trata de una planta *translocadora*. Por el contrario, si el valor de TF < 1, la mayor parte del contaminante se acumula en la raíz y no se transloca hacia la parte aérea, considerándose una planta *exclusora*.

Además, cuando el BCF y el TF son mayores de 1, la planta se clasifica como translocadora y acumuladora o hiperacumuladora, y se recomienda para la técnica de fitoextracción. Si el BCF y TF son menores que 1, la planta es exclusora, vale decir, que no acumula o acumula en muy bajas concentraciones en su parte aérea y su mayor concentración está inmovilizada en la rizosfera o en la raíz misma y se sugiere el uso de la técnica de fitoestabilización.

- El indicador de eficiencia de remoción (RE: Removal Efficiency) permite evaluar el porcentaje de eliminación del metal en el sustrato. Es posible calcularlo según:

$$\%RE = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} * 100 \qquad (Ec. 3)$$

Donde C_i y C_f son las concentraciones inicial y final respectivamente, del metal en el sustrato. Cabe mencionar que todas las concentraciones de metal se definen como [mg/kg de relave o sustrato seco] o [mg/kg de planta en masa seca] según corresponda.

2.3 Nanofitorremediación

Es muy importante recalcar que el objetivo de un proceso de remediación de suelos contaminados no debe ser solamente eliminar el contaminante o, en su defecto, reducir su concentración, sino también recuperar o acercarse al estado óptimo del suelo, entendiéndose como la capacidad que tiene este recurso para realizar sus funciones de forma sostenible, característica que posee la técnica de fitorremediación [45]. A nivel internacional, se siguen desarrollando estrategias e investigaciones en torno al mejoramiento de las técnicas de fitorremediación de metales pesados, que permitan atender los desafíos de la contaminación de suelo existente en la actualidad

En la misma línea, encontramos la tecnología de *nanofitorremediación* para la remediación de suelos contaminados que se basa en la aplicación combinada de nanomateriales (NMs) y la técnica de fitorremediación. Este método adopta las ventajas en conjunto de la nanotecnología y la biorremediación para crear un proceso de remediación más eficiente, más rápido y benigno para el medio ambiente que los métodos individuales [46, 47].

Los nanomateriales son ampliamente utilizados hoy en día en el campo de la cosmética, pinturas, medicinas, textiles, etc., por lo que la integración con la fitorremediación constituye

un paso importante en el progreso de la investigación de la remediación ambiental. De acuerdo con su origen, se identifican tres tipos de nanomateriales: naturales (como el polvo volcánico o lunar, compuestos minerales), incidentales (resultantes de la actividad antropogénica: gases de escape de diésel, combustión de carbón, humos de soldadura) y diseñados con dimensiones a nanoescala. Y a su vez, se pueden agrupar ampliamente según su composición en: orgánicos e inorgánicos. Los nanomateriales orgánicos pueden incluir nanopartículas de carbono o producirse a partir de materia orgánica, mientras que algunas de las nanopartículas inorgánicas pueden incluir nanopartículas magnéticas, nanopartículas de metales (como oro y plata) y nanopartículas semiconductoras (como dióxido de titanio y óxido de zinc) [30].

2.3.1 Nanomateriales de ingeniería (ENMs)

Los nanomateriales de ingeniería (nanopartículas (NP), nanocristales, coloides de metal, nanobarras, dendrímeros y nanocápsulas) se refieren a materiales que tienen al menos una dimensión en el rango de la nano escala (1-100 nm) en un espacio tridimensional o están compuestos por ellos como unidades básicas [48]. Cuando el tamaño de las partículas es del orden de los nanómetros, el efecto cuántico empieza a afectar a las propiedades y la estructura de la sustancia, por lo que presentan características físicas y químicas superiores a las de la forma macroscópica o granel [49]. Tienen la ventaja de poder ser ajustadas según se desee a través del control del tamaño de partícula, la forma, las condiciones de síntesis y la funcionalización adecuada.

Los avances en el campo de la nanotecnología ofrecen oportunidades para el desarrollo de nuevas técnicas de remediación ambiental basadas principalmente en las propiedades que presentan los nanomateriales, tales como una elevada área superficial específica, una alta reactividad, propiedades magnéticas, sensibilidad óptica respecto a cambios en tamaño y forma, etc., ofreciendo mejoras sustanciales en la detección, tratamiento y remediación de contaminantes en el suelo, favoreciendo su propagación a través de sus poros [50].

Los nanomateriales sintéticos se producen mediante métodos físicos, químicos, biológicos o híbridos. Existen principalmente dos tipos de métodos de síntesis de materiales [48]: el de construcción bajo control de “abajo hacia arriba” o *bottom up* y el de miniaturización de

“arriba hacia abajo” o *top down.* En el primero, el objetivo es sintetizar NMs mediante el depósito y crecimiento de los cristales a partir de soluciones en fase líquida o vapor, como son los métodos de sol-gel y el de aerosol pirólisis, o mediante procesos de precipitación química. Con el método *top down*, los NMs se obtienen mediante procesos de miniaturización, aplicando diferentes técnicas, como molienda mecánica o descomposición térmica. Y a su vez son caracterizados para determinar su pureza y cristalinidad utilizando métodos químicos como espectroscopia de absorción atómica (AA) y microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopia de transmisión electrónica (TEM), espectroscopía infrarroja (IR), espectroscopia de masa (MS), difracción de Rayos X (XRD), entre otras [51].

Existen muchos métodos de clasificación de los nanomateriales sintéticos: según su síntesis; según las diferentes formas geométricas, pueden dividirse en nanomateriales de película fina, nanomateriales en polvo, nanomateriales de fibra y nanomateriales a granel; según sus diferentes funciones, pueden dividirse en nanomateriales catalíticos, nanomateriales biológicos, nanomateriales magnéticos, nanomateriales térmicos, etc.

En cuanto a ser empleados para remediación, los nanomateriales se suelen dividir en óxidos metálicos, nano minerales de arcilla, materiales de metal cero valente, materiales carbonosos y materiales semiconductores [52].

A continuación, se detallan los nanomateriales más estudiados para fines de remediación de suelos contaminados con metales pesados, según su composición:

2.3.1.1 Nanomateriales basados en el carbono

Estos nanomateriales contienen carbono y su morfología es de tubos huecos, elipsoides o esferas. Los fullerenos (C60), los nanotubos de carbono (CNT), las nanofibras de carbono, el carbono negro, el grafeno (Gr), el carbón activado y el biocarbón son algunos de los NMs estudiados para la remediación ambiental. La ablación por láser, la descarga por arco y la deposición química de vapor (CVD) son los principales métodos de producción para la fabricación de estos materiales.

Los nanotubos de carbono se consideran uno de los nanomateriales más prometedores para la eliminación de contaminantes orgánicos e inorgánicos debido a su gran superficie

específica, densidad óptica, peso ultra bajo, tener una estructura mesoporosa (poros entre 2 y 50 nm) y hueca, alta resistencia mecánica y estabilidad química y térmica. Han recibido una atención significativa debido a sus propiedades superiores, especialmente sus propiedades de adsorción, ya que los CNT tienen una gran capacidad para unirse a los grupos funcionales de los contaminantes [53]. Existen los nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) y de pared múltiple (MWCNT) y se están aplicando cada vez más en la remediación de sedimentos contaminados con metales pesados [54]. Song et al. (2017) [55] en su estudio sobre el efecto de los nanotubos de carbono multipared como adsorbente sobre la fitotoxicidad demostraron que las concentraciones acuosas de fenantreno y Cd^{2+} liberadas de los sedimentos y agua disminuyeron notablemente después de la remediación in situ.

Por otra parte, el biocarbón, como material sólido poroso producido por la pirólisis de biomasa, ha atraído una atención en la remediación ambiental debido a sus abundantes aplicaciones, bajo costo, estabilidad y gran potencial de eliminación de contaminantes. Se caracteriza por una gran área de superficie específica, alta capacidad de intercambio catiónico, abundantes grupos funcionales en su composición y alta estabilidad química y biológica que pueden reducir efectivamente la migración y la biodisponibilidad de metales pesados en el suelo. También podría proporcionar condiciones beneficiosas para el crecimiento de las plantas, la fertilidad y la actividad microbiana del suelo, lo que puede acelerar la restauración del medio. Sus propiedades superficiales y químicas dependen de la materia prima, la temperatura de pirólisis y las condiciones de preparación. Alí et al. (2020) [56] usó el biocarbón de cáscara de albaricoque fresco y el biocarbón de manzano para remediar el suelo en un área minera (Zn (1860,0 mg/kg) y Cd (39,9 mg/kg)). Se utilizaron diferentes dosis (0 (control), 1, 2,5, 5 y 10 % p/p) de ambos biocarbones y *Brassica juncea* en un experimento de maceta de invernadero. Como resultado, la adición de biocarbón mejoró el crecimiento de las plantas (22,6–29,4 %), el pH del suelo (hasta 0,94 unidades) y la materia orgánica del suelo (hasta 4 veces) en comparación con el control. Las concentraciones de metales se redujeron en raíces (36–41 % para Zn y 33–37 % para Cd) y brotes (25–31 % para Zn y 20–29 % para Cd), lo que podría deberse al aumento del pH y sorción de metales por el biocarbón.

2.3.1.2 Nanomateriales inorgánicos

2.3.1.2.1 Nanomateriales metálicos

Varios nanomateriales basados en metales, por ejemplo, hierro (Fe), aluminio (Al), cobre (Cu), sílice (Si), zinc (Zn), oro (Au) y plata (Ag); y sus óxidos; por ejemplo, óxido de zinc (ZnO), y óxido de cerio (Ce_2O_3) han sido estudiados y sintetizados para diversas aplicaciones en campos como la recuperación de sitios contaminados con metales pesados.

Las síntesis típicas de NMs de hierro implican rutas que incluyen la precipitación química, el método sol-gel, técnicas hidrotermales, microemulsión, electrodeposición y métodos sonoquímicos.

- Óxidos de hierro (Fe)

Los óxidos de hierro son componentes naturales de los suelos y existen en muchas formas, entre las que destacan la goethita (α-FeOOH), la hematita (α-Fe_2O_3), la maghemita (γ-Fe_2O_3) y la magnetita (Fe_3O_4). Estos óxidos de hierro desempeñan un papel crucial en los sistemas edáficos debido a su capacidad para adsorber elementos potencialmente tóxicos, como metales y metaloides. Los ENMs basados en el hierro son, por tanto, candidatos interesantes para la eliminación de metales tóxicos de aguas y suelos contaminados, o para su estabilización en los mismos, debido a que su mayor área superficial específica y su estructura superficial modificada afectan en gran medida su reactividad y química. El uso de nanomateriales basados en el hierro para la inmovilización in situ de oligoelementos limita la lixiviabilidad potencial de los metales/metaloides y, por tanto, evita su transporte a las capas más profundas del suelo y a las aguas subterráneas. Durante el proceso de remediación, pueden aplicarse directamente como nano óxidos de hierro o en forma de sus precursores (nano hierro cero valente) [57].

- **Nanopartículas de hierro de valencia cero (nZVI)**

Las nanopartículas de ZVI tienen un núcleo de hierro metálico y una carcasa de óxido de hierro y su rango de tamaño varía entre 10 y 100 [nm]. Su núcleo posee un poder reductor, mientras que los hidróxidos de hierro de la superficie ofrecen las funciones coordinativas y

electrostáticas para atraer y adsorber iones cargados. Su estructura y propiedades fisicoquímicas lo hacen capaz de oxidar espontáneamente Fe^0 a Fe^{2+} y Fe^{3+} e inmovilizar metales pesados con eficiencia.

Las nZVI generalmente se consideran un material metálico prometedor para la remediación de suelos contaminados debido a su gran superficie específica, alta reactividad, tamaño de partícula controlable, propiedades magnéticas, fácil separación y bajo costo operativo

Si bien hay muchos métodos para sintetizar nZVI, inicialmente se utilizaron métodos físicos, como la molienda, la abrasión y la litografía. Actualmente, la solución homogénea, la reducción química, la nucleación de gases, la separación de fases o el recocido a alta temperatura se utilizan ampliamente. Existen algunos métodos menos utilizados, como la molienda de precisión, la reducción carbotérmica, la producción asistida por ultrasonidos, la generación electroquímica y la síntesis verde pero que debido a sus ventajas pueden volverse populares en el futuro [58].

Xue et al., (2018) investigó el efecto de las nanopartículas de hierro de valencia cero recubierto con ramnolípidos (RL) a nanoescala sobre la eficiencia de inmovilización de Cd y Pb en sedimentos de ríos contaminados, demostrando que R-nZVI fue eficaz en la transformación de Cd y Pb lábiles en una fracción estable (el porcentaje residual máximo de Cd y Pb aumentó en un 56,40 % y un 43,10 % después de 42 días de incubación, respectivamente), con la disminución de la movilidad de los metales. Además, se demostró que la presencia de RL podría disminuir la agregación de nZVI y no hubo óxidos de hierro formándose en la superficie de R-nZVI [59].

Su et al., (2016) utilizó un material de hierro cero valente a nano escala soportado por biocarbón (nZVI@BC) para la remediación in situ de suelos contaminados con cromo hexavalente (Cr^{6+}). Se utilizaron pruebas de sedimentación y experimentos en columna para comparar la estabilidad y la movilidad de nZVI@BC y de nZVI desnudo. La eficacia de inmovilización del cromo, su toxicidad y el contenido de hierro, se evaluaron mediante pruebas de lixiviación y experimentos en macetas. Las pruebas de sedimentación y los experimentos de transporte indicaron que nZVI@BC con una proporción de masa de nZVI a BC de 1:1 presentaba una mejor estabilidad y movilidad que la de nZVI desnudo. La

eficiencia de inmovilización del Cr^{6+} y del Cr total fue del 100% y del 92,9%, respectivamente, cuando el suelo fue tratado con 8 g/kg de nZVI@BC durante 15 días. Además, esta remediación redujo eficazmente la lixiviación del hierro causada por el nZVI desnudo. Además, los experimentos en macetas mostraron que dicha remediación redujo la fitotoxicidad del cromo y hierro lixiviable, favoreciendo el crecimiento de las plantas [60].

Gil-Díaz et al., (2016) investigó el impacto del tratamiento de nanorremediación en la recuperación del suelo, evaluando el desarrollo de plantas de cebada. Se trató un suelo contaminado con As con una suspensión comercial de nZVI en dos dosis (1% y 10% p/p). Se cultivaron plantas de cebada en suelos tratados y no tratados en una cámara de crecimiento, y se determinó la absorción de As, Fe y nutrientes. La eficacia de la inmovilización del As se evaluó según el procedimiento de lixiviación de características de toxicidad (TCLP), así como mediante un procedimiento de extracción secuencial. La aplicación de nZVI redujo la cantidad de As en las fracciones más disponibles y aumentó la cantidad de As en la fracción residual. Los mejores resultados de inmovilización se obtuvieron con la dosis más alta de nZVI (10%). A su vez, la menor disponibilidad de As en los suelos tratados con nZVI, especialmente en la dosis del 10%, estimuló el desarrollo de las plantas de cebada y disminuyó la absorción de As. No se observó un aumento importante del Fe disponible ni un impacto negativo en las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo [61].

- **Dióxido de titanio (TiO_2)**

Las nanopartículas de TiO_2 presentan una química superficial y una morfología únicas. Las mayorías de las NP de TiO_2 se producen mediante métodos fisicoquímicos como la deposición química de vapor, la microemulsión, la precipitación química, la cristalización hidrotérmica y los métodos sol-gel [62]. Entre sus principales características se encuentran su excelente estabilidad fotoquímica, gran poder de oxidación, su inercia química, gran abundancia y su carácter ecológico [63].

Naderi Peikam y Jalali (2019) recogieron muestras de suelo calcáreos y no calcáreos, las cuales fueron tratadas con 1% y 3% p/p de TiO_2 e incubaron durante 30 días a 25°C. Luego de la aplicación de nanopartículas se observó un aumento significativo de Zn, Ni y Cd

asociado a la fracción residual, mientras que la fracción intercambiable u oxidable disminuyó significativamente. La mayor disminución de la fracción intercambiable fue de Zn con un 57,1% en presencia de TiO_2 (3%) en suelos calcáreos. La fracción intercambiable de Ni disminuyó en un 14.3% y un 28,6% para TiO_2 (1%) y TiO_2 (3%) respectivamente en suelos no calcáreos y un 0,0% y 11,1% en suelos calcáreos [64].

Emamverdian et al., (2021) utilizó nanopartículas de TiO_2 para experimentar con tejidos in vitro de plantas de bambú y determinar el impacto del TiO_2 en la tolerancia de las plantas ante dos metales pesados (Cu y Pb). Se cultivaron plantas con distintas concentraciones de TiO_2 y se agregaron concentraciones de Cu y Pb. El uso de las NPs de TiO_2 aumentó la capacidad antioxidante total, el contenido de clorofila y la biomasa general de la planta. Los resultados indican que la eficacia de las NPs de TiO_2 se relacionan con el tipo y la concentración del metal pesado, siendo más eficaces en el Cu. Una mayor concentración de NPs produjo la mayor mejora en el crecimiento y desarrollo de la planta bajo estrés por metales pesados [65].

Acharya et al., (2018) utilizó el TiO_2 como fotocatalizador semiconductor para la reducción fotocatalítica del Cr^{6+}. La modificación del TiO_2 con materiales avanzados basados en carbono, óxidos metálicos, sulfuros metálicos y metales nobles tiene como resultado una mejora en el área superficial y aumento del rango de absorción de luz, produciendo una mejora en la adsorción de Cr^{6+} [63].

2.3.1.3 Otros nanomateriales

- **Nanohidroxiapatita**

La hidroxiapatita (HAP) es una apatita de calcio mineralizada de estructura cristalina. Como fosfato menos soluble, promete ser un material ideal para la inmovilización de metales pesados debido a su alta capacidad de absorción, área de superficie específica, cinética de liberación lenta de fósforo (P), alta estabilidad en condiciones reductoras y oxidantes, su disponibilidad y su rentabilidad [66]. Algunos estudios han confirmado la mayor eficiencia de la nanohidroxiapatita (nHAP), en comparación con la HAP ordinaria, para disminuir la biodisponibilidad de los metales pesados y aumentar su estabilidad geoquímica [67, 68].

Hasta la fecha, las NP de HAP se han estudiado para remediar suelos contaminados y purificar aguas residuales debido a su capacidad de estabilizar iones metálicos y a su excelente absorción de metales pesados como el Cu^{2+}, Zn^{2+}, Pb^{2+} y el Cd^{2+} [69].

Zhang et al. (2010) [70] investigó la eficiencia y el mecanismo de las NP de HAP para inmovilizar Pb^{2+} y Cd^{2+} en soluciones acuosas y sedimentos contaminados. Se agregaron diferentes cantidades de nHAP (0–10% peso seco) al sedimento contaminado. La extracción secuencial mostró que nHAP podría reducir efectivamente la fracción intercambiable de Pb^{2+} y Cd^{2+} en el sedimento y reducir significativamente las concentraciones, especialmente en el caso del Pb^{2+}. Además, encontró que los mecanismos dominantes para la fijación del Pb^{2+} son la disolución y la precipitación, mientras que los principales mecanismos de secuestro del Cd^{2+} son la complejación superficial y la difusión intrapartícula.

Por otra parte, Yang et al. (2016) utilizó nanohidroxiapatita con soporte de biocarbón (nHAP@BC) de alta eficiencia y bajo costo en la remediación de suelos contaminados con plomo a través de experimentos por lotes, estudiando la estabilidad, la bioaccesibilidad del Pb^{2+} y el cambio en las características del suelo. También, los efectos de las enmiendas sobre el crecimiento de plántulas de *Brassica juncea* y la acumulación de Pb^{2+}. Los resultados mostraron que las tasas de inmovilización de Pb^{2+} en el suelo fueron 71.9% y 56.8% respectivamente, después de 28 días de remediación usando 8% de materiales nHAP@BC y nHAP, y la cantidad de inmovilización unitaria de nHAP@BC fue 5.6 veces la de nHAP, lo que indica que nHAP@BC puede reducir en gran medida el costo de la remediación de Pb en el suelo. Después de la remediación de nHAP@BC, la fracción residual de Pb^{2+} aumentó en un 61,4%, lo que redujo en gran medida la bioaccesibilidad del Pb^{2+} en el suelo. Además, nHAP@BC podría reducir efectivamente la acumulación de Pb^{2+} en las plantas en un 31,4 %. En general, nHAP@BC puede remediar efectivamente el suelo contaminado con Pb^{2+} y acelerar la recuperación de fertilidad del suelo [71].

2.3.2 Factores que afectan los mecanismos de acción de los nanomateriales

En general, esta tecnología de remediación implica (a) el transporte de los NMs a la zona contaminada; (b) la fijación al sustrato en la zona contaminada; y (c) la reacción con los contaminantes objetivo para formar productos menos tóxicos o móviles [47]. Los

mecanismos más comunes de eliminación de los contaminantes inorgánicos pueden dividirse en adsorción, reducción, oxidación, precipitación y coprecipitación [72], principalmente reduciendo la movilidad y en consecuencia la biodisponibilidad.

Los procesos generales de reacción están fuertemente influenciados por una serie de factores, en particular, las propiedades químicas y la estructura de los NMs, la presencia de más de una especie contaminante, las características del contaminante y la hidrogeoquímica del medio.

Algunos factores medioambientales que podrían afectar el rendimiento de los nanomateriales según [54, 73]:

- pH: El pH es un parámetro fundamental que controla la transferencia de metales pesados en los sedimentos y desempeña un papel crucial en la reacción de los metales pesados con los nanomateriales. Su valor afecta la carga superficial del NM, y por tanto, su capacidad de adsorción. Además, determina la biodisponibilidad y las formas existentes de los iones de metales pesados.

- Materia orgánica (MO): La materia orgánica es un importante captador de metales en los sedimentos. Muchos estudios han demostrado una correlación positiva significativa entre el contenido de materia orgánica y la fijación de metales pesados en el suelo, reduciendo la biodisponibilidad y toxicidad de los metales pesados.

- Potencial de oxidación-reducción: Los procesos Redox ambientales desempeñan un papel importante en la movilidad, biodisponibilidad, especiación química y toxicidad de numerosos metales pesados. El potencial de oxidación-reducción afecta a la eficiencia de reacción de los nanomateriales mediante la inmovilización/eliminación de contaminantes.

Otros factores:

- Dosificación del adsorbente: La dosificación de los NMs utilizados es otro factor clave que afecta a la capacidad de eliminación de los iones de metales pesados. Muchos estudios se han enfocado en la selección de la dosis óptima de adsorbentes

que puede alcanzar la eficiencia de eliminación deseada, lo cual es útil para la aplicación rentable de los nanomateriales. Generalmente, la toxicidad aumenta con el aumento de la concentración del nanomaterial.

- Temperatura: La temperatura determina la energía de la actividad de reacción y, por tanto, desempeña un papel fundamental en el proceso de adsorción. El aumento o la disminución de la temperatura puede alterar la capacidad de adsorción en equilibrio de los nanomateriales.

- Tiempo de exposición: El tiempo de contacto entre las nanopartículas y los iones de metales pesados puede afectar significativamente a las tasas de eliminación durante el proceso de adsorción y redox.

En el apartado siguiente serán detallados estudios que han demostrado que la nanotecnología aumenta la eficiencia de la fitorremediación, desintoxican o remedian significativamente contaminantes orgánicos, inorgánicos y metales pesados. Sin embargo, los resultados de su aplicación varían dependiendo de la especie utilizada, las condiciones climáticas y las características del suelo a tratar, por lo que no son necesariamente replicables. Estas estrategias podrían evaluarse y extrapolarse para el caso particular de estudio.

2.3.3 Aplicación de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados asistida de nanomateriales de ingeniería.

El sistema de fitorremediación asistida por nanomateriales consta de tres elementos principales: plantas, contaminantes y nanomateriales. Por un lado, los nanomateriales pueden mejorar la fitorremediación actuando directamente sobre los contaminantes y/o las plantas. Por otra parte, los nanomateriales aplicados pueden estar involucrados en las interacciones entre los contaminantes y las plantas, afectando indirectamente la eficiencia final de remediación, como se muestra esquemáticamente en la figura 5.

En base a esto, se cree que los nanomateriales actúan en la fitorremediación de la siguiente manera [74]: eliminación directa de contaminantes por nanomateriales, promoción del crecimiento vegetal y aumento de la fitodisponibilidad de contaminantes.

La eliminación directa de contaminantes mediante nanomateriales reduce la carga de eliminar contaminantes por parte de las plantas, lo que se traduce en una reducción de la fitotoxicidad, además pueden actuar aumentando la tolerancia a altas concentraciones de contaminantes, acortando los tiempos de remoción y beneficiando el crecimiento de las plantas. Dentro de este último concepto, varios estudios han revelado que los NMs pueden mejorar la germinación de las semillas, la fotosíntesis de las plantas, la resistencia al estrés oxidativo, potenciar la actividad de las enzimas antioxidantes, el crecimiento y el desarrollo de los rizomas, el rendimiento y la calidad de los cultivos [75, 76]. Los nanomateriales también pueden aumentar la tasa fotosintética promoviendo la absorción de agua y nutrientes, regular la comunidad microbiana del suelo y reducir el estrés abiótico (como la alta salinidad y la sequía) [77].

Se ha demostrado que el aumento de la fitodisponibilidad de contaminantes es eficaz para mejorar la eficiencia de la fitorremediación [74]. Los nanomateriales tienen dos influencias divergentes sobre la fitodisponibilidad de contaminantes en el suelo. Por un lado, los nanomateriales pueden servir como portadores de contaminantes cuando ingresan a la célula vegetal (preferente para la nanofitoextracción), aumentando así la biodisponibilidad. Por otro lado, la adsorción de contaminantes en nanomateriales fuera del organismo puede reducir los contaminantes libres, disminuyendo así biodisponibilidad (necesario para la nanofitoestabilización), lo que queda ilustrado en la figura 6.

Las condiciones ideales para mejorar la fitodisponibilidad de contaminantes con nanomateriales son:

- El nanomaterial usado puede combinarse con el contaminante.
- El nanomaterial es fitodisponible.

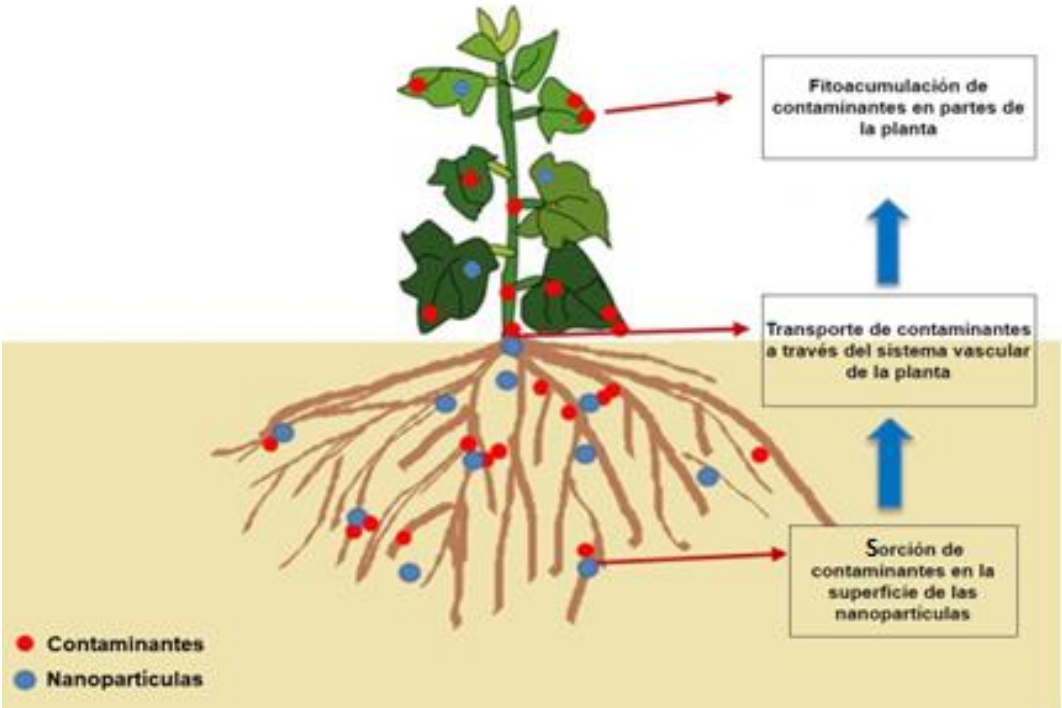


Figura 5: Uso de nanotecnología en la asistencia de fitorremediación de suelos contaminados.

Fuente: Adaptado de [78]

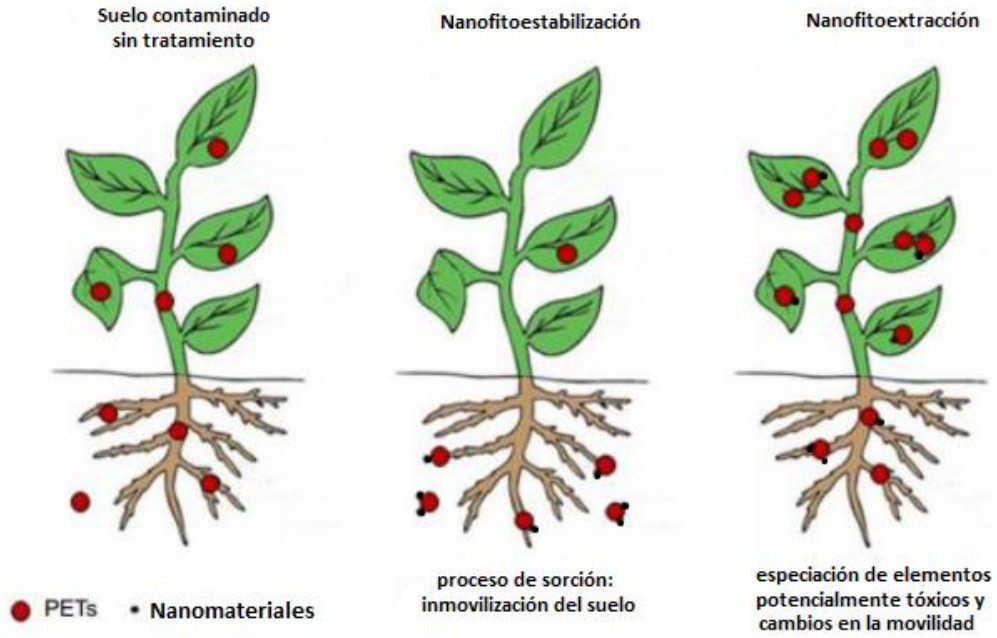


Figura 6: Mecanismos de nanofitoestabilización y nanofitoextracción.

Fuente: Adaptado de [72].

En resumen, los nanomateriales adecuados para la fitorremediación deben tener las siguientes características [30]:

1. Las nanopartículas no deben ser tóxicas para las plantas.
2. Capacidad de mejorar en el proceso de germinación, el crecimiento de las plántulas, el alargamiento de los brotes de la raíz, la altura de la planta y la biomasa.
3. Capacidad de aumentar la producción de fitoenzimas en plantas.
4. Capacidad para potenciar las hormonas de crecimiento de las plantas.
5. Capacidad para unir contaminantes y mayor biodisponibilidad para la planta.
6. Mejorar los indicadores del proceso de fitorremediación.

Para evaluar la eficiencia de la nanofitorremediación, se suele utilizar un grupo experimental de control sin nanomateriales, de modo que se puedan identificar claramente los efectos de su uso en las plantas y en los indicadores de fitorremediación.

Dentro de los documentos estudiados, se destaca el trabajo realizado por Song et al. (2019) [74] y Rajput et al. (2021) [46], quienes reúnen información de publicaciones acerca de investigaciones bajo el enfoque de técnicas mixtas de fitorremediación y nanotecnología en la recuperación de suelos contaminados por metales pesados (especialmente As, Zn, Cr, Pb y Cd), en donde ambos revelan el potencial de la nanofitorremediación para la eliminación de diversos contaminantes inorgánicos y orgánicos de los ecosistemas terrestres y su aplicación para descontaminar el suelo o el agua de forma rentable; sin embargo, postulan que existe una preocupación medioambiental en cuanto a la aplicación de los NMs y que estos deberían estar dentro de un marco normativo que garantice minimizar el riesgo, y que su uso sea respetuoso con el medio ambiente. Además, realizan un análisis de la interacción de los NMs con las plantas, los microbios, los contaminantes y la salud. Finalmente, plantean que se necesita más investigación sobre el riesgo ambiental que implicaría el uso de nanomateriales en procesos de remediación y evaluar sus efectos toxicológicos. Esta información se encuentra en el Anexo A al final de este documento en la tabla 37).

Otros estudios relacionados con la nanofitorremediación de metales pesados:

- Liang et al. (2017) [79] en su investigación “Viabilidad de la fitoextracción de Pb usando raigrás asistido por nanomateriales: resultados de un experimento a escala de campo de

un año” estudiaron los efectos de la aplicación de nanohidroxiapatita (nHAp) y nanocarbono negro (NCB) en la fitoextracción de Pb por el raigrás (*Lolium perenne L.*) como técnica de remediación mejorada y determinaron la eficiencia de la remediación después de 1, 1,5, 2, 3 y 12 meses mediante la concentraciones de Pb en diferentes partes de la planta, los factores de bioacumulación y translocación de las plantas y los cambios en el contenido de Pb de los suelos de la rizosfera. Los resultados experimentales mostraron que la adición de 0,2% p/p de nHAp y NCB presentaron una variación temporal de la absorción de Pb en las partes aéreas y en las raíces, aumentando significativamente la acumulación de Pb en la parte superficial de la planta después de 1,5 meses. En el grupo de control con solo raigrás, las tasas de remoción de Pb en el suelo variaron de 16.74% a 31.76%. Con la ayuda de nHAP, el raigrás eliminó cerca del 37% del Pb del suelo después de un mes. La tasa de eliminación alcanzó el 44,39% después de tres meses, y dicho tiempo de tratamiento se consideró más eficaz en comparación con una tasa de eliminación del 46,55% después de 12 meses. El NCB al primer mes removió cerca del 30% de Pb y 37,5% al tercer mes, alcanzando un máximo de 45% después de un año. Las tasas de remoción total de Pb del suelo fueron más altas después de la aplicación combinada de nHAP que de NCB. La biomasa de raigrás fue significativamente mayor con la aplicación de nanomateriales. En consecuencia, el potencial de fitoextracción de Pb del raigrás aumentó significativamente con la aplicación de nanomateriales en comparación con los grupos sin aplicación de nanomateriales. Todos los valores de TF fueron inferiores a 1 con el tratamiento de solo raigrás, lo que significa que a la planta le resultó difícil trasladar el Pb de manera efectiva desde las raíces a los brotes por si sola. La combinación con nanomateriales logró aumentar el valor de TF con el tiempo, alcanzando valores sobre uno con nHAP al finalizar el tratamiento. En conclusión, según los valores de BCF y TF, el raigrás tiene potencial para la fitoestabilización y la fitoextracción de Pb en suelos contaminados, aunque no se identificó como hiperacumulador de Pb. Sin embargo, el raigrás después de la incorporación de nanomateriales consiguió valor de BCF y TF superiores a 1 y fue más efectivo para absorber Pb.

- Siguiendo la misma línea investigativa, Huang et al. (2018) [80] en su estudio denominado: “Fitorremediación asistida por hierro cerovalente a nanoescala de Pb en

sedimentos: impactos en la acumulación de metales y el sistema antioxidante de *Lolium perenne L.*, se investigó los resultados de agregar nZVI en diversas concentraciones (0, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg/kg) para estudiar los efectos sobre la fitoextracción de Pb por el Raigrás (*Lolium perenne L.),* el crecimiento de las plantas y la acumulación y translocación de Pb. Para mejorar la estabilidad de nZVI en el suelo contaminado, se utilizó una solución de almidón. Las nZVI se sintetizaron a través de la precipitación reductora de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ con $NaBH_4$. Después de un tratamiento de 45 días en condiciones ambientales se tomaron muestras y fueron analizadas las concentraciones totales de Pb y Fe mediante espectroscopía de absorción atómica de llama. Los autores observaron que concentraciones bajas de nZVI (100, 200 y 500 mg/kg) podrían mejorar la acumulación de Pb en el raigrás debido al aumento de biomasa y menor estrés oxidativo en las plantas siendo superiores a los de los tratamientos sin nZVI. La acumulación máxima de Pb fue de 1175,40 μg por maceta y se obtuvo con nZVI de 100 mg/kg. Sin embargo, las nanopartículas de ZVI de altas concentraciones (1000 y 2000 mg/kg) provocaron una inhibición en el crecimiento en comparación con el tratamiento de control, disminuyendo así la acumulación de Pb. Esto podría deberse a la disminución del contenido de clorofila fotosintética y al estrés oxidativo agravado inducido por la alta concentración de nZVI. Además, los resultados de los experimentos de extracción secuencial mostraron que la fracción soluble en ácido de Pb más baja se encontró en el tratamiento con 100 mg/kg de nZVI, lo que indica que 100 mg/kg fue la concentración óptima de nZVI para ayudar a la fitorremediación de Pb. En conclusión, la adición de nZVI en concentraciones correctas podría promover efectivamente el crecimiento de las plantas y mejorar la absorción y translocación de Pb en *L. perenne*. Además, promueven la estabilización de Pb en sedimentos, lo que indicó que la fitorremediación asistida por nZVI podría ser un método prometedor para remediar sedimentos contaminados con Pb.

- También, Zand y Tabrizi et al. (2021) en su estudio de plántulas de *Kochia scoparia* se expusieron a diferentes regímenes de nanopartículas de hierro de valencia cero para investigar los efectos de nZVI en el crecimiento de las plantas, la absorción y acumulación de Pb y la respuesta fisiológica. Los resultados indicaron que la germinación no presentó cambios significativos, salvo a elevadas dosis del nanomaterial, la biomasa total de la planta aumentó con la aplicación de 100 a 500 mg/kg de nZVI,

mientras que se logró una tendencia decreciente en los suelos tratados con concentraciones más altas de nZVI y las concentraciones de Pb en raíces y brotes de *K. scoparia* cultivada más altas se obtuvieron en presencia de 500 mg/kg de nZVI (142,22 mg/kg y 49,78 mg/kg con un aumento significativo de 1,22 y 1,68 veces, respectivamente, en comparación con el control). Los valores de BCF fueron superiores a uno para suelos contaminados con Pb modificados con 300, 500 y 1000 mg/kg de nZVI. Esto indica la capacidad mejorada de *K. scoparia* para acumular Pb del suelo en presencia de las concentraciones mencionadas de nZVI. El índice de translocación de Pb de las raíces a los brotes de *K. scoparia* aumentó ligeramente con el contenido de nZVI del suelo de 100 a 500 mg/kg. Finalmente, los mejores resultados se obtuvieron con una concentración de 500 mg/kg de nZVI (BCF= 1,23; TF=0,35). Los resultados proporcionan un método prometedor para remediar el suelo contaminado con Pb mediante la aplicación de cantidades adecuadas de nZVI para mejorar el rendimiento de la fitorremediación [81].

- Un estudio de Vítková et al. (2018) [82] llamado "Efecto de la aplicación de nano hierro de valencia cero sobre la disponibilidad de As, Cd, Pb y Zn en la rizosfera de suelos contaminados con metales (loides)". Para esta investigación se escogieron dos tipos de suelos contrastantes extremadamente enriquecidos en metales pesados mezclado con nanopartículas de ZVI al 1% p/p y como especies experimentales: Girasol (*Helianthus annuus L.)* y Raigrás (*Lolium perenne L.)* utilizando un sistema de compartimiento "rhizobox" en condiciones de invernadero por un periodo de crecimiento de cinco semanas. Las concentraciones de los elementos principales y trazas, incluidos Fe, Mn, As, Cd, Pb y Zn, se determinaron utilizando ICP-OES. Respecto a los resultados se concluyó que la aplicación de nZVI mejoró la retención de As y Zn en los tipos de suelo estudiados. En consecuencia, se observó una mayor producción de biomasa para los suelos enmendados y se determinó una disminución significativa de la absorción de plantas para As, Cd, Pb y Zn tanto para las raíces como para los brotes en los suelos modificados con nZVI. No se observó ningún impacto negativo en las plantas función de la toxicidad de las nZVI. Las investigaciones en fase sólida demostraron que la adsorción asociada con óxidos u hidróxidos de Fe/Mn y la formación de fases secundarias de Fe-As representan los mecanismos clave de inmovilización tras la aplicación de nZVI. Sin

embargo, se revelaron algunas limitaciones del uso de nZVI, principalmente la aglomeración de nanopartículas, lo que lleva a una distribución espacial condicionada dentro del suelo y, por lo tanto, un efecto potencialmente limitado en el volumen probado. A pesar de algunas preocupaciones sobre la translocación de nanopartículas de Fe en los tejidos vegetales o los efectos negativos de los aglomerados de óxido de Fe en la conductividad hidráulica de la raíz, este estudio no confirmó ningún transporte de partículas de Fe o contenido excesivo de Fe en raíces/brotes o cualquier recubrimiento de Fe de las raíces. Finalmente, las concentraciones de todos los elementos de riesgo objetivo (As, Cd, Pb y Zn) en las raíces y los brotes disminuyeron entre un 50% y un 60% después del tratamiento con nZVI en comparación con la muestra de control (excepto por una disminución del 28 % de Zn en los brotes). Estos resultados aumentaron el potencial de aplicación del uso de partículas nZVI en sistemas de fitoestabilización.

- Jesitha y Harikumar et al. (2018) [83] en el capítulo 18 del libro "Fitorremediación: manejo de contaminantes ambientales", titulado "Aplicación de la nanofitorremediación: tecnología para suelos contaminados con residuos de plaguicidas y metales pesados" plantean un estudio de descontaminación de suelos con metales pesados utilizando las plantas *Tradescantia spathacea* y *Alternanthera dentata*. El experimento se realizó en macetas contaminadas artificialmente con Pb^{2+} y Cd^{2+} en condiciones de invernadero. Para la evaluación del tratamiento de fitorremediación se añadió una cantidad de 1000 mg/kg de ácido crítico a cada maceta y para la nanofitorremediación se añadió 1000 mg/kg de nZVI sintetizado a través del proceso de precipitación reductora. Se recogieron muestras de la planta de cada maceta después de 40 días y fueron analizadas mediante la técnica de ICP-OES para confirmar su papel en experimentos de nanofitorremediación y fitorremediación asistida por quelatos. Finalmente, se utilizaron los factores de BCF y TF para estimar el potencial de la planta para fines de fitorremediación y evaluar la eficiencia de las NP en el mejoramiento de la técnica de fitorremediación y comparar su efecto. En el caso de *Tradescantia spathacea*, el valor de BCF para Pb fue de 0,48 en la fitorremediación, el que aumentó a 0,84 con el tratamiento de nZVI. El TF disminuyó de 0,30 a 0,17. Para Cd, el BCF fue de 0,45 en fitorremediación e incrementó a 0,64 con el tratamiento de nZVI. El TF, aumento de 0,19 a 0,62. Para la *Alternanthera dentata*, en la fitorremediación el BCF para Pb alcanzó el valor de 0,60 y aumentó a 0,73 con nZVI. El

TF aumentó levemente de 0,16 a 0,23. Para el Cd, el valor de BCF es de 0,52 para fitorremediación y aumentó a 0,71. Y el TF a su vez también aumentó de 0,45 a 0,74 con tratamiento de nanofitorremediación. Los resultados mostraron que la mayor absorción de metal se observó en las raíces en comparación con los brotes indicando la inmovilización de metales en las raíces y una menor movilidad de las raíces a los brotes. Además, para ambas plantas, la concentración de metales en las muestras fue mayor en el tratamiento de nanofitorremediación que en fitorremediación. Los ensayos experimentales con la técnica de nanofitorremediación demostraron ser muy eficientes y confirmaron la viabilidad de utilizar este enfoque basado en plantas para la descontaminación de suelos contaminados con Pb y Cd.

- Mohammadi et al. (2020) realizó un estudio cuyo objetivo fue evaluar el rendimiento de plantas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en suelo enriquecido con cromo hexavalente (Cr^{6+}; 0, 75 y 150 ppm) y el papel potencial del hierro nano-cerovalente (Fe^{0}; 0, 1 y 2% p/p) para mejorar la toxicidad de Cr. Los resultados revelaron que la absorción de Cr disminuyó al aumentar la concentración de nanopartículas de Fe, lo que provocó una mejora significativa en los atributos morfológicos y fisiológicos de la planta. El tratamiento con nanopartículas de Fe redujo el factor de bioacumulación (tanto en los tejidos de la raíz como del brote) y el factor de translocación (TF); sin embargo, la magnitud de BCF y TF disminuyó significativamente al aumentar el nivel de Cr^{6+}. El estrés por cromo aumentó las actividades de las enzimas antioxidantes, que aumentaron aún más con la aplicación de nanopartículas de Fe, lo que resultó en características de crecimiento mejoradas. Se encontró una correlación positiva significativa entre crecimiento, BCF y TF de plántulas tratadas con nanopartículas (tanto al 1 como al 2%) tras la exposición al Cr (75 y 150 ppm). Los resultados demostraron el potencial de las nanopartículas para mejorar el rendimiento de las plantas de girasol bajo toxicidad de Cr mediante la reducción de su absorción de Cr [84].

En general, el uso de nanomateriales para facilitar la fitorremediación de suelos contaminados puede ser una estrategia eficaz si se utiliza en las concentraciones adecuadas, pero aún se encuentra en fase de exploración. Se requiere la experiencia de más casos de aplicación tanto en laboratorio como en campo para una mejor compresión, además de

experimentos a largo plazo para evidenciar los efectos reales de los nanomateriales en: (1) los sistemas de fitorremediación y (2) el cambio en el estado del suelo.

Muchas de las respuestas de las plantas a los NMs se han evaluado para averiguar cómo estos mejoran el crecimiento cuando se utilizan como enmiendas del suelo para reducir o mitigar la toxicidad de los contaminantes; pero deben estudiarse de forma aislada para conocer sus efectos sobre las plantas. Si bien la adición de NMs a un suelo contaminado puede potencialmente mejorar los efectos dañinos inducidos por el metal en el crecimiento de la planta, por la reducción de la disponibilidad y toxicidad del metal, esta estimulación del crecimiento puede enmascarar los potenciales efectos negativos causados por los NMs.

Los estudios nanoecotoxicológicos están proporcionando una buena comprensión de sus interacciones con el sistema vegetal, y un número creciente de publicaciones han intentado aclarar y cuantificar sus riesgos potenciales y consecuencias para las plantas. Sin embargo, muchos resultados son contradictorios, y la seguridad de los nanomateriales artificiales sigue siendo un obstáculo para su uso en la fitorremediación [57].

Desde la perspectiva de la salud y la seguridad ambiental, la introducción antropogénica de ENMs en el medio ambiente afectaría inevitablemente el ecosistema del suelo autóctono. Los posibles efectos en el ecosistema del suelo incluyen: (i) respecto a las plantas; afectar la tasa de germinación de semillas de plantas, la fotosíntesis, la tasa de transpiración, el desarrollo de raíces y brotes de plantas y el rendimiento del cultivo; (ii) influir en el crecimiento de los microorganismos del suelo y distorsionar el metabolismo; (iii) mostrar efectos adversos en algunos animales invertebrados como caracoles, lombrices de tierra o larvas de insectos; (iv) contaminar las aguas subterráneas o el sistema de agua potable; (v) ser absorbido por los cultivos y posiblemente ingresar a la cadena alimentaria con un daño potencial para la salud.

CAPÍTULO III

3. ESTUDIO TÉCNICO

En este capítulo se presenta una propuesta experimental que permita evaluar el efecto que tiene el uso de nanomateriales sobre la capacidad de remover metales pesados, principalmente Cr y Pb, de especies nativas o endémicas de Chile. Las especies que se consideran ya fueron estudiadas previamente, sin adición de nanomateriales, por lo que se cuenta con sus parámetros de fitorremediación: factor de bioconcentración, factor de translocación y eficiencia de remoción. Por lo anterior, las experiencias se proponen de manera tal que los resultados sean comparables y buscando mejorar el diseño experimental previo.

En los experimentos se emplearán muestras de relave proveniente de la comuna de Cabildo y se llevarán a cabo ex-situ por un periodo de 7 meses en condiciones de invernadero. El relave será acondicionado con enmiendas orgánicas de manera de proporcionar un medio de plantación que permita el adecuado desarrollo y crecimiento de las especies. Además, la incorporación de nanomateriales al sustrato promete una mejor adsorción de los contaminantes, aumentar la fitodisponibilidad de los metales y promover el crecimiento de las plantas, en consecuencia, mejorar el proceso de fitorremediación.

En la experiencia previa se analizó el comportamiento de 3 especies: *Puya berteroniana*, *Cistanthe grandiflora* y *Solidago chilensis* mediante los factores de bioconcentración, translocación y porcentaje de remoción de los metales de interés con la finalidad de determinar el potencial para fitorremediar relaves mineros y escoger la especie con mejor desempeño, además, determinar si presentan características de fitoextracción o fitoestabilización. Como resultado se obtuvo que todas las especies estudiadas presentaron incapacidad para translocar Pb y Cr (TF<1) y en general ambas presentan carácter

fitoestabilizador. La especie *Solidago chilensis* obtuvo un BCF de 3,5 para Cr, le siguen la *Puya Berteroniana* y la *Cistanthe grandiflora* con un BCF de 1,7 y 1,5, respectivamente. Para el Pb, todas las especies mostraron un comportamiento similar, salvo *Cistanthe grandiflora* con la cual se obtuvo el mayor porcentaje de remoción, cercano al 10%. Por lo anterior, si bien, las especies muestran capacidad para estabilizar los metales de interés, en general, las eficiencias de remoción son bajas en el periodo estudiado, por ello el uso de nanomateriales se plantea como una alternativa para mejorar el desempeño de las especies.

A continuación, se presentan los criterios utilizados para la elección del nanomaterial, las concentraciones y enmiendas a emplear en la propuesta y su implementación a escala de laboratorio. Se describe el funcionamiento del sistema y los principales parámetros que serán monitoreados durante la etapa de experimentación.

3.1 Recolección de muestra

3.1.1 Faena Minera Las Cenizas

Las muestras utilizadas en el estudio fueron proporcionadas por Minera Las Cenizas Faena Cabildo, ubicada en la comuna de Cabildo, provincia de Petorca, Región de Valparaíso. Las operaciones de la minera corresponden a una planta concentradora de minerales, mina Carmen-Margarita, mina Sauce y un depósito de relave en pasta (DEP). La planta concentradora procesa 85 mil toneladas de mineral de cobre al mes, proveniente de sus propias minas, compra de mineral de ENAMI y minas de terceros.

Cabildo es una ciudad de aproximadamente 21.000 habitantes, en donde coexisten como principales actividades económica la agricultura y la minería. Según el estudio de Riesgos Naturales y Protección Ambiental del Plan Regulador Comunal [85], el área de estudio presenta un clima entre semiárido y mediterráneo de lluvia invernal, con mayor presencia de clima semiárido. Las precipitaciones varían dependiendo de la altura y de la cercanía a la costa, en el sector de Cabildo durante los meses más lluviosos se registran precipitaciones de 300 mm mientras que en sectores más andinos de la comuna las precipitaciones disminuyen considerablemente a casi la mitad registrándose un total de 198 mm. Las temperaturas presentan promedios del orden de los 4,6 ºC en invierno y de 28,2 ºC en verano, con temperaturas medias anuales de 14,4 ºC y una humedad relativa promedio de 62%.

A continuación, en la figura 7 es posible apreciar el emplazamiento de las dependencias de la Minera Las Cenizas y la cercanía con la comunidad de Cabildo.

Figura 7: Emplazamiento de las dependencias de la Minera Las Cenizas, Cabildo, V Región.

Fuente: Extraída desde página web de Grupo Minero Las Cenizas [118].

3.1.2 Muestras de relaves

El sitio seleccionado para la toma de muestras corresponde al depósito de relave en pasta del grupo minero Las Cenizas. La ubicación del punto central del depósito de pasta corresponde a las coordenadas UTM (WGS84, H19S9) N-6.405.634 y E-303.942, en la explanada de la Quebrada Rincón del Chinchorro, Peñablanca.

Figura 8: Imagen satelital de explanada Quebrada Rincón del Chinchorro, Cabildo, V Región, año 2016.

Fuente: Extraída de Google Earth Pro [86]

El depósito comenzó a operar en el año 2010 y sigue activo hasta el día de hoy. Posee una capacidad máxima de 9 millones de toneladas y cuenta con tecnología de punta para espesar los relaves y asegurar la estabilidad, evitando la polución por la acción del viento y la infiltración a las napas subterráneas de líquidos provenientes del proceso.

En la tabla 4 se presentan las principales características granulométricas y pH de la muestra. La tabla 5 muestra las concentraciones iniciales de metales medidas por la técnica de espectroscopía de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), utilizando el equipo marca Perkin Elmer ICP Optima 2000DV, cuyo un límite de detección está entre 0,005 y 0,001 ppm dependiendo del elemento.

Tabla 4: Características granulométricas de muestra de relave.

Parámetro	Valor
Gravedad específica	2,82
pH	7,3
Concentración de sólidos [%p/p]	83
Granulometría d_{20} [μm]	0,005
Granulometría d_{50} [μm]	0,046
Granulometría d_{80} [μm]	0,240

Tabla 5: Concentraciones de metales (Pb y Cr) en relave seco ± intervalo de confianza.

Elemento	Concentración [mg/kg en relave seco] ± intervalo de confianza (IC)
Cu	1582,22 ± 78,31
Mo	3,86 ± 0,17
Pb	228,15 ± 2,79
Zn	869,80 ± 31,54
Ni	94,64 ± 2,57
Cd	Por debajo del límite de detección
Cr	154,63 ± 5,41

3.2 Metales pesados: Pb y Cr

Si bien en Chile existen estándares que regulan la calidad del aire y del agua, no existe una normativa que regule expresamente la calidad de los suelos en cuanto a la concentración de sustancias tóxicas o potencialmente dañinas para el ser humano y el medio ambiente, por lo tanto, es relevante la revisión de estándares internacionales en esta materia. Este estudio se

basa en la normativa ambiental neerlandesa que contiene un reglamento de calidad del suelo que establece en función de los valores objetivos y de intervención estándares de referencia para los metales pesados presentado en la tabla 6 en términos de concentración total en el suelo seco.

Tabla 6: Estándares neerlandeses para la evaluación de la contaminación del suelo en términos de concentración total de metales pesados en los suelos. Ministerio de vivienda, ordenamiento del territorio y medioambiente, Países Bajos.

Fuente: Adaptación de [87] y [88]

Metales	Valor objetivo* [mg/kg]	Valor de intervención** [mg/kg]	Valor permisible en plantas*** [mg/kg]
Cr	100	380	1,3
Pb	85	530	2,0
Cu	36	190	10
Zn	140	720	0,6
Mo	3	200	-
Ni	35	210	10
Cd	0,8	12	0,02

*: los valores objetivo se especifican para indicar los niveles máximos deseables de elementos en suelos no contaminados.
**: indica contaminación severa de los suelos donde es necesario remediar.
***: Fuente: WHO (1996)

Los metales de interés se escogen en base al análisis de las concentraciones de metales iniciales en el relave seco. La concentración de Cu inicial en el relave estudiado esta por sobre el nivel de intervención establecido en la norma, lo que indica que se trata de un sitio apto para una propuesta de remediación. Luego, llama la atención las concentraciones de Zn, Pb, Cr y en menor medida el Ni, todas por encima del valor máximo objetivo.

Se selecciona en tanto, el Pb y Cr, teniendo en cuanta que ambos se caracterizan por no cumplir con ninguna función biológica y resultar tóxicos incluso a bajas concentraciones estando asociados a la contaminación ambiental y al perjuicio de la salud humana. Además, la Agencia para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) y la US-EPA han clasificado al cromo y el plomo entre las 20 principales sustancias más peligrosas [89].

El Pb es un elemento químico de número atómico 82 con una masa atómica de 207,19 g/mol. Es un metal pesado de color grisáceo que presenta un aspecto de color brillante al corte, y que se oxida rápidamente. Su uso industrial se relaciona con baterías de almacenamiento, aditivos de gasolina, municiones y soldaduras. Entra al suelo por la deposición de partículas arrastradas por el viento, el contacto con aguas residuales industriales, el riego de cultivos con aguas que contengan pequeñas fracciones del metal, y aguas de escorrentía provenientes de apilamientos de minerales. Se presenta principalmente en dos estados de oxidación diferentes (II y IV), pero el plomo divalente, Pb^{2+}, es la forma más frecuente y estable de este contaminante. Su biodisponibilidad está fuertemente condicionada por el pH del suelo; en condiciones ambientales normales, su movilidad es baja, pero se incrementa conforme va disminuyendo el valor del pH, siendo especialmente móvil para pH extremadamente ácidos, formando complejos estables con la materia orgánica [90]. Sus efectos son de naturaleza toxicológica y neurotoxicológica, incluyendo daño irreversible al cerebro; afecta el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico, renal, gastrointestinal, cardiovascular y sistema reproductivo, además de afectar también procesos básicos de funcionamiento celular.

En el caso del cromo, con número atómico 24 y una masa atómica de 51,99 g/mol es un metal duro de color plateado. Corresponde a uno de los elementos más abundantes de la corteza terrestre. El cromo tiene una química electrónica y de valencia compleja debido a su alto potencial para pasar fácilmente de un estado de oxidación a otro. Tiene tres estados de oxidación (II, III y VI), pero las formas de cromato hexavalente, Cr^{6+} y cromita trivalente, Cr^{3+}, son las más comunes y estables en el entorno natural, aunque, el Cr^{6+} muestra una mayor toxicidad que el Cr^{3+} debido a su mayor solubilidad y movilidad. El Cr^{3+} tiene una baja solubilidad sólo a pH < 5,5; por encima de ese pH, el Cr^{3+} precipita casi por completo, por lo que sus compuestos se consideran altamente estables en el suelo. Por el contrario, el Cr^{6+} es altamente inestable en el suelo y permanece movilizado tanto en suelos de pH ácido como alcalino, este entra al suelo principalmente a través de escorrentía superficial y el transporte de partículas a través del aire [91]. Con respecto a los trastornos clínicos inducidos en los seres humanos por la exposición al Cr se encuentran las alteraciones de tipo respiratorias, carcinógenas, renales, hepáticas, gastrointestinales, cardiovasculares, hematológicas, reproductivas y desarrollo, genotóxicas y mutagénicas [92].

3.3 Elección de especies

Las especies vegetales seleccionadas para la fitorremediación de Pb y Cr se evaluaron según los siguientes criterios:

- Planta nativa o endémica de Chile.
- Que habite la zona de estudio cercana al relave.
- Bajo requerimiento hídrico.
- Alto valor ornamental.
- Las especies deben haber sido probadas con anterioridad para contrarrestar los indicadores de fitorremediación, los cuales deben ser prometedores para la técnica.

Las especies elegidas para la propuesta experimental de fitorremediación con nanomateriales y enmiendas orgánicas corresponden a: *Cistanthe grandiflora* y *Solidago chilensis*, plantas que pertenecen a dos familias botánicas distintas, las cuales obtuvieron los mejores resultados en experimentos previos reportados en [93] y [94].

3.3.1 Cistanthe grandiflora

Llamada frecuentemente en Chile como Doquilla o Pata de guanaco, es una planta chilena endémica de la familia *Portulacaceae*, que se puede encontrar entre las regiones de Antofagasta y Ñuble, desde la costa hasta la zona precordillerana. Algunas características se presentan a continuación [95]:

- Sus raíces son gruesas, permitiéndole vivir más de un año. Es una hierba perenne de flores de cinco pétalos ovaladas características por su color magenta.
- Las varas florales pueden alcanzar entre 50-70 cm de altura, por lo que tienen un gran valor ornamental, además de un valor ecológico, ya que sus flores atraen diversos polinizadores nativos.
- Respecto a sus condiciones de agua, esta es de tipo secano, donde el periodo sin precipitaciones dura entre 3 y 5 meses. Las precipitaciones alcanzan los 400-800 mm anuales, concentrándose en invierno.
- Suele crecer a plena exposición solar sin protección en zonas rocosas o de alta pendiente.

- La planta no resiste nieve, pero resiste heladas ocasionales no prolongadas de hasta -5 °C (generalmente heladas típicas de centro-sur de Chile). Lo anterior es equivalente a la zona climática 9 de USDA (término creado por el departamento de agricultura de los Estados Unidos, que al español se traduce como *zona de rusticidad* y corresponde a un área geográfica definida en la cual una categoría específica de vida vegetal es capaz de crecer, de acuerdo con las condiciones climáticas, incluida su habilidad para soportar determinadas temperaturas mínimas de la zona [96]).
- Referente a su propagación, las semillas no necesitan tratamiento previo. Se siembran en suelo con buen drenaje a una profundidad recomendada de 1 cm. Pueden germinar en menos de dos semanas, especialmente en condiciones de invernadero. Las plantas producidas desde semilla tardarían tres meses aproximadamente en dar flores.

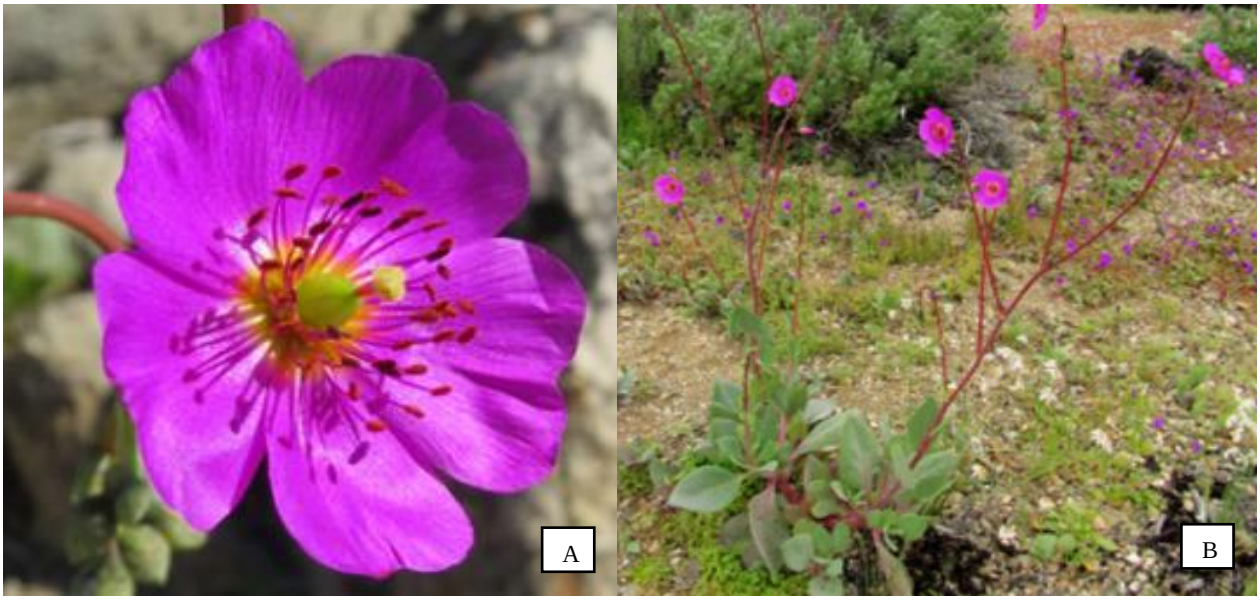


Figura 9: Cistanthe grandiflora (A: Flor; B: Planta y varas florales).

Fuente: Extraído de [95, 117].

3.3.2 Solidago chilensis Meyen var. chilensis

Comúnmente llamada fulel, vara de oro o penacho, es una planta nativa chilena de la familia *Asteraceae*. Esta planta crece desde las regiones de Arica y Parinacota hasta Los Lagos. Algunas de sus características se detallan a continuación [97, 98]:

- Especie herbácea perenne rizomatosa, que alcanza una altura de 40 cm a 1 m, tiene tallos erectos y delgados, densamente hojosos hasta la inflorescencia. Hojas alternas en forma de punta de lanza, enteras y glabras, de 4-8 cm de largo y 0,5-0,8 cm de ancho.
- Sus abundantes flores se disponen formando una vara amarilla de donde deriva su nombre vulgar. Los capítulos son radiados (tipo de inflorescencia en donde el péndulo se ensancha en la extremidad en forma de disco o "cabezuela" con flores en forma de tubo en el centro y numerosas flores en la corola prolongada en láminas alrededor), amarillos, numerosos y perfumados. Presenta una abundante floración durante el verano y otoño. El fruto es un aquenio (fruto seco que contiene una sola semilla, cuya envoltura externa no está soldada a la misma) ligeramente pubescente con papus blanco.
- Prefiere suelos arenosos y húmedos, pero también crece en sitios áridos. Puede estar en zonas con elevación baja y valles del interior entre 500 y los 2000 msnm, común de encontrar en la costa o en laderas de exposición norte en los cordones montañosos de la cordillera de la costa.
- Es de tipo secano, donde el período sin precipitaciones dura 3 y 5 meses. Las precipitaciones alcanzan 400-800 mm anuales, concentrándose en invierno. También puede darse en áreas con precipitaciones constantes, donde los periodos secos son posibles, pero no duran más de 1 mes.
- Crece en condiciones de luz expuesto a pleno sol sin protección. Partes planas o laderas de exposición norte.
- La planta no resiste nieve, pero resiste heladas ocasionales no prolongadas hasta aprox. -5 ° C. Equivalente a la Zona climática 9 de USDA.
- Se propaga vegetativamente por rizomas delgados. Siembra superficial, en sustrato húmedo, con exposición a la luz. Las semillas son pequeñas y apenas deben ser cubiertas con arena o sustrato liviano. Riego con lluvia fina. En condiciones controladas, bajo protección, es posible la siembra durante todo el año, se recomienda una época de siembra a suelo directo desde otoño hasta fin de primavera.
- Planta de excelente valor ornamental. Presenta propiedades medicinales.

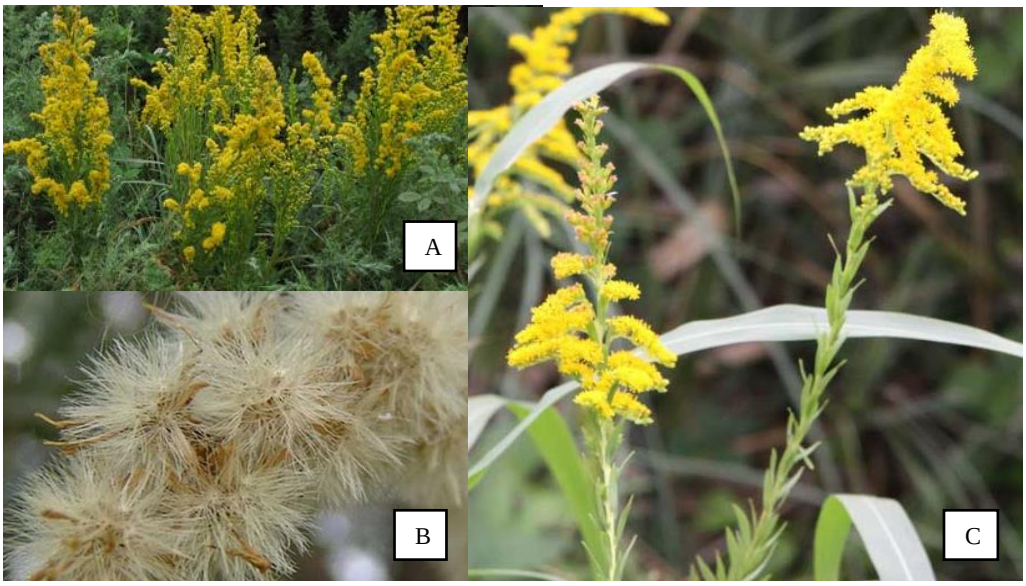


Figura 10: Solidago chilensis var. chilensis (A: Planta entera, B: Fruto, C: Detalle de tallo, hojas e inflorescencia).

Fuente: Extraído de [97, 98]

3.4 Elección del nanomaterial de ingeniería

En el sistema del suelo la toxicidad de los metales depende principalmente de sus especiaciones. Es más fácil que los metales pesados en fracciones no residuales se movilicen por cambios bióticos y abióticos, influyendo negativamente en la salud del ecosistema. Por lo tanto, es importante seleccionar un nanomaterial que proporcione una estrategia de remediación efectiva transformando las fracciones inestables de metales pesados en formas estables [99]. Los criterios de selección del nanomaterial en tanto se basarán en las características necesarias que debe presentar para ser usado en conjunto con la técnica de fitorremediación resumidas en el inciso 2.3.3 del capítulo anterior y de acuerdo con la estrategia de remediación planteada. También se tomará en consideración la síntesis del nanomaterial, la cual debe evitar el uso de sustancias tóxicas y disolventes costosos, es decir, se prefiere la síntesis basada en solución acuosa; y el proceso general debe ser simple y de bajo costo [100].

De acuerdo con la revisión del estado del arte de la técnica de fitorremediación y los nanomateriales de ingeniería utilizados para su asistencia, son las nano partículas de hierro cero valente las que presentan a la fecha el mayor respaldo científico, basado en numerosos estudios con resultados prometedores para el tratamiento de suelos y aguas contaminadas con metales pesados.

Se trata de un nanomaterial de amplio espectro en cuanto a la remediación ambiental, presenta una alta área superficial y elevada reactividad, ha demostrado tener una buena relación costo-efectividad, presenta una opción de síntesis de laboratorio simple y su eficiencia ha sido probada para la remoción de Pb y Cr. Entre los resultados más destacados se encuentra tener una mayor capacidad de convertir los metales desde sus formas más lábiles a fracciones más estables (residuales) en comparación con hierro cero valente granular (ZVI). Este fenómeno de atribuye a la mayor superficie específica que presentan las nanopartículas influyendo en la disminución de la biodisponibilidad, fitotoxicidad y eliminación de los contaminantes en el suelo. Según los estudios, si las nZVI se usan en dosis adecuadas pueden promover el crecimiento y desarrollo de las plantas y disminuir el estrés oxidativo producto de las altas concentraciones de metales, mejorando la capacidad de absorción y translocación de las plantas en comparación con resultados sin la aplicación de nanomateriales, acción que se ve reflejada en obtener mejores indicadores de fitorremediación. Ha demostrado ser eficiente en la estabilización y remoción de los metales indicados como de interés.

Lo anterior es posible gracias a que, a diferencia de los otros nanomateriales estudiados, las nZVI no solo tienen una alta superficie específica, si no que presentan una estructura particular, capaz de oxidar y reducir múltiples contaminantes. El núcleo de las nanopartículas está compuesto por hierro metálico, que actúa como fuente de electrones, promoviendo las reacciones de reducción de los contaminantes, particularmente los iones metálicos. En cuanto a la superficie o corteza de las nZVI se forma a través de la corrosión del núcleo de hierro por el agua y oxígeno durante el proceso de síntesis, aunque su composición exacta depende del método empleado, en medio acuoso, la capa de óxido está formada principalmente por oxihidróxido de hierro (FeOOH) con un espesor de aproximadamente de 3 nm y es muy reactiva, proporcionando un sitio ideal para la adsorción, formación de complejos superficiales de iones metálicos, interacciones electrostáticas y para transporte de los electrones desde el núcleo, desempeñando un papel importante en la eliminación e inmovilización de contaminantes. En la figura 11 es posible observar las diferentes capas que contiene la estructura de las nZVI.

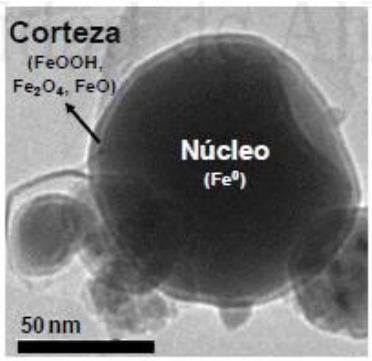


Figura 11: Estructura núcleo-coraza de las nanopartículas de hierro cero valente

Fuente: Imagen obtenida mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM). Adaptación de [101].

La remoción de contaminantes cambia los estados de oxidación de los metales pesados a través de varias reacciones para disminuir la disponibilidad y toxicidad de los contaminantes metálicos para el medio. Los mecanismos específicos de inmovilización o eliminación con que actúan sobre los metales pesados son impulsados por la diferencia entre los potenciales redox estándar (E^0s) de los contaminantes y el hierro. [102].

El hierro de valencia cero es un reductor fuerte, no tóxico y magnéticos, cuyo potencial de reducción es de -0.44 V vs. EHE.;

$$Fe^0 \rightarrow 2e^- + Fe^{+2} \qquad E^o = -0{,}44\,V \qquad (Rx.1)$$

En la figura 12-A se muestra una representación de los posibles mecanismos involucrados.

- En metales con un potencial estándar más positivo que el del hierro (por ejemplo: Cr, As, Cu, U y Se), el principal mecanismo de secuestro es la reducción electroquímica y precipitación.

- Los metales que tienen un E^0 más negativo o similar al de Fe^0 (por ejemplo, Cd y Zn) se inmovilizan por adsorción a los óxidos e hidróxidos de hierro de la corteza superficial.

- Metales con E^0 ligeramente más positivos que Fe^0 (por ejemplo, Pb y Ni) se pueden inmovilizar mediante reducción y adsorción.

- Otros posibles mecanismos son la oxidación y coprecipitación por los óxidos de hierro dependiendo de los factores geoquímicos y condiciones tales como pH, Eh, concentración inicial y especiación de metales contaminantes.

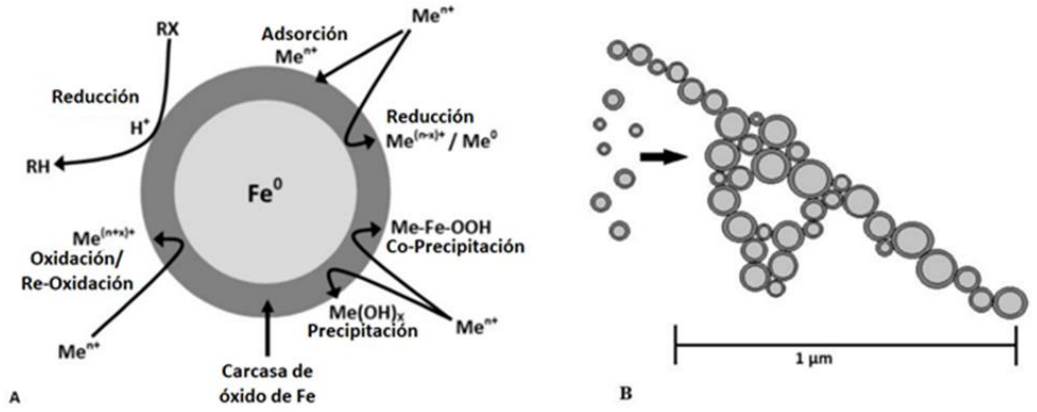


Figura 12:Eliminación de iones metálicos utilizando nZVI. (A) es el mecanismo y (B) fenómeno de aglomeración de partículas.

Fuente: Extraído de [53].

No obstante, el conocimiento sobre sus impactos biológicos y ambientales a escala de campo sigue siendo limitado y debido a su tamaño nanométrico, elevada reactividad y atracción magnética interna, las nZVI tienden a agregarse y ser inestables (figura 12-B), lo que conduce a un deterioro de la actividad, la movilidad y la eficiencia hacia el contaminante, lo que obstaculizaría en gran medida su aplicación [52]. Para contrarrestar las limitaciones que presenta, las nZVI se modifican cada vez con más frecuencia. Los métodos más frecuentes de modificación incluyen la adición de otros metales, el recubrimiento de la superficie, la emulsificación, la deposición de nZVI en un soporte o el encapsulamiento en una matriz [103].

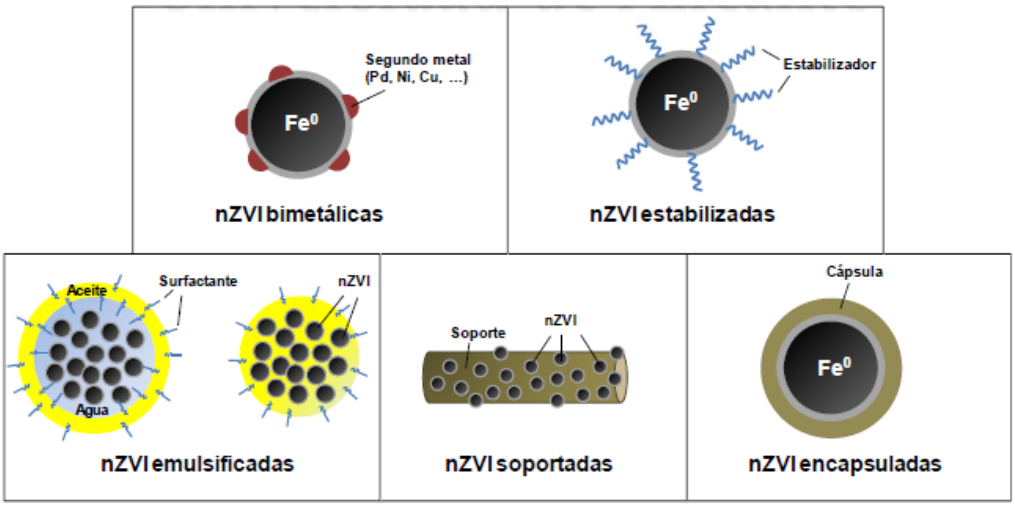


Figura 13 Métodos de modificación de las nZVI.

Fuente: Adaptación de [99].

Sin embargo, algunos de estos métodos pueden inhibir la reacción de nZVI con contaminantes o dotar a nZVI de propiedades indeseables para la remediación ambiental. Por ejemplo, los efectos inhibidores de los tensioactivos probablemente estén asociados con el bloqueo de los sitios reactivos, la reducción de los canales de difusión, la inhibición de la transferencia de electrones desde el núcleo ZVI a los contaminantes y la eliminación de radicales libres reactivos. El uso de partículas bimetálicas puede causar una corrosión más rápida, lo que da como resultado una vida útil más corta, y puede generar problemas ambientales adicionales relacionados con el segundo metal. Alternativamente, la incorporación de materiales de soporte ha demostrado aminorar con éxito las limitaciones antes mencionadas, ya que la preparación de ambos podría conservar las ventajas de ambos componentes e incluso exhibir efectos sinérgicos en la eliminación de contaminantes. La impregnación de biocarbón con nZVI ha ganado popularidad recientemente debido a las propiedades útiles del biocarbón, como la capacidad de adsorber contaminantes y mejorar la reactividad de las nZVI. Es un material rico en diversos grupos funcionales, tiene una gran área superficial, tamaños de poro pequeños en el esqueleto de carbono y buena conductividad eléctrica. Estas propiedades permiten mejorar la estabilidad coloidal de las suspensiones de nZVI, reducir la adherencia a la superficie del suelo y ajustar el tamaño de partícula y las capacidades de corrosión, dispersión y transferencia de electrones de nZVI en el suelo [104].

Se pueden utilizar diferentes métodos para sintetizar nanopartículas de hierro cero valente. Lo más usados son los físicos y químicos. La síntesis física generalmente implica el uso de equipos mecánicos para descomponer materiales de hierro a granel en fragmentos a escala nanométrica sin utilizar procesos complejos ni productos químicos peligrosos. Aunque se pueden preparar nanopartículas de alta pureza de esta manera, también se requieren equipos técnicos relativamente costoso y la estructura superficial de las nanopartículas de hierro sintetizadas por estos métodos puede contener defectos que afectan la eficiencia de la remediación ambiental. En cambio, la síntesis química involucra el uso de un agente reductor para reducir una sal de hierro metálico en una solución acuosa en condiciones inertes. Es la ruta sintética más popular en los laboratorios para producir nZVI a pequeña escala debido a su simplicidad y porque el tamaño, la distribución de tamaño y la morfología de las nanopartículas de hierro se pueden controlar cambiando las condiciones de reacción. El borohidruro de sodio se ha utilizado como agente reductor fuerte para preparar partículas con

una morfología esférica con tamaños de partícula que oscilan entre 30 y 60 nm y un contenido de Fe^0 superior al 95% [105]. Además, esta síntesis permite producir nZVI soportado agregando el material a la solución de iones de hierro antes que el reductor para mejorar eficazmente la estabilidad de las nanopartículas y evitar la aglomeración y pasivación de las nanopartículas de hierro en aplicaciones prácticas.

3.5 Selección de enmienda

Los relaves normalmente tienen baja capacidad de campo, alta salinidad, alta concentración de contaminantes como metales pesados y falta de materia orgánica y macronutrientes, por lo que permanecen sin la estructura normal del suelo y representan un medio pobre para promover el crecimiento natural de las plantas [106]. Para mejorar las características del relave y conseguir un crecimiento autosostenible de las plantas a lo largo del tiempo, es necesaria la adición de nutrientes, enmiendas y/o materia orgánica y conseguir un sustrato adecuado para la técnica de fitorremediación.

Con relación al uso de enmiendas en relaves mineros, según [106] se requiere que cumplan con las siguientes características:

- Deben ser una fuente importante de materia orgánica.
- Deben proveer de nutrientes. Se buscan altos niveles de nitrógeno, fósforo y potasio (NPK).
- No deben constituir un riesgo de contaminación secundaria.
- Deben ser baratos y disponibles.
- Deben mejorar la estructura del suelo, la capacidad de retención de agua y la capacidad de intercambio catiónico.

Las enmiendas que más se suelen utilizar para la fitorremediación de relaves son las orgánicas, debido a que ayudan a disminuir la biodisponibilidad de metales, sirven como proveedores de nutrientes de liberación lenta y actúan como inóculos microbianos. Entre las más utilizadas se encuentran los biosólidos, compost, residuos de la industria maderera, de la industria de la celulosa, guano y residuos de actividades agrícolas.

El compost (C) es un material orgánico que se produce mediante el proceso aeróbico de compostaje en donde los microorganismos descomponen los desechos orgánicos, ya sea material vegetal o desechos animales. Su uso en el proceso de bioestimulación asistida (estrategia de biorremediación) es frecuente dado que otorga una fuente de materia orgánica y nutrientes para estimular el crecimiento microbiano en suelos contaminados con baja fertilidad natural [107].

El biocarbón (BC) corresponde a un material rico en carbono que se produce mediante pirólisis y/o gasificación de materias primas biológicas generalmente derivadas de biorresiduos como la madera, la cama de aves de corral y los residuos de cultivos a temperaturas entre 200 y 700 °C en atmósfera libre de oxígeno.

Ambas enmiendas presentan beneficios similares para el suelo, como mejorar el labrado y reducir la densidad aparente, aumentar la capacidad de retención de agua e intercambio catiónico, reducir la lixiviación de la zona de raíces, mejorar la utilización de fertilizantes, conservar minerales en forma disponible para las plantas, soportar la vida microbiana y la biodiversidad y finalmente ayudar a las plantas a crecer en condiciones desfavorables. El biocarbón tiene importantes efectos al mezclarlo con compost, estudios muestran que hace más rápida la descomposición, favorece la fermentación del compost y el contenido húmico y mejora la entrega de nutrientes a las plantas [108].

De hecho, los NMs a base de hierro pueden reducir los nutrientes disponibles y, en consecuencia, se debe utilizar una enmienda como el compost para contrarrestar este efecto. Por lo tanto, el efecto en conjunto de enmiendas orgánicas combinadas con NMs a base de hierro puede ser apropiado para abordar la remediación de la contaminación compleja [72].

Se seleccionan el compost y biocarbón como enmiendas orgánicas. El BC tiene la capacidad de hacer que las nZVI sea menos inestable y más móvil en los suelos por la distribución de las nanopartículas en su estructura, por lo que se utilizará también como material de soporte en la síntesis de nZVI, ya que se ha probado que contribuye a la eliminación de contaminantes porque puede atenuar los contaminantes en la superficie de nZVI/BC; también mejora la transferencia de electrones de nZVI a los contaminantes objetivo debido a su buena conductividad eléctrica y la dispersión de nZVI [109, 104].

3.6 Diseño de experimento: Sistema de nanofitorremediación

El estudio consiste en diseñar un procedimiento experimental que permita analizar cuál es el efecto del uso de nZVI (en diferentes concentraciones) y enmiendas orgánicas sobre los factores de fitorremediación de las especies *Cistanthe grandiflora* y *Solidago chilensis*. Se propone la aplicación de una alternativa ex situ utilizando macetas bajo condiciones de invernadero dentro de las inmediaciones de la Universidad Técnica Federico Santa María de Valparaíso en un periodo de 7 meses.

Los experimentos se dividen en dos tipos de matrices de sustrato, el primero con una mezcla de relave y compost y el otro con la adición de biocarbón como activador microbiológico y estabilizador de las nZVI. Cada experimento se subdivide según la especie y la dosis de nZVI a adicionar (0, 50, 100, 500 y 1000 ppm). Se utiliza un total de 20 unidades experimentales con un total de 40 plantas (especies en duplicado). De manera complementaria se realiza un plan de seguimiento y monitoreo para comparar información fenotípica y propiedades fisicoquímicas para cada especie. Finalmente, se determinan las concentraciones de Cr y Pb en el sustrato, las raíces y parte aérea de las plantas mediante la técnica de ICP-OES para calcular el % de remoción, el factor de translocación y bioacumulación.

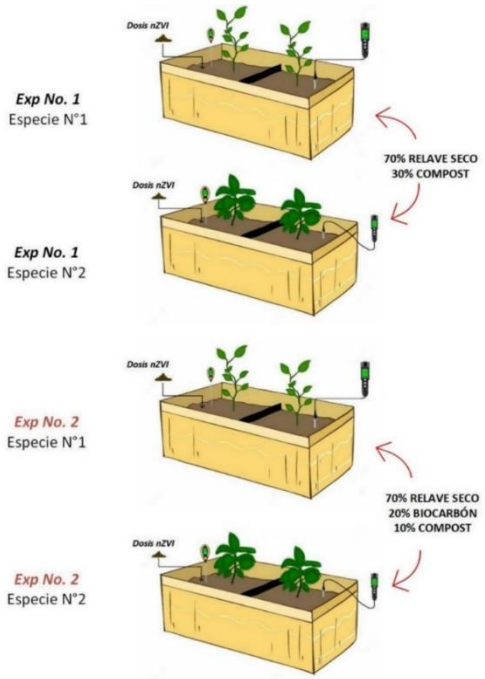


Figura 14: Montaje de cada unidad experimental según tipo de sustrato y especie.

Fuente: Elaboración propia

3.7 Metodología experimental

3.7.1 Síntesis de nZVI

Las nZVI se sintetizan mediante el proceso de precipitación reductora de una sal de hierro acuosa utilizando como agente reductor al borohidruro de sodio ($NaBH_4$) siguiendo el procedimiento presentado por Soto-Hidalgo et al. (2015) [110] y Wang et at. (2019) [111] utilizados en remediación ambiental para la reducción de concentraciones de Cd^{2+}, Pb^{2+}, As^{3+}y Cr^{6+} respectivamente.

En un matraz de bola de tres bocas, como se ilustra en la figura 15 se prepara una solución, se agrega 1 g BC comercial y 0,6 M de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ en 30 mL de etanol (83% v/v) y agua desionizada (17% v/v) por 24 h a temperatura ambiente. Luego, la solución se purga con N_2 durante 30 minutos para eliminar el oxígeno antes de la reacción, con el fin de evitar la rápida oxidación del hierro. Luego, se añade gota a gota 100 mL de una solución acuosa de $NaBH_4$ 0,8 M bajo atmósfera de nitrógeno. Después de 30 minutos de agitación a 700 rpm, la solución se filtra con papel filtro de 0,45 µm al vacío. A continuación, la muestra se lava tres veces con etanol absoluto al 99%. Finalmente, la muestra filtrada se coloca inmediatamente en un desecador de vacío.

Las partículas de nZVI se forman inmediatamente según la siguiente reacción:

$$Fe(H_2O)_6^{+3} + 3BH_4^- + 3H_2O \rightarrow Fe^0 \downarrow + 3B(OH)_3 + 10{,}5H_2 \uparrow \qquad (Rx.2)$$

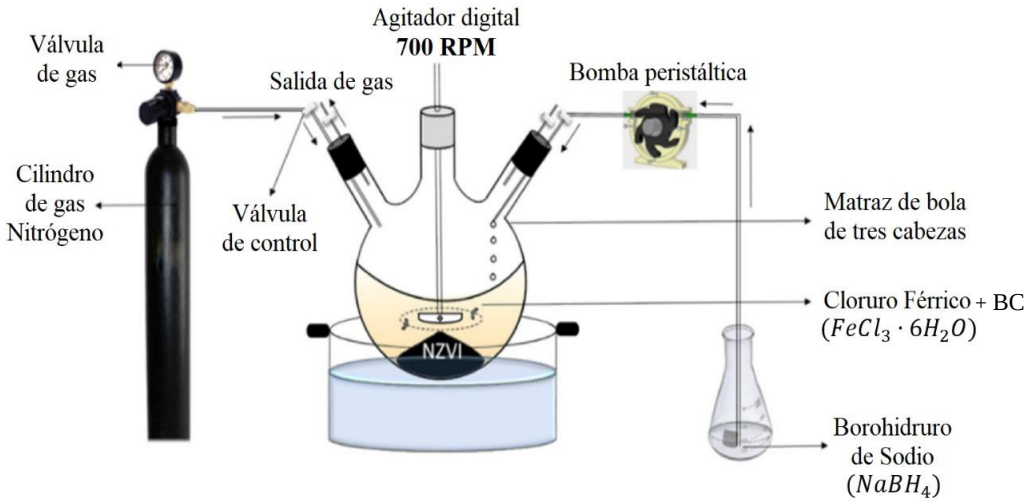


Figura 15: Diagrama esquemático del montaje experimental de la síntesis de nZVI.

Fuente: Adaptación de [112].

Debido a las superficies negativas de BC, el Fe^{2+} y/o el Fe^{3+} pueden absorberse fácilmente en las superficies o formar complejos con los grupos funcionales de la superficie (p. ej., grupos funcionales ácidos desprotonados como –COOH y –OH). A medida que avanza la reducción del Fe^{3+} o Fe^{2+} soluble, se produce la formación de nZVI en la matriz de BC, seguida de la nucleación, en la que la baja movilidad del nZVI adherido a los grupos funcionales de BC impide una fuerte agregación [104]. Respecto a la caracterización del BC-nZVI obtenido según la síntesis estudiada, la morfología de las partículas es esférica con tamaños que oscilan entre 40 y 60 nm adheridos uniformemente a la superficie de BC.

Los parámetros experimentales, como el pH, las concentraciones de los reactivos, la velocidad de agitación, el tiempo de reacción y la temperatura exterior pueden influir, en cierta medida, en la composición y las propiedades superficiales de las partículas de hierro producidas y, por tanto, deben mantenerse constantes en los experimentos para producir muestras consistentes. También, las nZVI deberán ser precipitadas en lo posible inmediatamente antes de su utilización para evitar la oxidación.

3.7.2 Preparación de relave

El relave en pasta se seca en una estufa de laboratorio a 105 °C hasta lograr una masa constante. Luego, la muestra se muele con un molino de bolas y se tamiza por malla con un tamiz de abertura de 2 mm (ASTM No. 10) y se homogeniza.

3.7.3 Germinación de semillas

Con la finalidad de obtener plántulas, se rellena con 64,26 g de sustrato para almácigos y autocultivo comercial (con un 25% de humedad) cada una de las 50 cavidades de las bandejas almacigueras. Se plantan las semillas de cada especie (2 a 3 por cavidad) a 2 cm de profundidad aproximadamente, luego se cubre con una capa ligera de sustrato y se humedece con un rociador dejándolas en condiciones de invernadero entre 2 a 4 semanas, hasta que alcancen la altura deseada. El sustrato debe mantenerse húmedo hasta que las semillas germinen.

Para llevar a cabo el experimento, se requieren 20 plantas de cada especie, por lo que se debe asegurar la germinación de éstas. Después de su periodo de desarrollo inicial, se seleccionan plantas sanas con una altura aproximada de 10 cm y biomasa similar.

3.7.4 Preparación de matriz de sustrato

Se debe realizar preparación del sustrato para el trasplante de plántulas. Se utilizan macetas rectangulares para preparar las matrices de acuerdo con la configuración de sustrato a estudiar.

- *Sustrato N°1 (Exp. N° 1)*: Se agregan 9,5 kg de relave seco y 4 kg de compost comercial (24% de humedad). El sustrato luego se homogeniza.
- *Sustrato N°2 (Exp. N° 2):* Se agregan 9,8 kg de relave seco, adicionando 2,8 kg de biocarbón y 1,4 kg de compost comercial. Luego el sustrato se homogeniza.

Las jardineras se dejan reposar el mismo tiempo que el periodo de germinación (2-4 semanas) en condiciones de invernadero. Este se debe humedecer 1-2 veces por semana con agua corriente en formato aerosol para estar en óptimas condiciones.

3.7.5 Acondicionamiento y trasplante

Finalizado el periodo de preparación de sustrato y una vez que las plántulas alcancen una altura de 10-15 cm, la matriz de sustrato es acondicionada con nanopartículas de hierro cero valente en las diferentes concentraciones (0, 50, 100, 500, 1000 mg/kg) en forma de suspensión. La tabla 7 detalla las cantidades necesarias para cada maceta en función del número de experimento.

Tabla 7: Cantidad necesaria de nZVI por cada maceta según N° de experimento

Concentración de nZVI [mg/kg]	Cantidad necesaria de nZVI Exp. N° 1 [mg]	Cantidad necesaria de nZVI Exp. N° 2 [mg]
0	0	0
50	678	698
100	1.356	1.395
500	6.780	6.975
1000	13.560	13.950

Luego, cada plántula es trasplantada a la matriz de sustrato según el diseño de experimento (duplicado por jardinera) y se deja crecer por 6 meses. Con el fin de entregar a la planta todos los nutrientes necesarios para su correcto desarrollo y crecimiento, se aplica cada 15 días estimulante orgánico foliar en formato aerosol en forma ascendente, asegurando que todas las hojas queden cubiertas (no se recomienda mojar las hojas antes de aplicarlo). El riego se realiza una vez por semana con rociador, una mayor cantidad en la parte aérea y una menor cantidad en el sustrato este sólo debe quedar húmedo, no encharcado.

3.7.6 Cosecha y preparación de muestras

Una vez finalizados los 7 meses de crecimiento de las especies, estas se cosechan. Cada una de las plantas se retira cuidadosamente de las jardineras y se separa en parte aérea y raíz, luego se limpian y se masan por separado, esto permitirá conocer la producción de biomasa de la planta. Se procede a lavarlas, primero con agua corriente, segundo con agua destilada y finalmente agua desionizada para eliminar cualquier resto de relave adherido. El exceso de agua se retira con papel absorbente. Luego, se colocan en sobres de papel mantequilla y se introducen en una estufa a 45 °C, hasta conseguir una masa constante. Posteriormente se muelen y tamizan con tamiz de abertura 1 mm (malla ASTM No. 18) y homogenizan. De las muestras vegetales, tanto para la parte aérea como las raíces, se toman muestras representativas en triplicado mediante técnica de cuarteo para contar con una mayor representatividad.

Por otra parte, la preparación de muestras de relave consiste en eliminar todas las hojas, raíces y restos que podrían haber quedado en el sustrato. Luego se repite el inciso 3.7.2 tomando en triplicado muestras de 100 g para el posterior análisis ICP-OES.

3.7.7 Muestreo y mediciones ICP-OES.

Para determinar la concentración de metales pesados en relaves y plantas, las muestras se someten a dos procedimientos: predigestión y digestión. Para la predigestión de muestras vegetales, primero se masa 0,20 g de muestra en viales de teflón para microondas, se añaden 8 mL de HNO_3 concentrado y 2 mL de H_2O_2 concentrado, se cubren con papel parafilm y se dejan reposar por al menos 4 horas. Luego se digieren 2 veces en un microondas Ethos Easy

durante 20 minutos. El programa de temperatura tiene 3 bloques, donde en el primer bloque de 0 a 10 minutos incrementa la temperatura hasta 180 °C, el segundo comprende de 10 a 20 minutos, que mantiene la temperatura constante en 180 °C y el ultimo es un proceso de enfriamiento durante 10 minutos. En el caso de las muestras de relave, en su predigestión se masa 0,06 g de muestra y se sigue el mismo procedimiento para cada una.

Las muestras digeridas una vez frías (temperatura ambiente) se llevan a aforo de 25 mL con agua desionizada hasta la línea de calibración. Luego del aforo, las muestras son leídas por espectroscopía de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) empleando un equipo de marca Perkin Elmer.

3.8 Materiales y equipos

- -Molino de bolas marca Denver, de características técnicas de 8"x 8". Utilizado para moler el relave seco.
- Estufa de esterilización, marca Quimis, de 65 litros, micro procesada y temperatura programable hasta 300 °C. Utilizada para el secado de relave en pasta y de muestras.
- Tamiz de abertura de 2 mm (número de malla 10 ASTM), marca Gilson de 8" con bastidor y malla de acero inoxidable. Utilizado para homogenizar el relave.
- Tamiz de abertura de 1 mm (número de malla 18 ASTM), marca Gilson de 8" con bastidor y malla de acero inoxidable. Utilizado para homogenizar la muestra de ICP-OES.
- Matraz Schlenk de 500 mL de tres bocas para reacción.
- Papel Filtro, diámetro 47 mm, poro 0,22 μM, tipo S-Pak, marca Millipore.
- Bomba de vacío
- Agitador magnético con placa calefactora
- Desecador al vacío, marca Quimis, de 240 mm con disco cerámico.

Los materiales requeridos para realizar las experiencias de laboratorio se detallan en la siguiente lista:

- Borohidruro de sodio $NaBH_4$ (≥97,0%, grado de reactivo, ACS reagent Sigma-Aldrich)
- Cloruro férrico hexahidratado $FeCl_3 \bullet 6H_2O$ (≥99,0%, grado analítico, VenPure Sigma-Aldrich)

- Etanol (99.5% de anhídrido)
- Agua desionizada
- Gas nitrógeno para generar atmósfera inerte.

3.9 Datos

Los datos que se obtienen a través del equipo que utiliza la técnica del ICP-OES son:

- Caracterización del relave inicial, previo al proceso de nanofitorremediación.
- Concentraciones finales de Pb y Cr de muestra de relave seco, muestras de relave posterior al proceso de nanofitorremediación, sin residuos vegetales.
- Concentraciones de Pb y Cr de las partes aéreas (tallos y hojas) de ambas especies vegetales, muestras obtenidas posterior al proceso de nanofitorremediación.
- Concentraciones de Pb y Cr de las raíces de las plantas de ambas plantas, muestras obtenidas luego del proceso de nanofitorremediación.

3.9.1 Análisis de datos

Con los datos de las concentraciones obtenidas del equipo ICP-OES, se calculan las medias de los triplicados de las concentraciones del relave (inicial y final) y de la planta (parte aérea y raíces), luego se calcula la media entre las medias de cada triplicado, para así obtener un valor por cada tipo de concentración. Con estos datos se procede a calcular el factor de bioconcentración, factor de translocación y el porcentaje de remoción.

Para la aceptación de los datos obtenidos a través del equipo ICP-OES, se realiza un análisis estadístico de las medias de los triplicados de las concentraciones, donde se utiliza la Distribución t de Student, a través de la prueba de t de Student, con la cual se determina si hay o no diferencia significativa entre las medias, con un nivel de confianza de 95 % ($p<0,05$), verificando si los datos obtenidos se encuentran dentro del intervalo de confianza. También se analiza el coeficiente de variación (razón entre la desviación estándar y la media) de las medias de las concentraciones, el cual se determina que debe ser menor o igual 5 %, que indica que la media aritmética es representativa para los conjuntos de los datos y que estos datos son aceptados.

3.10 Plan de seguimiento y monitoreo

Para asegurar una óptima capacidad de fitorremediación es necesario realizar un seguimiento y control del crecimiento, desarrollo y salud de las especies en estudio. En esta oportunidad resulta más relevante dado que aún se encuentra en periodo de estudio la fitotoxicidad del nanomaterial seleccionado.

El plan consiste en la medición semanal de ciertas propiedades fisicoquímicas de las plantas y sustrato y un registro fenotípico de ciertas características con el objetivo de determinar si la presencia de metales pesados-nanotecnología inhiben el desarrollo normal de las plantas y determinar si existe un efecto toxicológico. Lo anterior permitirá tomar decisiones para el correcto desarrollo del experimento y para futuros proyectos que utilicen las especies en cuestión.

A continuación, se detallan las características y propiedades a monitorear:

- *Altura*: Se mide la longitud de las plantas en cm desde la base hasta la parte más alta, así es posible determinar la tasa de crecimiento vertical de la planta.
- *Textura y coloración de hojas*: Según el color que tengan las hojas de las plantas, se compara con el color que deberían tener y se determina si la planta está siendo afectada por algún estimulo, ya sea humedad del sustrato, composición del sustrato, entre otros factores, lo que permite generar un plan de acción. La cualificación será verde (color uniforme en la hoja), verde-amarillo (despigmentación en la hoja), verde-café (coloración café en los bordes de la hoja), amarillo-café (no presenta coloración verde en la hoja, característico del previo marchitamiento) y café (sinónimo del marchitamiento total de la hoja). La caracterización de la textura se realiza por medio del tacto, de acuerdo con la siguiente clasificación: lisa, lisa-seca, seca; estos se definen de acuerdo con el contenido de humedad perceptible al tacto, siendo liso lo más húmedo y seco la falta de humedad total, a punto de caer.
- *Plaga o maleza*: Es necesario realizar control de la presencia de insectos o especies vegetales que pueden afectar y alterar el sistema de nanofitorremediación, para determinar si es necesaria la aplicación de plaguicidas en las plantas. Se califica si es que presenta o no esta condición durante su crecimiento.

- *pH*: Se mide el grado de acidez o alcalinidad de las mezclas de sustrato. Este parámetro permite identificar si las especies están creciendo en un medio adecuado, o si es necesario regular el pH con la adición de enmiendas para no alcanzar valores que puedan afectar el crecimiento de la planta. Se mide con un pH metro.
- *Conductividad:* El valor Eh del sustrato es un índice para determinar la sal soluble en agua. Determina si los iones en el sustrato restringen el crecimiento del cultivo e influyen en el esfuerzo que tiene que realizar la raíz de la planta para absorber los nutrientes de la solución de fertilizantes aportada. Se registra mediante un medidor de conductividad en mS/cm.
- *Humedad*: El monitoreo de la humedad del sustrato es primordial para resolver problemas vinculados a las necesidades de riego de los cultivos. Se mide mediante un indicador de humedad en %.
- *Temperatura:* La temperatura se mide principalmente en la capa superficial del sustrato. La temperatura del suelo afecta al crecimiento y desarrollo de las plantas y la formación del suelo. Las medidas se realizan mediante un termómetro en °C.
- *Producción biomasa:* Una vez pasado el tiempo de experimentación, se realiza un muestreo destructivo de todas las unidades experimentales, pesando la parte aérea de las plantas y sus raíces. Estas serán registradas para cuantificar la producción de biomasa de la especie en g. Se busca realizar un análisis sobre el efecto en el crecimiento de la planta según la concentración de nZVI aplicado para cada especie.

Se registran observaciones extras al proceso de crecimiento de la planta, como por ejemplo florecimiento, caída de flores u hojas, síntomas de pudrición, malos olores, adición de fertilizante y agua, entre otras. Toda información relevante en cuanto al desarrollo de la planta.

Se recomienda llevar un registro fotográfico de todo el proceso para complementar el registro anterior. En el anexo C, se presenta formato de plantilla en plataforma Excel que recopila la información antes descrita, la cual se imprime para tener respaldo de los datos recolectados.

3.11 Especificaciones de diseño

3.11.1 Sistema de invernadero

Los experimentos se llevan a cabo en un invernadero tipo portátil con estantería. Cuenta con iluminación natural que permite proporcionar la temperatura y humedad necesarias para simular las condiciones climáticas de la zona de estudio, considerando que Cabildo es una zona interior de la región a diferencia de Valparaíso que se encuentra en la costa. Es recomendado para proyectos de investigación, principalmente porque se busca conseguir un óptimo rendimiento de la planta minimizando los riesgos de producción como condiciones extremas, vientos y plagas obteniendo finalmente una protección para plantas jóvenes.

3.11.2 Unidades experimentales

Cada unidad experimental consiste en una jardinera rectangular sin orificios inferiores, de medidas 45 cm x 18,5 cm x 13 cm. La maceta contiene la matriz de sustrato de acuerdo con el número de experimento a realizar. Es dividida con acrílico transparente de 4 mm (paredes interiores selladas) para plantar en duplicado. A cada unidad se le aplica la misma cantidad de agua y biofertilizante foliar según lo indicado.

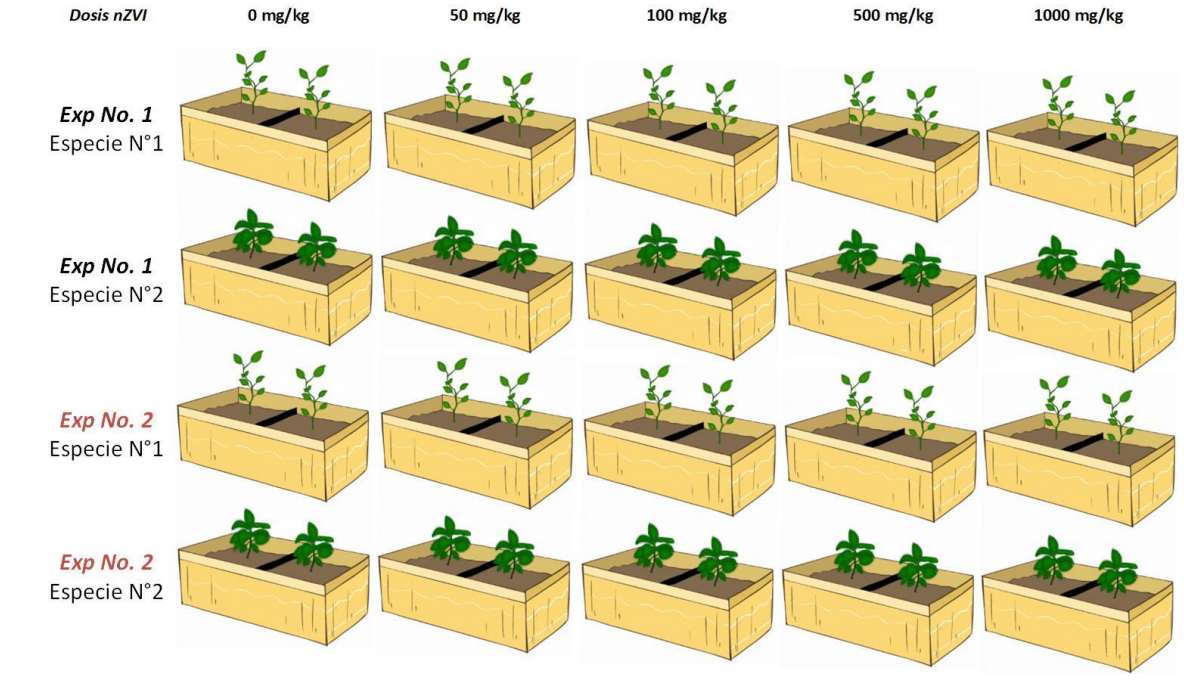


Figura 16: Montaje de la totalidad de unidades experimentales según N° de experimento, especies y dosis de nZVI.

Se propone utilizar un total de 20 macetas, cada una con dos plantas de la misma especie. Son 10 para el experimento No. 1 y 10 para el experimento No. 2, como se ilustra en la figura 16, la cual permite obtener una visión global el experimento.

3.11.3 Matriz de sustrato

La mezcla que constituye el sustrato es depositada en cada una de las unidades experimentales según las configuraciones a estudiar. En el experimento No. 1 la matriz está compuesta en un 70% de relave seco y 30% de compost. Esta composición permite mejorar las propiedades y el aporte nutricional del relave. El experimento No. 2 en tanto cuenta con una composición de sustrato de 70% de relave seco, 20% de biocarbón y 10% de compost. El proveedor de biocarbón informa dentro de su ficha técnica que, para obtener un máximo beneficio especialmente en suelos muy pobres o degradados es recomendado mezclar con 10-20% de algún tipo de materia orgánica como el compost [113].

El volumen de cada jardinera es de 0,011 m^3, el cual es rellenado hasta un 85% de su capacidad con la matriz de sustrato. En las tablas 8 y 9 se presentan las cantidades necesarias de cada componente de la mezcla según cada experimento. Los cálculos respectivos se encuentran el en Anexo B.

Tabla 8: Cantidades necesarios (kg) según composición del experimento No. 1.

Experimento No. 1	Composición de la mezcla de sustrato [%]	Cantidad necesaria por jardinera [kg]	Cantidad necesaria para experimento [kg]
Relave seco	70,00	9,49	94,90
Compost	30,00	4,07	40,70
Total	100,00	13,56	135,60

Tabla 9: Cantidades necesarias (kg) según composición de experimento No. 2.

Experimento No. 2	Composición de la mezcla de sustrato [%]	Cantidad necesaria por jardinera [kg]	Cantidad necesaria para experimento [kg]
Relave seco	70,00	9,76	97,60
Biocarbón	20,00	2,79	27,90
Compost	10,00	1,40	14,00
Total	100,00	13,95	139,50

En la tabla 10, se resumen las cantidades necesarias para la experimentación completa. Cabe mencionar que la composición del relave en pasta de estudio contiene una concentración de sólidos del 83%.

Tabla 10: Cantidades necesarias (kg) para todo el procedimiento experimental.

	Cantidad necesaria para el experimento total [kg]
Relave seco	192,50
Relave en pasta	231,93
Biocarbón	27,90
Compost	54,70

3.11.4 Dosis de nZVI

La selección del rango de concentración de nZVI se basa en el estudio de experimentos previos, que muestran que una concentración de nZVI inferior a 100 mg/kg tiene una influencia insignificante en el crecimiento de las plantas y la absorción de metales. La aplicación de más de 1000 mg/kg de nZVI al suelo muestra efectos inhibitorios severos sobre el desarrollo de las plantas. Por lo tanto, el rango de concentración de nZVI se selecciona entre 50 y 1000 mg/kg de sustrato seco para evaluar los impactos de nZVI en la fitorremediación de sitios contaminados con Pb y Cr. Se espera que los mejores resultados se obtengan a la concentración de 100 y 500 mg/kg de nZVI.

La cantidad necesaria de nZVI por jardinera se calcula en base a la masa total de sustrato según el experimento. Los cálculos se encuentran el en Anexo B y se presenta en la tabla 11, a continuación:

Tabla 11: Cantidad necesaria (kg) de nanomaterial nZVI.

	Masa total por jardinera [kg]	Masa necesaria de nZVI [kg]
Experimento No. 1	13,56	0,045
Experimento No. 2	13,95	0,046
Total	-	0,091

3.11.5 Etiquetado

De acuerdo con la distribución de cada unidad experimental, cada una de las plantas debe contar con un rotulo de identificación. Se rotularán de la siguiente manera:

EX-YZ-W

Figura 17: Formato de etiquetado de plantas

Donde:

$X = N° \ de \ especie; \{1,2\}$

$Y = Tipo \ de \ enmienda; \{C = Compost \ (Exp \ No \ 1), B = Mezcla \ C - BC \ (Exp \ No. 2\}$

$Z = Dosis \ o \ concentración \ de \ nZVI; \{0, 50, 100, 500 \ y \ 1000 \ mg/kg\}$

$W = N° \ de \ réplica \ del \ experimento \ ; \{1,2\}$

Un ejemplo de etiqueta correspondería a ***E1-B100-2***, que viene siendo la planta de especie N°1 en una composición de sustrato del experimento No.2 (70% relave, 20% de biocarbón, 10% compost), 100 ppm de nZVI y es la réplica N° 2 de la unidad. Otro ejemplo sería, ***E2-C50-1***, siendo la planta de especie N° 2, con una matriz correspondiente al experimento N°1 (70% relave y 30% compost), 50 ppm de nZVI y la réplica número uno de la jardinera.

Se utiliza un total de 40 etiquetas, equivalente al número de plantas necesarias para el experimento global.

3.11.6 Espectroscopía de emisión óptica de acoplamiento inductivo (ICP-OES)

La espectroscopía de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo es una técnica de análisis multielemental que provee de una rápida y precisa medición de más de 70 elementos químicos en concentraciones traza en menos de 5 minutos. Es ampliamente utilizada en las áreas de agricultura y alimentos, particularmente en la determinación de metales y posibles contaminantes en suelos, fertilizantes, materias vegetales, alimentos, etc.

El diagrama de la figura Nº18 representa un esquema típico de la técnica, la cual requiere de una fuente de radiación, un sistema de introducción de la muestra, sistema de alimentación de gas, un sistema óptico, un detector y la correspondiente electrónica para adquisición, procesamiento y edición de resultados.

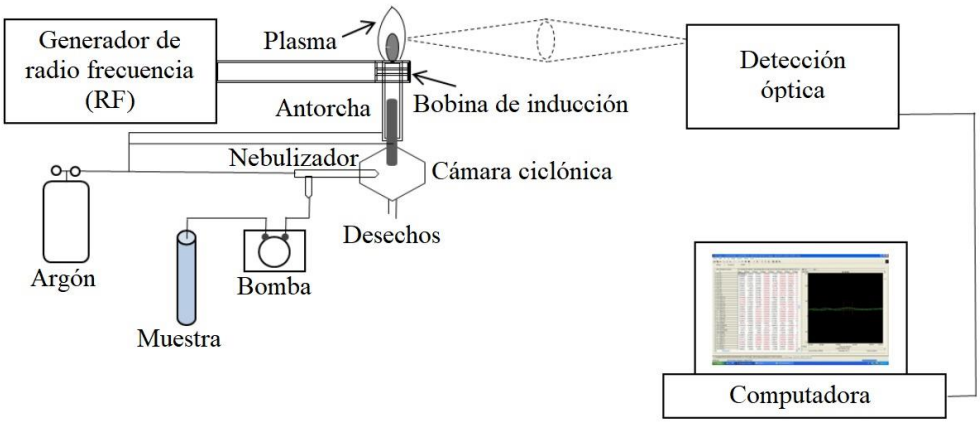


Figura 18: Esquema típico de la técnica ICP-OES.

Fuente: Adaptado de [114].

La muestra, en forma líquida, es transportada por medio de una bomba peristáltica hasta el sistema nebulizador donde es transformada en aerosol gracias a la acción de gas argón. Dicho aerosol es conducido a la zona de ionización que consiste en un plasma generado al someter un flujo de gas argón a la acción de un campo magnético oscilante inducido por una corriente de alta frecuencia. En el interior del plasma se pueden llegar a alcanzar temperaturas superiores a los 8.000 K permitiendo la atomización completa de los elementos en la muestra y minimizando las potenciales interferencias químicas. En estas condiciones, los átomos presentes en la muestra son ionizados/excitados. Al volver a su estado fundamental, estos iones o átomos excitados emiten radiaciones de una longitud de onda que es característica de cada elemento. Esta radiación pasa a través de un sistema óptico que separa la radiación según su longitud onda. A continuación, un detector mide la intensidad de cada una de las radiaciones relacionando esta con la concentración de cada elemento en la muestra [115].

3.12 Listado de equipos requeridos

Para la implementación y monitoreo de sistema de nanofitorremediación y llevar a cabo los objetivos se necesita:

- Medidor digital de conductividad eléctrica de sustrato.
- Medidor digital de temperatura de sustrato.
- Medidor digital de humedad de sustrato.

- Medidor digital de pH de sustrato.
- Medidor digital de temperatura y humedad ambiental.
- Plataforma de pesaje.

3.12.1 Especificaciones de equipos

- Medidor digital portátil de pH/conductividad (CE)/sólidos totales disueltos (TDS) y temperatura.

Figura 19: Medidor portátil de pH/CE/TDS

Tabla 12: Especificaciones medidor digital portátil de pH, CE, TDS y temperatura.

pHmetro/Conductímetro de sustrato	
Marca/Modelo	Hanna instruments/HI9813-5
Rango/Resolución de pH	0,0 a14,0/0,1
Rango/Resolución de CE	0,00-4,00/0,01 mS/cm
Rango/Resolución de TDS	0 a 1999/(1) ppm/(mg/L)
Coeficiente de corrección de temperatura	2 °C
Otras características	- Resistente al agua - Pantalla retroiluminada LCD - Alarma de batería baja - Calibración manual - Compensación automática de temperatura

- Medidor de pH/humedad/temperatura/Intensidad de la luz solar.

Figura 20: Medidor de pH/humedad/temperatura/Intensidad de la luz solar

Tabla 13: Especificaciones medidor de pH/humedad/temperatura/Intensidad de la luz solar.

Medidor de pH/humedad de sustrato	
Marca	Soil Survey Instrument
Material	Plástico/Acero inoxidable
Rango de medición pH	3,0-9,5
Rango de medición de temperatura	-9 °C a 50 °C -9 °F a 122 °F
Rango de medición de contenido de humedad	DRY^{+}.DRY, NOR, WET, WET^{+} (5 niveles)
Rango de medición intensidad de luz solar ambiente	Low, LOW, LOW^{+}, nOR, NOR, NOR^{+}, hGH, HGH, HGH^{+} (9 niveles)
Longitud de onda	200 mm
Batería	9 V
Otras características	- Resistente al agua - Pantalla LCD retroiluminada - Alarma de batería baja - Apagado automático - Cubierta protectora

- Termómetro/Higrómetro digital.

Figura 21: Termómetro/Higrómetro digital

Tabla 14: Especificaciones termómetro/Higrómetro digital.

Termohigrómetro de ambientes	
Marca/Modelo	HTC-2
Material	Plástico
Resolución temperatura	0,1 °C
Resolución humedad	1 %
Rango de medición de temperatura	-50 °C a 70 °C
Rango de medición humedad relativa	1 – 100 %
Otras características	- Pantalla LCD - Baterías estándar AAA (1,5 V) - Sonda de temperatura exterior (1,3 metros) - Función de reloj, calendario y alarma

- Plataforma de pesaje.

Figura 22: Plataforma de pesaje

Tabla 15: Especificaciones plataforma de pesaje.

Plataforma de pesaje	
Marca/Modelo	Industrial Center/T-289
Material	Bandeja acero inoxidable
Resolución	5 g
Capacidad máxima	30 kg
Otras características	- Soporte metálico/ Pantalla LED - Función de tara - Ideal para productos sólidos, envasados o empacados

3.13 Insumos y materiales

Los principales insumos son los siguientes:

- Semillas:

Todas las plantas son adquiridas en un centro de jardinería especializado en flora autóctona y endémica (Chileflora.com).

Tabla 16: Especificaciones semillas de estudio.

	Especie	Cantidad de semillas
Especie N°1	*Cistanthe grandiflora*	200
Especie N°2	*Solidago chilensis*	200

- Jardinera o macetas rectangulares:

Figura 23: Jardineras rectangulares

Tabla 17: Especificaciones jardineras rectangulares.

Jardinera	
Material	Plástico
Dimensiones	45 cm x 18,5 cm x 13 cm
Capacidad máxima	0,010 m^3
Otras características	- Disponibilidad de colores - Material ultra resistente - No trae orificios - No incluye plato inferior

- Kit de herramientas:

Figura 24: Kit de herramientas de jardín

Tabla 18: Especificaciones herramientas de jardín.

Kit de herramientas de jardín	
Marca	Huertos Alma
Material	Acero y madera
Medidas	Pala: 35 cm Tridente: 35 cm Rastrillo: 30 cm
Otras características	- Permitan sembrar, trasplantar y limpiar plantas - Mango acolchado antideslizante

- Bandeja de almácigos:

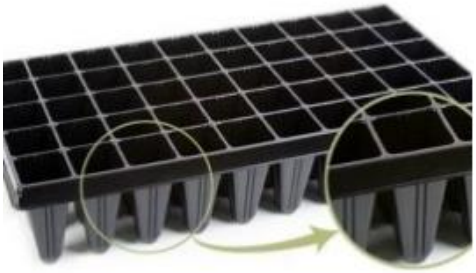


Figura 25: Bandeja almaciguera

Tabla 19: Especificaciones bandeja almaciguera.

Almaciguera	
Marca	Huertos Alma
Material	Plástico
Dimensiones	Altura: 11,2 cm; Dia. sup: 5 cm; Dia. inf: 1,5 cm
Volumen cavidad	200 cm^3
Número de cavidades	50

- Pulverizador:

Figura 26: Pulverizador/Rociador

Tabla 20: Especificaciones pulverizador/rociador.

Pulverizador	
Marca	Huertos Alma
Material	Plástico
Dimensiones	Altura: 31 cm; Ancho: 18 cm; Dia: 13 cm
Capacidad volumétrica	2 litros
Características	- Boquilla de jet a niebla fina, totalmente ajustable - Cabezal pulverizador/Rociador - Recomendado para aplicación foliar

- Acrílico transparente:

Figura 27: Acrílico transparente

Tabla 21: Especificaciones acrílico transparente

Bolsas plásticas	
Marca	Novoacril
Material	Acrílico transparente 4 mm
Dimensiones	80 cm x 60 cm
Características	- Material impermeable con gran resistencia a diversos eventos climáticos y radiación

- Etiquetas:

Figura 28: Etiquetas de plantas

Tabla 22: Especificaciones etiquetas.

Etiquetas	
Marca	Huertos Alma
Material	Plástico PVC
Dimensiones	7 cm x 5 cm (identificación: 5 cm x 2,5 cm)
Tipo	Etiqueta tipo “T”
Características	- Material durable y reutilizable - Fáciles de limpiar

- Guantes:

Figura 29: Guantes multipropósito

Tabla 23: Especificaciones guantes.

Guantes	
Marca	Huertos Alma – Resistor
Modelo	Flex 70
Material	Poliéster
Tipo	Etiqueta tipo “T”
Características	- Multipropósito - Aplicación de poliuretano rugoso en la palma, lo que permite excelente agarre, destreza y sensibilidad al tacto - Certificado

- Biocarbón:

Figura 30: Biocarbón

Tabla 24: Especificaciones biocarbón.

Biocarbón	
Marca	Chakrana
Contenido	3 kg
pH	8,8
Densidad aparente	750 kg/m^3
Conductividad eléctrica	2,52 ms/cm
Carbono total	14,78%
Materia orgánica	39,11%
Carbono orgánico	22,74%
Relación C/N	32,56

- Compost:

Figura 31: Compost

Tabla 25: Especificaciones compost.

Compost	
Marca	Vuelta verde
Contenido	25 kg
pH	7-8
Densidad aparente	700 kg/m^3
Conductividad eléctrica	3 Ds/m
Humedad	24%
Nitrógeno total	1,1%
Materia orgánica	45%
Carbono orgánico	26%
Relación C/N	30

- Sustrato para almácigos:

Figura 32: Sustrato de huerto y autocultivo

Tabla 26: Especificaciones de sustrato.

Sustrato huerto y autocultivo	
Marca	Vuelta verde
Contenido	7 kg
pH	6,5-7,5
Densidad aparente	357 kg/m^3
Conductividad eléctrica	3,5 mS/cm
Humedad	25-35%
Materia orgánica	>20%
Material inerte	≦5%
Relación C/N	< 30

- Fertilizante

Figura 33: Biofertilizante

Tabla 27: Especificaciones biofertilizante.

Biofertilizante	
Nombre	Stimplex
Composición	Algas marinas (*Ascophyllum nodosum*)
Fabricante	Acadin Agritech
Distribuidor	Anasac Chile S. A
Volumen	0,001 m^3
pH	7,3-8,2
Densidad (20 °C)	1120 kg/m^3
Nitrógeno total	0,1% p/p
Ácido fosfórico disponible	0,0% p/p
Potasio soluble	4,0% p/p
Solubilidad en agua a 20 °C	100%
Toxicidad	No tóxico

3.14 Requerimiento de obra civil

Se requiere una estructura tipo invernadero armable de 3 m^2 para el almacenamiento y protección de las unidades experimentales, monitorear las condiciones climatológicas y guardar los implementos e insumos de jardinería. Se instala sobre una superficie plana de gravilla dentro de las dependencias de la Casa Central de la Universidad Técnica Federico Santa María.

Corresponde a una estructura sólida de tubos de acero con recubrimiento (diámetro de 16 mm y 0,2 mm de grosor) que forman un sistema de estantería de dos niveles en su interior con repisas doble malla que soporta más de 25 kg cada uno. Para asegurar la estabilidad del invernadero, este cuenta con 6 estacas tipo U para fijar el marco al terreno. En la parte inferior de la estantería, se guardan los insumos de jardinería (sustrato, fertilizante, compost, biocarbón) y en una caja plástica se almacenan todos los instrumentos de medición, pulverizador, elementos de jardinería, entre otros. La cubierta verde es de polietileno (PE) de baja densidad con rejilla roscada, esta cuenta con una puerta enrollable con cremallera para facilitar el acceso o cierre del invernado creando un espacio perfecto para el óptimo desarrollo de las plantas en estudio.

A continuación, en la figura 34 se presenta la estructura con sus dimensiones y estructura interna:

Figura 34: Estructura de invernadero (Izquierda: Dimensiones; Derecha: Armazón interno)

3.15 Ubicación

Se instala en dependencias del 3er piso del edificio P de la Casa Central de la Universidad Técnica Federico Santa María, a un costado del ingreso a las oficinas administrativas del Centro de Actividades de Extensión (CENADE), también conocido como patio de gravilla del edificio. Como es posible ver en las figuras 35 y 36, el patio cuenta con suficiente espacio para la instalación del invernadero y acumulación de material de estudio. Cabe destacar que a unos cuantos metros de la instalación se encuentra habilitado un servicio sanitario.

Figura 35: Ingreso instalación de invernadero

Figura 36: Patio de gravilla, lugar de instalación de invernadero

3.16 Layout

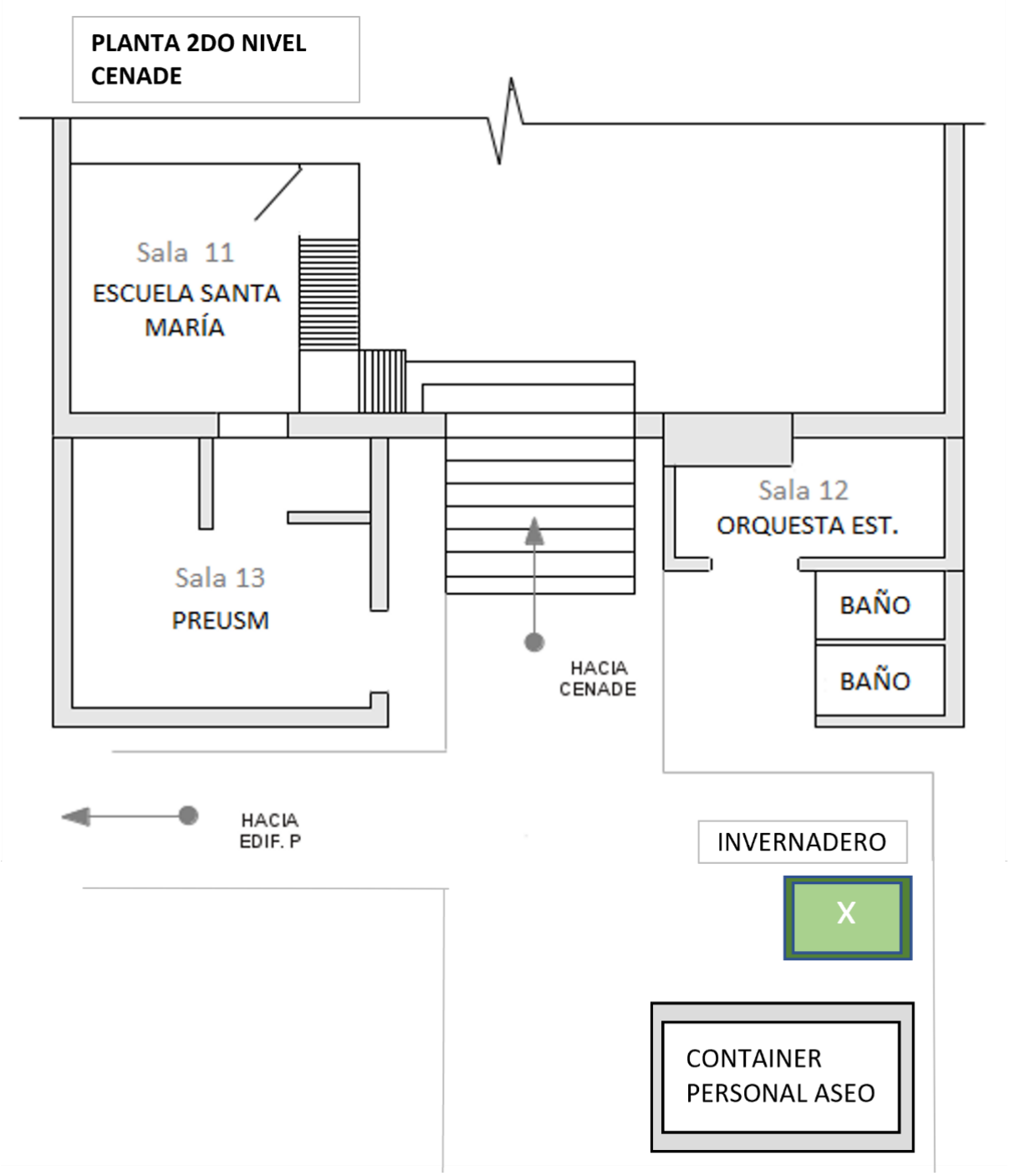


Figura 37: Layout de la propuesta (en verde).

3.17 Residuos

Los principales residuos generados en el sistema de fitorremediación asistido con nanomateriales son sólidos. No se considera la generación de residuos líquidos y gaseosos.

Al finalizar la etapa de experimentación, el residuo de mayor volumen corresponde a las matrices de sustrato utilizadas. Este puede contener concentraciones considerables aún de metales pesados, por lo que dependiendo de la magnitud estos pueden ser depositados libremente en la naturaleza sin algún perjuicio, de lo contrario deben ser tratados y depositados en algún lugar adecuado.

Otro de los residuos generados durante el proceso de fitorremediación, pero en menor medida, es la materia vegetal, como hojas caídas, ramas, flores provenientes de las plantas en estudio. Estos son depositados en un contenedor al exterior del invernadero, no deben ser mezclados con otros tipos de residuos y se mantienen en el contenedor hasta su posterior tratamiento y disposición, por ejemplo, la incineración y depósito de cenizas en relleno sanitario.

Por último, es importante considerar todo el material plástico utilizado en el experimento. Se debe evaluar su condición para determinar si son aptos para reciclaje en lugar autorizado o posible reutilización en otro proyecto.

CAPÍTULO IV

4. ESTUDIO ECONÓMICO

Para evaluar la propuesta experimental de nanofitorremediación a corto plazo como alternativa ex situ en la remediación de relaves, se deben tener en cuenta lo siguiente: la metodología para la evaluación económica es la estimación de costos asociados al tratamiento por kg de relave, se utiliza el peso chileno como unidad monetaria para la cotización de equipos e insumos y se realiza una sensibilización del proyecto respecto a la compra del nanomaterial en el mercado.

4.1 Moneda para la evaluación

Para realizar la evaluación económica se utilizará el peso chileno (CLP) como moneda de cambio. Esto se debe a que la compra de insumos, infraestructura requerida y adquisición de equipos se realizará en el mercado local y su estructura de costos se ve afectada en tanto por el peso chileno. La nula utilización del mercado extranjero hace innecesaria la utilización de otra moneda en el análisis económico.

4.2 Alternativa de financiamiento

Las alternativas de financiamiento generan oportunidades de costear en su totalidad o una fracción de la inversión inicial de un proyecto. Estos normalmente son cubiertos por fondos propios, concursables, provenientes de inversionistas (ajenos o independientes de la empresa) o de bancos.

Para el presente estudio, las alternativas de financiamiento son las siguientes:

- Totalidad del financiamiento con fondos propios de la empresa generadora de relaves.
- Financiamiento parcial de la inversión mediante fondos concursables, completando con recursos propios de la empresa generadora de relaves.

Los fondos a los cuales podría concursar como proyecto son Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) y Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDEF), ambos programas de la ex Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), pertenecientes a la ANID del Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación con sus programas de proyectos de investigación e investigación aplicada e innovación como la Valoración de la Investigación en la Universidad (VIU) la cual fortalece el vínculo entre la comunidad estudiantil, investigadores y empresas.

Para el desarrollo del estudio económico se considerará que la totalidad del financiamiento se realiza mediante fondos propios de la empresa generadora de relaves.

4.3 Listado de inversión

A continuación, en la tabla 28 se detallan los costos asociados a la inversión inicial de la propuesta, la cual considera la adquisición de la obra civil requerida, equipos de instrumentación y material de laboratorio, para los cuales se realizaron cotizaciones en línea.

Tabla 28: Detalle de inversión inicial.

Inversiones	Cantidad	Precio unitario [CLP]	Precio total [CLP]
Obra civil			
Invernadero portátil	1	$ 179.990	$ 179.990
Equipo de instrumentación			
Conductímetro/pHmetro	1	$ 278.460	$ 278.460
Medidor de humedad	1	$ 18.990	$ 18.990
Termómetro/Higrómetro	1	$ 5.000	$ 5.000
		Subtotal	**$ 302.450**
Material de laboratorio			
Plataforma de pesaje	1	$ 154.700	$ 154.700
Molino de bolas	1	$ 3.000.000	$ 3.000.000
Estufa	1	$ 739.110	$ 739.110
Tamices	2	$ 100.000	$ 200.000
Agitador magnético con placa calefactora	1	$ 182.121	$ 182.121
Desecador	1	$ 65.600	$ 65.600
		Subtotal	**$ 4.341.531**
		Total	**$ 4.823.971**

4.4 Listado de insumos

En la tabla 29, se detallan los insumos requeridos para dar inicio al proyecto, los que corresponden a la síntesis del nanomaterial escogido y el procedimiento experimental. Se realizaron cotizaciones en línea en empresas especialistas en el sector agrícola y jardinería (huertosalmas.cl, vueltaverde.cl y la tienda de semillas de Chileflora.cl).

Tabla 29: Detalle costos de insumos.

Insumos	Cantidad	Precio unitario [CLP]	Precio total [CLP]
De laboratorio			
Borohidruro de sodio 100 g	4	$ 88.400	$ 353.600
Cloruro férrico 100 g	6	$ 79.500	$ 477.000
Etanol 2,5 L	2	$ 19.700	$ 39.400
Nitrógeno gaseoso (arriendo 2 m^3)	1	$ 65.450	$ 65.450
Agua desionizada 5 L	3	$ 2.490	$ 7.470
		Subtotal	**$ 942.920**
De experimento			
Semillas de *Cistanthe grandiflora*	200	$ 19	$ 3.750
Semillas de *Solidago chilensis*	200	$ 19	$ 3.750
Jardineras rectangulares	22	$ 1.860	$ 40.920
Bandeja de almacigo	2	$ 3.500	$ 7.000
Acrílico transparente	1	$ 24.000	$ 24.000
Etiquetas reutilizables	50	$ 99	$ 4.950
Pulverizador	1	$ 6.990	$ 6.990
Kit de herramientas	1	$ 3.990	$ 3.990
Guantes	1	$ 2.590	$ 2.590
Caja de almacenamiento plástica	1	$ 10.990	$ 10.990
		Subtotal	**$ 108.930**
Matriz de sustrato			
Biocarbón 3 kg	10	$ 9.990	$ 99.900
Compost 25 kg	3	$ 5.990	$ 17.970
Sustrato autocultivo 7 kg	1	$ 3.800	$ 3.800
Biofertilizante 1 L	1	$ 16.060	$ 16.060
		Subtotal	**$ 137.730**
		Total	**$ 1.189.580**

4.5 Detalle de costos

4.5.1 Costos iniciales

Al inicio del experimento, se consideran otros costos como:

- Transporte de relave en pasta hasta las instalaciones de la Universidad Técnica Federico Santa María. Para esto se debe arrendar una camioneta de tracción 4X2 (capacidad de carga de 1000 kg) en la empresa TRANSREGO Rent a Car, con sucursal en General Mitre 560, Valparaíso. Este gasto considera el arriendo del vehículo, el chofer-cargador y diésel.
- Instalación de invernadero en las inmediaciones de la universidad. Consiste en el montaje y armado de la estructura. Se considera un aporte monetario a quien realice el trabajo.

Tabla 30: Detalle de costos iniciales

Costos iniciales [CLP]		
Transporte de relave en pasta		
Arriendo camioneta	$	48.990
Chofer	$	30.000
Diésel	$	15.615
Subtotal	**$**	**94.607**
Instalación invernadero		
Montaje y armado	$	25.000
Total	**$**	**119.607**

4.5.2 Costos fijos

Para el correcto desarrollo del proyecto se consideran otros costos asociados como:

- Se requiere una persona encargada del proyecto que cumpla las laborales de mantención y pueda llevar a cabo del plan de seguimiento y monitoreo propuesto en el apartado 3.10 del capítulo anterior. Se considera un pago de $100.000 mensual.
- Al final del experimento, se requiere realizar el análisis de muestras detalladas en los apartados 3.7.6 y 3.7.7 mediante la técnica de ICP-OES.

A continuación, en la tabla 31 se presenta los costos adicionales asociados al proyecto:

Tabla 31: Detalle costos fijos

Costos fijos [CLP]		
Mantención	$	700.000
Análisis de muestras	$	2.000.000
Total	**$**	**2.700.000**

Finalmente, la tabla 32 resume los costos de la implementación de la propuesta experimental del estudio de fitorremediación asistida con nanomateriales y enmiendas orgánicas.

Tabla 32: Resumen costos del estudio experimental de nanofitorremediación.

Costos	Total [CLP]
Inversión	$ 4.823.971
Insumos	$ 1.189.580
Costos iniciales	$ 119.607
Costos fijos	$ 2.700.000
Total proyecto	**$ 8.833.158**

4.6 Flujo de caja

En la figura 38 se muestra un esquema representativo del flujo de caja en el horizonte de estudio:

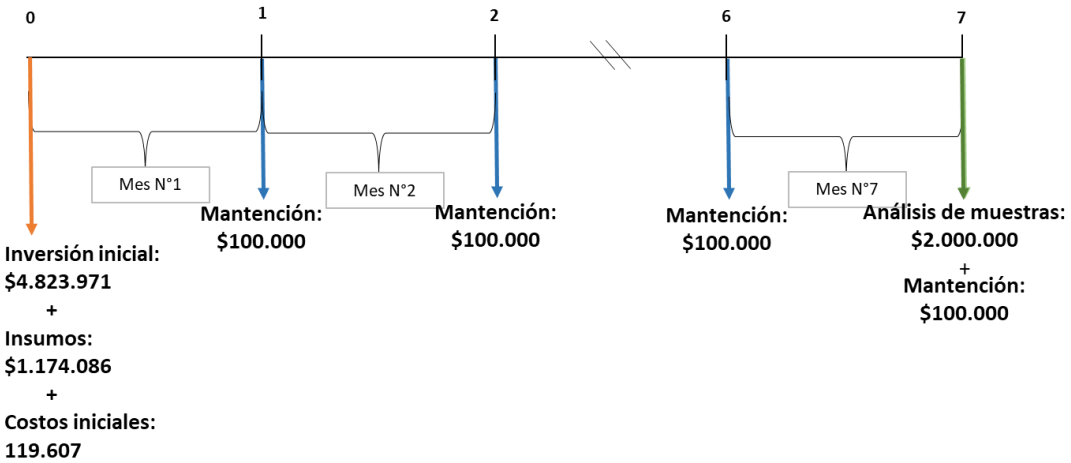


Figura 38: Flujo de caja de gastos simplificado

4.7 Evaluación de costos

La propuesta de fitorremediación asistida con nanomateriales de ingeniería y enmiendas orgánicas es una tecnología que requiere un costo de inversión inicial de $4.823.971, puesta en marcha e insumos de $1.293.693, una mantención de $700.000 y costos asociados al análisis de muestras de $2.000.000. Finalmente, el tratamiento tiene un costo total de $8.833.158, obteniéndose un costo unitario de 45.887 CLP/kg de relave seco tratado. En la tabla a continuación, se presentan costos de tecnologías asociadas a la remediación de suelos con metales pesados:

Tabla 33: Costos comparativos de diferentes tecnologías de remediación por unidad métrica de sustrato tratado

Tipo de tecnología	Costo [CLP/m^3]
Vitrificación	$ 324.000
Solidificación	$ 129.000 – $ 267.000
Remediación electrocinética	$ 125.000
Lavado de suelos	$ 75.000 - $ 200.000
Biotransformación de metales	$ 27.000 - $ 113.000
Fitorremediación	$ 5.500 - $ 9.000
Fitorremediación*	$ 15.000 - $54.000

*Fuente: Adaptada de [29] y [116]**

Es importante recalcar que la propuesta corresponde a una experimentación de laboratorio en donde se tratan menos de 200 kg de relave, por lo que el costo de tratamiento no es necesariamente representativo en la comparación con las tecnologías presentadas en la tabla 33. Dichas tecnologías, en su mayoría fisicoquímicas, se caracterizan por presentar altas tasas de eficiencia en el proceso, la generación de contaminación secundaria y requieren de costos superiores para su implementación, por ejemplo, la vitrificación, que según la tabla anterior puede llegar a ser hasta 59 veces más costosa que la fitorremediación.

4.8 Análisis de sensibilidad

La adquisición de equipos e insumos para la síntesis de nZVI representa un 13,5% de la inversión total del proyecto. Se realiza un análisis de sensibilidad del porcentaje de inversión total considerando la compra del nanomaterial en el mercado. La marca Sigma-Aldrich, especialistas en la producción de materiales y reactivos químicos, a través del proveedor Merck comercializa el producto y se encuentra disponible en formato de 5 g y 25 g con diferentes tamaños de partícula. El precio final del nanomaterial se ve fuertemente influido por el tamaño de partícula, como se puede ver en la tabla 34 a continuación:

Tabla 34: Cotización nanopartículas de hierro cero valente en diferentes tamaños de partícula.

Insumos	Cantidad	Precio unitario [CLP]	Precio total [CLP]
Nanopartículas de hierro cero valente 5 g 25 nm	19	$ 69.100	$ 1.312.900
Nanopartículas de hierro cero valente 5 g 35-45nm	19	$ 55.700	$ 1.058.300
Nanopartículas de hierro cero valente 25 g 40-60 nm	4	$ 182.000	$ 728.000

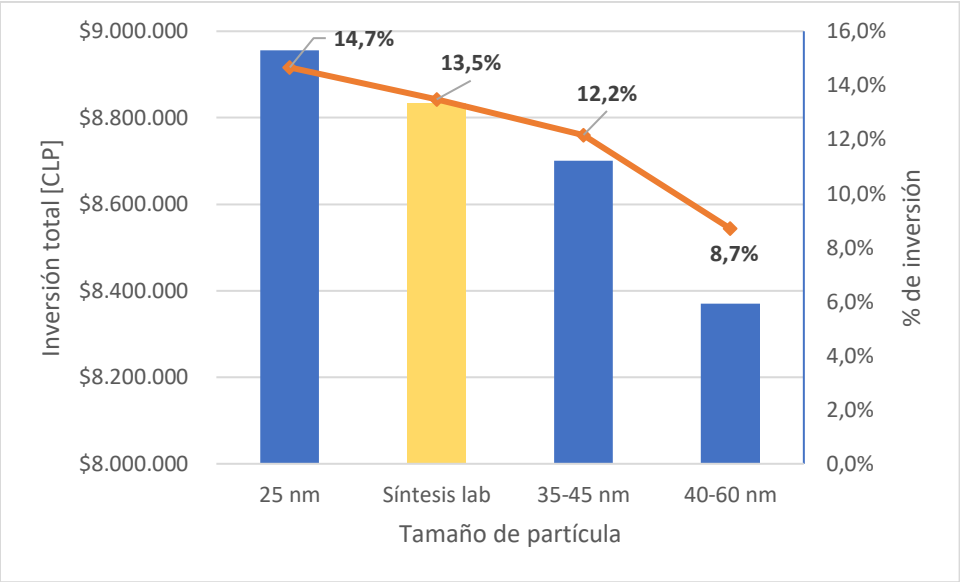
Se realiza el cálculo para cada alternativa de compra según el tamaño de partícula, evidenciando una relación inversamente proporcional, vale decir, que a medida que el tamaño de partícula disminuye, el costo de insumos se ve aumentado, en consecuencia, también la inversión total. Esta información es relevante para el estudio puesto que el tamaño de partícula podría influir en la eficiencia del proceso de fitorremediación.

El tamaño nanométrico mejora la movilidad del nanomaterial a través del medio poroso, en el caso de las especies vegetales, el tamaño de las nanopartículas interviene en su absorción y translocación al interior de las células, y particularmente las nZVI presentan una tendencia a aglomerarse perdiendo reactividad y movilidad, lo que influye directamente en la eficiencia del proceso de nanofitorremediación.

Tabla 35: Análisis de sensibilidad precio nanomaterial vs % de inversión total

Insumos	Precio total [CLP]	Inversión total [CLP]	% Inversión total
Síntesis de nZVI en laboratorio	$ 1.190.641	$ 8.833.158	13,5%
Nanopartículas de hierro cero valente 5 g 25nm	$ 1.312.900	$ 8.955.417	14,7%
Nanopartículas de hierro cero valente 5 g 35-45nm	$ 1.058.300	$ 8.700.817	12,2%
Nanopartículas de hierro cero valente 25 g 40-60 nm	$ 728.000	$ 8.370.517	8,7%

Desde la tabla 35, se puede observar el comportamiento del porcentaje de la inversión que requiere la adquisición del nanomaterial comercial, destacando que la compra de un tamaño de partícula en promedio de 50 nm podría reducir el % de inversión total del proyecto de un 13,5% a un 8,7%.



Gráfica 5: Análisis de sensibilidad del % de inversión vs tamaño de partícula (En amarillo caso base).

Finalmente, en la tabla 36 se muestra la variación porcentual de la inversión total respecto al caso base que contempla la síntesis en laboratorio de nZVI, considerando que como inversión inicial se debe comprar y/o arrendar equipamiento específico de alta calidad.

Tabla 36: Variación % de inversión (Respecto al caso base: Síntesis de nZVI en laboratorio).

Nanomaterial	Diferencia inversión [CLP]	Variación inversión total
nZVI (25nm)	$ 122.259	1,2%
nZVI (35-45nm)	- $ 132.341	-1,3%
nZVI (40-60 nm)	- $ 462.641	-4,8%

Según la información anterior, la alternativa de comprar las nanopartículas de 40-60 nm resulta la más conveniente desde el punto de vista económico, puesto que permite reducir el costo del tratamiento, disminuyendo el valor de la inversión total del proyecto en un 5%.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES

En base a los objetivos previos mencionados, este capítulo tiene por finalidad extraer las principales conclusiones que dan cuenta de los aspectos más relevantes en el desarrollo de este proyecto de memoria, las cuales se detallan a continuación.

El estudio buscaba abordar mediante la revisión bibliográfica soluciones a la problemática actual que representan los pasivos ambientales mineros. El desarrollo de nuevas tecnologías, como la nanofitorremediación, hace posible la recuperación de suelos contaminados utilizando técnicas más económicas y amigables, además de contrarrestar desventajas de métodos ya validados.

La combinación de estas técnicas pretende fusionar sus ventajas individuales, mejorar la eficiencia y optimizar la rentabilidad del proceso haciéndolo competente frente a los métodos convencionales, proporcionando un sustrato adecuado a las plantas, reduciendo el tiempo de remediación y garantizando la remediación ambiental.

A nivel mundial, la fitorremediación asistida con nanomateriales de ingeniería para la remediación de suelos contaminados por metales pesados como el plomo y cromo, particularmente en relaves mineros, representa una oportunidad de investigación puesto que la información disponible aún es escasa y existen pocos estudios de campo a largo plazo que permitan comprender a cabalidad los mecanismos involucrados y las interacciones entre: plantas, contaminantes y nanomateriales, y sus potenciales efectos toxicológicos.

En particular, el depósito de relave en pasta estudiado perteneciente al grupo minero Las Cenizas presenta concentraciones de metales superiores a las establecidas por la normativa ambiental holandesa y el estándar danés de calidad de suelos para usos residenciales, e incluso en algunos casos, sobre el valor de intervención.

Se diseñó una propuesta experimental de 7 meses ex situ y condiciones de invernadero, la cual permite evaluar el efecto del uso de nanomateriales sobre la capacidad fitorremediadora de las especies escogidas, *Cistanthe grandiflora* y *Solidago chilensis*, en función de los resultados previos presentados en la fitoestabilización de Cr y Pb en relaves, su bajo requerimiento hídrico y alto valor ornamental. La propuesta incorpora la adición de nanopartículas de hierro cero valente en diferentes concentraciones, material escogido en base a la amplia gama de mecanismos que ofrece su estructura de cáscara-núcleo para la inmovilización de metales, su poder reductor, alta reactividad y superficie específica. Ha demostrado promover el crecimiento de las plantas y eliminar eficazmente los metales estudiados. Para mejorar las características del sustrato base y conseguir mejores resultados en el crecimiento de las plantas a lo largo de la experimentación, se consideró la adición de enmiendas orgánicas como el biocarbón y el compost puesto que prometen beneficios como mejorar la estructura y fertilización del suelo. El comportamiento de la planta con el nanomaterial se estudia para cada especie por separado con el fin de poder analizar cómo cambian los factores de fitorremediación y obtener el rango de concentración en donde el efecto es positivo.

Se seleccionó como ruta de síntesis por borohidruro de sodio por su simplicidad y bajo costo a escala de laboratorio, a futuro se sugiere el estudio de la síntesis “verde” de las nanopartículas de hierro cero valente, puesto que podría ser más adecuada con los objetivos de la fitorremediación.

Si bien, el estudio se centra en el Pb y Cr por ser metales que no cumplen una función fisiológica y están asociados a la contaminación ambiental, la caracterización de las muestras antes y después de la experiencia es completa, vale decir, que también servirá para evaluar el comportamiento de otros metales. Se recomienda cumplir con las instrucciones del seguimiento y monitoreo del experimento para establecer un plan de acción en caso de condiciones no deseadas y tener registros para futuros proyectos relacionados.

En lo que respecta al estudio económico, luego de la estimación de costos para la inversión inicial, puesta en marcha, mantención y análisis es posible concluir que la propuesta experimental de nanofitorremediación tiene una inversión total de $8.833.158 pesos chilenos, con un costo de tratamiento unitario de $45.887 pesos por kg de relave seco tratado. Desde el punto de vista de la sensibilidad del proyecto, la alternativa de comprar en el mercado el nanomaterial ofrece una reducción de hasta un 5% en la inversión total.

Finalmente, se considera un proyecto atractivo desde una perspectiva científica dado que comprende un enfoque social, ambiental y es innovador. Su implementación podría contribuir a solucionar los problemas generados por estos pasivos ambientales, que se profundizan debido a los limitados recursos con los que cuentan los municipios para hacerse cargo de estos residuos. La propuesta se presenta como una opción de bajo costo, respetuosa con el medio ambiente y de fácil mantención. Una vez concluida la etapa de experimentación y análisis de datos, se podrá determinar si se trata o no de una alternativa de remediación de relaves mineros para Pb y Cr.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Servicio Nacional de Geología y Minería, «Anuario de la Minería de Chile,» SERNAGEOMIN, Santiago, 2021.

[2] E. Vivanco Font, «Pasivos Ambientales Mineros en Chile,» Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, 2012.

[3] H. Ali, E. Khan y M. Anwar Sajad, «Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications,» *Chemosphere,* vol. 91, nº 7, pp. 869-881, 2013.

[4] Z. Parisa, M. El-Esawi, B. Sawicka, K. Umachandran, A. El Din Mahmoud, B. Hochwimmer, S. Vambol y V. Vambol, «Investigation of prospects for phytoremediation treatment of soils contaminated with heavy metals,» *Journal of Medical Discovery,* vol. 4, nº 2, 2019.

[5] E. J. Lam, M. Cánvovas, M. E. Gálvez, I. L. Montofré, B. F. Keith y A. Faz, «Evaluation of the phytoremediation potential of native plants growing on a copper mine tailing in northern Chile,» *Journal of Geochemical Exploration,* vol. 182, nº B, pp. 210-217, 2017.

[6] E. Lam, B. Keith, I. Montofré y M. Galvez, «Copper Uptake by Adesmia atacamensis in a Mine Tailing in an Arid Environment,» *Air, Soil and Water Research,* vol. 11, pp. 1-12, 2018.

[7] P. Favas, J. Pratas, M. Varun, R. D'Souza y M. S. Paul, «Chapter 17: Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora,» de *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*, Intech, 2014, pp. 487-517.

[8] Ministerio Secretaría General de la Presidencia, «Aprueba Ley Sobre Bases Generales del Medio Ambiente. Ley 19300.,» *Diario Oficial de la República de Chile,* p. 48, 1994.

[9] Ministerio de Minería, «Decreto 86: Aprueba "Reglamento de construcción y operación de tranques de relaves",» *Diario Oficial de la República de Chile,* pp. 1-9, 31 Julio 1970.

[10] Ministerio Secretaría General de la Presidencia, «Crea el Ministerio, el Servicio de Evaluación Ambiental y la Superintendencia del Medio Ambiente. Ley 20.417,» *Diario Oficial de la República de Chile,* p. 64, 2010.

[11] Ministerio de Minería, «Decreto Supremo N° 132: Aprueba Reglamento de Seguridad Minera,» *Diario Oficial de la República de Chile,* 2004.

[12] Ministerio de Minería, «Decreto Supremo N° 248: Reglamento para la aprobación de proyectos de diseño, construcción, operación y cierre de los depósitos de Relaves,» *Diario Oficial de la República de Chile,* 2007.

[13] Equipo Programa Tranque, «Avances y retos para la gestión de los depósitos de relaves en Chile,» Fundación Chile, Santiago, 2018.

[14] Ministerio de Minería, «Regula el cierre de faenas e instalaciones mineras. Ley 20.551,» *Diario Oficial de la República de Chile,* 2011.

[15] G. Pérez de Arce Jaramillo, «Avances y recomendaciones en la gestión de Pasivos Ambientales Mineros (PAM) y cierre de minas en los países Andinos,» Lima, Perú, 2019.

[16] N. Rodriguez Eugenio, M. McLaughlin y D. Pennock, «La contaminación del suelo: una realidad oculta,» FAO, Roma, 2019.

[17] M. Chappuis, «Remediación y activación de los pasivos ambientales mineros (PAM) en el Perú,» Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), Santiago, 2019.

[18] Ministerio de Minería, «Aprueba reglamento de la Ley de cierre de faenas e instalaciones mineras. Decreto 41,» *Diario oficial de la republica de Chile,* 2012.

[19] A. Oblasser, «Estudio sobre lineamientos, incentivos y regulación para el manejo de los Pasivos Ambientales Mineros (PAM), incluyendo cierre de faenas mineras,» CEPAL - GIZ, Santiago, 2016.

[20] T. Yurisch Toledo, «Situación de los pasivos ambientales mineros en Chile. El caso de los depósitos de relaves,» Fundación Terram, Santiago, 2016.

[21] G. Medvinsky-Roa, V. Caroca y J. Vallejo, «Informe sobre la situación de los Relaves Mineros en Chile para ser presentado en el cuarto informe periódico de Chile para el

Comité de Derechos Económicos, Sociales y Culturales, perteneciente al consejo Económico Social de la Naciones Unidas,» Fundación Relaves Chile y Fundación Terram, 2015.

[22] Servicio Nacional de Geología y Minería, «Datos públicos Depósitos de Relaves,» 10 Agosto 2020. [En línea]. Available: https://www.sernageomin.cl/wp-content/uploads/2020/08/CDR_CHILE_10_08_2020.xls.

[23] M. Gajardo Morales, «Relaves en Chile: situación actual y futura,» Servicio Nacional de Geología y Minería (SERNAGEOMIN), 2019.

[24] P. Claussen Sagner, E. Zuñiga Acosta, B. Díaz Núñez y B. Fernández Vilches, «Plan nacional de depósitos de relaves para una minería sostenible,» División de Desarrollo Sostenible del Ministerio de Minería, Santiago, 2019.

[25] A. I. Roca Fernández, «InfoAgro Systems S.L.,» [En línea]. Available: https://www.infoagro.com/documentos/contaminacion_suelos_metales_pesados.asp. [Último acceso: Abril 2022].

[26] L. Wei, K. Wang, D. R. Noguera, J. Jiang, B. Oyserman, N. Zhao, Q. Zhao y F. Cui, «Transformation and speciation of typical heavy metals in soil aquifer treatment system during long time recharging with secondary effluent: Depth distribution and combination,» *Chemosphere*, vol. 165, pp. 100-109, 2016.

[27] D. d. S. y. S. H. d. E. UU., «Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR),» 2022. [En línea]. Available: https://www.atsdr.cdc.gov/.

[28] Servicio Nacional de Geología y Minería, «Preguntas frecuentes sobre relaves,» 2022. [En línea]. Available: https://www.sernageomin.cl/preguntas-frecuentes-sobre-relaves/.

[29] Unidad tecnológica de Agua y Medio Ambiente, «Manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados,» Fundación Chile y Corfo, 2015.

[30] A. Srivastav, K. Kumar Yadav, S. Yadav, N. Gupta, J. Kumar Singh, R. Katiyar y V. Kumar, «Nano-phytoremediation of Pollutants from Contaminated Soil Environment: Current Scenario and Future Prospects,» de *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants - Vol 6*, Springer, 2019, pp. 383-401.

[31] P. J. Favas, J. Pratas, M. Varun, R. D' Souza y M. S. Paul, «Chapter 17: Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora,» de *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*, 2014, pp. 485-516.

[32] M. González Chávez, R. Carrillo González, A. Sánchez López y A. Ruiz Olivares, «Alternativas de fitorremediación de sitios contaminados con elementos potencialmente tóxicos,» *Agroproductividad,* vol. 10, nº 4, pp. 8-14, 2017.

[33] A. Baker, «Accumulators and Excluders: Strategies in Response of Plants to Heavy Metals,» *Journal of plant nutrition,* vol. 3, nº 1-4, pp. 643-654, 1981.

[34] M. Ghosh y S. Singh, «A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts,» *A pplied ecology and environmental research,* vol. 3, nº 1, pp. 1-18, 2005.

[35] R. Chandra y V. Kumar, «Chapter 1: Phytoremediation: A Green Sustainable Technology for Industrial Waste Management,» de *Phytoremediation of environmental pollulants*, Taylor & Francis Group, 2018, pp. 1-43.

[36] L. Cahuana y O. Aduvire, «Bioacumulación de metales pesados en tejidos de vegetación acuática y terrestre evaluados en áreas donde existen pasivos ambientales mineros en el Perú,» SRK Consulting Peru S.A., 2018.

[37] M. González Chávez, R. Carrillo González y A. Sánchez López, «Definiciones Y Problemática En La Investigación Científica En Aspectos De Fitoremediación De Suelos,» *Agroproductividad,* vol. 10, nº 4, pp. 3-7, 2017.

[38] R. Candra, V. Kumar y K. Singh, «Chapter 2: Hyperaccumulator versus Nonhyperaccumulator Plants for Environmental Waste Management,» de *Phytoremediation of Environmental Pollutants*, Taylor & Francis, 2018, pp. 43-74.

[39] A. Alberich Herranz, «Nuevas estrategias electroanalíticas y quimiométricas aplicadas a sistemas de difícil resolución. Complejación de fitoquelatinas con plomo,» Departamanento de Química Analítica, Universitat de Barcelona, Barcelona, 2010.

[40] U.S. Environmental Protection Agency, Introduction to Phytoremediation, National Risk Management Research Laboratory, 2000.

[41] A. Delgadillo López, C. González Ramírez, F. Prieto García, J. Villagómez Ibarra y O. Acevedo Sandoval, «"Phytoremediation: An alternative to eliminate pollution",» *Tropical and Subtropical Agroecosystems,* vol. 14, nº 2, pp. 597-612, 2011.

[42] M. Radziemska, M. D. Vaverková y A. Baryla, «Phytostabilization—Management Strategy for Stabilizing Trace Elements in Contaminated Soils,» *Internacional Journal of Environmental Research and Public Health,* vol. 14, nº 9, p. 958, 2017.

[43] A. Friol, L. Azevedo, F. Netto y R. Ferracciú, «Bioconcentration factors and the risk concentrations of potentially toxic elements in garden soils,» *Journal of Environmental Management,* vol. 170, pp. 21-27, 2016.

[44] T. M. Galal y H. S. Shehata, «Bioaccumulation and translocation of heavy metals by Plantago major L. grown in contaminated soils under the effect of traffic pollution,» *Ecological Indicators,* vol. 48, pp. 244-251, 2015.

[45] C. Garbisu, J. Becerril, L. Epelde y I. A. , «Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficiencia de un proceso fitorremediador,» *Ecosistemas,* vol. 16, nº 2, pp. 44-49, 2007.

[46] V. D. Rajput, T. Minkina, A. Kumari, S. S. Shende, A. Ranjan y M. Faizan, «A review on nanobioremediation approaches for restoration of contaminated soil,» *Eurasian Journal of Soil Science,* vol. 11, nº 1, pp. 43-60, 2022.

[47] A. G. Khan, «Promises and potential of in situ nano-phytoremediation strategy to mycorrhizo- remediate heavy metal contaminated soils using non-food bioenergy crops (Vetiver zizinoides & Cannabis sativa),» *International Journal of Phytoremediation,* 2020.

[48] M. Martínez Gómez, R. Carrillo González y M. González Chávez, «Aplicaciones y desafíos de la nanotecnología en el control y mitigación de la contaminación,» *Agroproductividad,* vol. 10, nº 4, pp. 73-79, 2017.

[49] J. Jeevanandam, A. Barhoum, Y. Chan, A. Dufresne y M. Danquah, «Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations,» *Beilstein J. of nanotechnology,* vol. 9, nº 1, pp. 1050-1074, 2018.

[50] X. Cao, A. Alabresm, Y. Pin Chen, A. Decho y J. Lead, «Improved metal remediation using a combined bacterial and nanoscience approach,» *Science of the Total Environmental*, vol. 704, 2019.

[51] J. Borja Borja, S. Heredia Moyano y M. A. Sáez Paguay, «Los nanomateriales y sus aplicaciones en la remediación ambiental,» *Polo del Conocimiento,* vol. 5, nº 7, pp. 338-370, 2020.

[52] N. Ding, M. Han, Y. He, X. Wang, Y. Pan, H. Lin y G. Yu, «Advances in application of nanomaterials in remediation of heavy metal contaminated soil,» de *ICEMEE E3S Web of conferences*, 2021.

[53] M. Y. D. Alazaiza, A. Albahnasawi, G. A. M. Ali, M. J. K. Bashir, N. K. Copty, S. S. Abu Amr, M. F. M. Abushammala y T. Al Maskari, «Recent Advances of Nanoremediation Technologies for Soil and Groundwater Remediation: A Review,» *MDPI - Water,* vol. 13, p. 2186, 2021.

[54] C. Cai, M. Zhao, Z. Yu, C. Zhang y H. Rong, «Utilization of nanomaterials for in-situ remediation of heavy metal(loid) contamined sediments: A review,» *Science of the Total Environmental,* vol. 662, pp. 205-217, 2019.

[55] B. Song, G. Zeng, J. Gong y P. Zhang, «Effect of multi-walled carbon nanotubes on phytotoxicity of sediments contaminated by phenanthrene and cadmium,» *Chemosphere,* vol. 172, pp. 449-458, 2017.

[56] A. Amjad, S. M. Shaheen, D. Guo, Y. Li, R. Xiao, F. Wahid, M. Azeem, K. Sohail, T. Zhang, J. Rinklebe, R. Li y Z. Zhang, «Apricot shell- and apple tree-derived biochar affect the fractionation and bioavailability of Zn and Cd as well as the microbial activity in smelter contaminated soil,» *Environmental Pollution*, vol. 264, 2020.

[57] D. Martínez Fernández, M. Vítková, Z. Michálková y M. Komárek, «Chapter 14: Engineered nanomaterials for phytoremediation of metal/metalloid-contaminated soils: Implications for plant physiology,» de *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants*, 2017, pp. 369-403.

[58] M. Maschal Tarekegn, A. Mekonnen Hiruy y A. Hussen Dekebo, «Nano zero valent iron (nZVI) particles for theremoval of heavy metals (Cd2+, Cu2+ and Pb2+)

fromaqueous solutions,» *Royal society of chemistry,* vol. 11, nº 30, pp. 18539-18551, 2021.

[59] W. Xue, D. Huang, G. Zeng, J. Wan, C. Zhang, R. Xu, M. Cheng y R. Deng, «Nanoscale zero-valent iron coated with rhamnolipid as an effective stabilizer for immobilization of Cd and Pb in river sediments.,» *Journal of Hazardous Materials,* vol. 341, pp. 381-389, 2018.

[60] H. Su, Z. Fang, P. E. Tsang, J. Fang y D. Zhao, «Stabilisation of nanoscale zero-valent iron with biochar for enhanced transport and in-situ remediation of hexavalent chromium in soil.,» *Environmental Pollution,* vol. 214, pp. 94-100, 2016.

[61] M. Gil-Díaz, S. Diez-Pascual, A. González, J. Alonso, E. Rodríguez-Valdés, J. R. Gallego y M. C. Lobo, «A nanoremediation strategy for the recovery of an As-polluted soil,» *Chemosphere,* vol. 149, pp. 137-145, 2016.

[62] M. Nadeem, D. Tungmunnithum, C. Hano, B. H. Abbasi, S. S. Hashmi, W. Ahmad y A. Zahir, «The current trends in the green syntheses of titanium oxide nanoparticles and their applications,» *Green Chemistry Letters and Reviews,* vol. 11, nº 4, pp. 492-502, 2018.

[63] R. Acharya, B. Naik y K. Parida, «Cr(VI) remediation from aqueous environment through modified-TiO2-mediated photocatalytic reduction,» *Beilstein Journal of Nanotechnology,* vol. 9, nº 1, pp. 1448-1470, 2018.

[64] E. N. Peikam y M. Jalali, «Application of three nanoparticles (Al2O3, SiO2 and TiO2) for metal-contaminated soil remediation (measuring and modeling),» *International Journal of Environmental Science and Technology,* vol. 16, nº 11, pp. 7207-7220, 2019.

[65] A. Emamverdian, Y. Ding, F. Mokhberdoran, M. Ramakrishnan, Z. Ahmad y Y. Xie, «Different Physiological and Biochemical Responses of Bamboo to the Addition of TiO2 NPs under Heavy Metal Toxicity,» *Forests,* vol. 12, nº 6, 2021.

[66] C. Zhao, S. Ren, Q. Zuo, S. Wang, Y. Zhou, W. Liu y S. Liang, «Effect of nanohydroxyapatite on cadmium leaching and environmental risks under simulated acid rain,» *Science of The Total Environment,* vol. 627, pp. 553-560, 2018.

[67] A. Dong, X. Ye, H. Li, Y. Zhang y G. Wang, «Micro/nanostructured hydroxyapatite structurally enhances the immobilization for Cu and Cd in contaminated soil,» *Journal of Soils and Sediments,* vol. 16, pp. 2030-2040, 2016.

[68] J. Xing, T. Hu, L. Cang y D. Zhou, «Remediation of copper contaminated soil by using different particle sizes of apatite: a field experiment,» *SpringerPlus,* vol. 5, nº 1182, 2016.

[69] M. Silva, D. Vidal Pérez, J. C. w, J. C. Wasserman, R. Santos Oliveria y M. Wasserman, «The effect of nanohydroxyapatite on the behavior of metals in a microcosm simulating a lentic environment,» *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management,* vol. 8, pp. 219-227, 2017.

[70] Z. Zhang , M. Li, W. Chen , S. Zhu, N. Liu y L. Zhu, «Immobilization of lead and cadmium from aqueous solution and contaminated sediment using nano-hydroxyapatite,» *Environmental Pollution,* vol. 158, pp. 514-519, 2010.

[71] Z. Yang, Z. Fang, L. Zheng, W. Cheng, P. E. Tsang, J. Fang y D. Zhao, «Remediation of lead contaminated soil by biochar-supported nano-hydroxyapatite,» *Ecotoxicology and Environmental Safety,* vol. 132, pp. 224-230, 2016.

[72] D. Baragaño, R. Forján, C. Sierra y J. L. R. Gallego, «Chapter 26: Nanomaterials for soil remediation: Pollutant immobilization and opportunities for hybrid technologies,» de *Sorberts materials for controlling environmental pollution*, España, Elservier, 2021, pp. 701-723.

[73] G. Yu, X. Wang, L. Jie, P. Jiang, S. You, N. Ding, Q. Guo y F. Lin, «Applications of nanomaterials for heavy metal removal from water and soil: A review,» *Sustainability,* vol. 13, nº 2, pp. 1-14, 2021.

[74] B. Song, P. Xu, M. Chen, W. Tang, G. Zeng, J. Gong, P. Zhang y S. Ye, «Using nanomaterials to facilitate the phytoremediation of contaminated soil,» *Critical reviews in environmental science and technology,* 2019.

[75] M. Kah, N. Tufenkji y J. C. White, «Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection,» *Nature nanotechnology,* vol. 14, pp. 532-540, 2019.

[76] S. Ghosh y B. Sarkar, «Chapter 6: Metal stress removal and nanotecnhology-driven solutions,» de *Agricultural Nanobiotechnology: Biogenic Nanoparticles, Nanofertilizers and Nanoscale Biocontrol Agents*, Woodhead Publishing, 2022, pp. 129-153.

[77] K. M. Nasir, M. Mobin, Z. K. Abbas, K. A. AlMutairi y Z. H. Siddiqui, «Role of nanomaterials in plants under challenging environments,» *Plant Physiology and Biochemistry,* vol. 110, pp. 194-209, 2017.

[78] M. Bakshi y P. Abhilash, «Chapter 17 - Nanotechnology for soil remediation: Revitalizing the tarnished resource,» de *Nano-Materials as Photocatalysts for Degradation of Environmental Pollutants*, ELSEVIER, 2020, pp. 345-370.

[79] S.-x. Liang, Y. Jin, W. Liu, X. Li, S.-g. Shen y L. Ding, «Feasibility of Pb phytoextraction using nano-materials assisted ryegrass: Results of a one-year field-scale experiment,» *Journal of Environmental Management,* vol. 190, pp. 170-175, 2017.

[80] D. Huang, X. Qin, Z. Peng, Y. Liu y X. Gong, «Nanoscale zero-valent iron assisted phytoremediation of Pb in sediment: Impacts on metal accumulation and antioxidative system of Lolium perenne,» *Ecotoxicology and Environmental Safety,* vol. 153, pp. 229-237, 2018.

[81] A. Zand y A. Tabrizi, «Effect of zero-valent iron nanoparticles on the phytoextraction ability of Kochia scoparia and its response in Pb contaminated soil,» *Environmental Engineering Research,* vol. 26, nº 4, 2021.

[82] M. Vítková, M. Puschenreiter y M. Komárek, «Effect of nano zero-valent iron application on As, Cd, Pb, and Zn availability in the rhizosphere of metal(loid) contaminated soils,» *Chemosphere,* vol. 200, pp. 217-226, 2018.

[83] K. Jesitha y P. S. Harikumar, «Application of Nano-phytoremediation technology for soil polluted with pesticide residues and heavy metals,» de *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants - Vol 6*, Springer Nature, 2019, pp. 415-439.

[84] H. Mohammadi, A. Matin, A. Amani-Ghadim y M. Ghorbanpour, «Fe(0) nanoparticles improve physiological and antioxidative attributes of sunfower

(Helianthus annuus) plants grown in soil spiked with hexavalent chromium,» *Biotech - Springer,* vol. 10, nº 1, 2020.

[85] «I. Municipalidad de Cabildo,» Junio 2019. [En línea]. Available: https://municipiocabildo.cl/wp-content/uploads/2019/06/Memoria-PRC-Cabildo-Junio-2019.pdf. [Último acceso: 2022 Marzo 15].

[86] Google Earth Pro, «Imagen satelital Cabildo 2016,» 2016. [En línea].

[87] Minister van Volkshuisvesting en Milieubeheer, «Regeling bodemkwaliteit,» *Overheid Wettenbank,* 13 Dic 2007.

[88] M. Osmani, A. Bani y B. Hoxha, «Heavy Metals and Ni Phytoextractionin in the Metallurgical Area Soils in Elbasan,» *Albanian J. Agric. Sci,* vol. 14, nº 4, pp. 414-419, 2015.

[89] P. Zhou, M. Adeel, N. Shakoor, M. Guo, Y. Hao, I. Azeem, M. Li, M. Liu y Y. Rui , «Application of Nanoparticles Alleviates Heavy Metals Stressand Promotes Plant Growth: An Overview,» *Nanomaterials,* vol. 11, nº 26, pp. 1-18, 2021.

[90] D. A. John y J. S. Leventhal, «Bioavailability of metals,» de *Preliminary compilation of descriptive geoenvironmental mineral deposit models*, USA, U.S. Departament of the Interior, U.S. Geological survey, 1995, pp. 95-831.

[91] X. Zhang, H. Yang y Z. Cui, «Migration and speciation of heavy metal in salinized mine tailings affected by iron mining,» *Water Science and Technology,* vol. 76, nº 7, pp. 1868-1874, 2017.

[92] M. Shahid, S. Shamshad, M. Rafiq, S. Khalid, I. Bibi, N. Niazi, C. Dumat y M. I. Rashid, «Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review,» *Chemosphere,* vol. 178, pp. 513-533, 2017.

[93] P. Lazo y A. Lazo, «Assessment of Native and Endemic Chilean Plants for Assessment of Native and Endemic Chilean Plants for,» *Minerals,* vol. 10, nº 1020, pp. 1-11, 2020.

[94] A. Lazo, P. Lazo, A. Urtubia, M. G. Lobos, H. K. Hansen y C. Gutiérrez, «An Assessment of the Metal Removal Capability of Endemic Chilean Species,»

Internacional Journal Environmental research and public health, vol. 19, nº 6, pp. 1-14, 2022.

[95] M. Belov, «CHILEFLORA,» 2005. [En línea]. Available: http://www.chileflora.com/Florachilena/FloraSpanish/LowResPages/SH0017.htm. [Último acceso: 20 Marzo 2022].

[96] S. Molinos, «Blog de Jardinería, Plantas y Flores,» 2016. [En línea]. Available: https://jardineriaplantasyflores.com/zonas-de-rusticidad-zonas-climaticas-usda-o-hardiness-zones/. [Último acceso: 20 Marzo 2022].

[97] M. Belov, «CHILEFLORA,» 2006. [En línea]. Available: http://www.chileflora.com/Florachilena/FloraSpanish/HighResPages/SH0116.htm. [Último acceso: 2022 Julio 14].

[98] C. Desmarchelier y J. Alonso, «Plantas medicinales autóctonas de la argentina - Bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud,» Buenos Aires, Corpus, 2015, p. 748.

[99] Xue, Wenjing; Huang, Danlian; Zeng, Guangming Zeng; Wan, Jia; Cheng, Min; Zhang, Chen; Hu, Chanjuan; Li, Jing;, «Performance and toxicity assessment of nanoscale zero valent iron particles in the remediation of contaminated soil: A review,» *Chemosphere,* vol. 210, pp. 1145-1156, 2018.

[100] Z. Cai, X. Zhao, J. Duan, D. Zhao, Z. Dang y Z. Lin, «Remediation of soil and groundwater contaminated with organic chemicals using stabilized nanoparticles: Lessons from the past two decades,» *Frontiers of Environmental Science & Engineering volume,* vol. 14, nº 84, 2020.

[101] B. Calderón Roca, «Application of iron-based nanostructures to contaminant remediation,» Universitat d'Alacant, España, 2017.

[102] D. O'Caroll, B. Sleep, M. Krol, H. Boparai y C. Kocur, «Nanoscale zero valent iron and bimetallic particles for contaminated site remediation,» *Advances in water resources,* vol. 51, pp. 104-122, 2013.

[103] M. Stefaniuk, P. Oleszczuk y Y. Sik Ok, «Review on nano zerovalent iron (nZVI): From synthesis to environmental applications,» *Chemical Engineering Journal*, vol. 287, pp. 618-632, 2016.

[104] S. Wang, M. Zhao, M. Zhou, Y. C. Li, J. Wang, B. Gao, S. Sato, K. Feng y W. Yin, «Biochar-supported nZVI (nZVI/BC) for contaminant removal from soil and water: A critical review,» *Journal of Hazardous Materials*, vol. 373, pp. 820-834, 2019.

[105] W. Xu, T. Yang, S. Liu, Q. Chen, X. Li, J. Dong, Z. Zhang, S. Lu, Y. Gong, L. Zhou, Y. Liu y X. Tan, «Insights into the synthesis, types and application of iron nanoparticles: The overlooked significance of environmental effects,» *Environment International*, vol. 158, 2022.

[106] M. O. Mendez y R. M. Maier, «Phytostabilization of Mine Tailings in Arid and Semiarid Environments—An Emerging Remediation Technology,» *Environmental Health Perspectives*, vol. 116, nº 3, pp. 278-283, 2008.

[107] A. Galdames, A. Mendoza, M. Orueta, i. de Soto García, M. Sánchez, I. Virto y J. Vilas, «Development of new remediation technologies for contaminated soils based on the application of zero-valent iron nanoparticles and bioremediation with compost,» *Resource-Efficient Technologies*, vol. 3, nº 2, pp. 166-176, 2017.

[108] F. Ayala Villa, «Engormix - Agricultura,» 03 Marzo 2016. [En línea]. Available: https://www.engormix.com/agricultura/articulos/biocarbon-t33045.htm. [Último acceso: 13 Abril 2022].

[109] A. Mitzia, M. Vítková y M. Komárek, «Assessment of biochar and/or nano zero-valent iron for the stabilisation of Zn, Pb and Cd: A temporal study of solid phase geochemistry under changing soil conditions,» *Chemosphere*, vol. 242, 2020.

[110] K. T. Soto, E. O. Ortiz-Quiles, L. E. Betancourt, E. Larios Rodriguiez, M. J. Yacaman y C. R. Cabrera Martínez, «Photoelectrochemical Solar Cells Prepared From Nanoscale Zerovalent Iron Used for Aqueous Cd2+ Removal,» *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, vol. 4, nº 3, 2016.

[111] H. Wang, M. Zhang y H. Li, «Synthesis of Nanoscale Zerovalent Iron (nZVI) Supported on Biochar for Chromium Remediation from Aqueous Solution and Soil,»

Internacional Journal of Environmental Research and Public Health, vol. 16, nº 22, 2019.

[112] O. Eljamal, R. Mokete, N. Matsunaga y Y. Sugihara, «Chemical pathways of Nanoscale Zero-Valent Iron (NZVI) during its transformation in aqueous solutions,» *Journal of Environmental Chemical Engineering,* vol. 6, nº 5, pp. 6207-6220, 2018.

[113] LivingChar. [En línea]. Available: https://www.livingchar.com/wp-content/uploads/2021/09/Ficha-tecnica-LivingChar-60-500-1000-litros.pdf. [Último acceso: 25 Abril 2022].

[114] Sernageomin, F. Chile y Corfo, «Guía Metodológica para la estabilización química de faenas e instalaciones mineras,» Chile, 2015.

[115] M. E. Jiménez, A. d. l. M. Grijalva y H. Ponce, «Plasma acoplado inductivamente en espectroscopía de emisión óptica (ICP-OES),» *Recimundo, Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento,* vol. 4, nº N° 4, pp. 4-12, 2020.

[116] C. Bini, «Soil restoration: Remediation and valorization of contaminated soils,» 2005.

[117] I. Cerda Medina y F. Mercader Arriagada, «Ministerio de las Culturas, las Artes y el Patrimonio,» Octubre 2020. [En línea]. Available: https://www.cultura.gob.cl/wp-content/uploads/2021/04/expresiones-del-desierto-florido.pdf. [Último acceso: 20 Marzo 2022].

[118] G. M. L. Cenizas, 2020. [En línea]. Available: https://www.cenizas.cl/. [Último acceso: 2022 Marzo 15].

7. ANEXOS

Anexo A: Resumen estudios de fitorremediación con aplicación de nanomateriales de ingeniería para suelos contaminados con metales pesados como Pb, Cd, Cr y As.

Tabla 37: Estudios de fitorremediación asistida por nanomateriales.

Fuente: Adaptado de [32]

Contaminante	Nombre de la planta	NMs aplicado	Modo de acción de los NMs	Observaciones	Referencias
Trinitrotolueno	*Pasto guineo (Panicum maximum Jacq.)*	nZVI	Eliminación directa de trinitrotolueno mediante nZVI	Las nanopartículas de hierro cero-valente mejoraron la eficiencia de eliminación del trinitrotolueno del 85,7% al 100% después de 120 días.	Jiamjitrpanich et al. (2012)
Endosulfán	Galanga menor *(Alpinia calcarata Roscoe)*, Albahaca sagrada *(Ocimum sanctum L.)*, y Hierba de limón *(Cymbopogon citratus)*	nZVI	Eliminación directa del endosulfán mediante partículas de nZVI	Con nZVI, las tasas de eliminación del endosulfán del suelo se incrementaron del 81,2% al al 100%, del 20,76% al 76,28%, y del 65,08% al 86,16% para A. calcarata O. sanctum y C. citratus, respectivamente.	Pillai and Kottekottil et al. (2016)
Tricloroetileno	Álamo oriental *(Populus deltoides Bartr.)*	Fullereno nanopartículas	Aumento de la fitodisponibilidad del tricloroetileno como portador	La captación de tricloroetileno aumentó en 26% y 82% con 2 y 15 mg/L de nanopartículas de fullereno, respectivamente.	Ma and Wang (2010)
Cromo (Cr)	Arveja (*Pisum sativum L.*)	Nanopartículas de sílice	Promover el crecimiento de las plantas en la tolerancia al estrés por Cr^{+6} mediante el alivio de la fitotoxicidad	Con nanopartículas de silicio, las concentraciones de acumulación de Cr en la raíz y brote disminuyeron de 1472,6 a 516,6 mg/kg MS y de 62,5 a 35,2 mg/kg MS.	Tripathi et al., (2015)
Cadmio (Cd)	Soya *[Glycine max (L.) Merr.]*	Nanopartículas de dióxido de titanio (TiO2)	Mejora de las tasas de brotación, desarrollo y fotosíntesis de las plantas.	La absorción de Cd aumentó de 128,5 a 507,6 µg por planta al aumentar la concentración de nanopartículas de TiO2 de 100 a 300 mg/kg MS.	(Singh & Lee, 2016)
	Ortiga blanca (*Lamium album*)	nZVI	Fomento del crecimiento de plantas a baja concentración de nZVI	Con nZVI, las concentraciones de Cd en las hojas, tallos y raíces aumentaron en un 31-73%, 29-52% y 16-50%, respectivamente	(X. Gong et al., 2017)
Plomo (Pb)	Raigrás (*Lolium perenne L.)*	Nanohidroxiapatita	Estabilización directa de Pb mediante nanohidroxiapatita y mejora del crecimiento de las plantas.	Después de 6 semanas, la eficiencia de remoción de Pb por parte de la planta se incrementó de 11.67% a 21.97% con nanohidroxiapatita bajo un estrés de Pb de 800 mg/kg MS.	(Jin et al., 2016)

		Nanohidroxiapatita y nanocarbono negro	Estabilización directa del Pb por los nanomateriales, aliviando la fitotoxicidad y favoreciendo el crecimiento de las plantas.	Después de 12 meses, las tasas de remoción de Pb del suelo aumentaron de 31,76% a 46,55% y 45,53% con nanohidroxiapatita y nano-negro de carbón, respectivamente.	(S. Liang et al., 2017)
		Nanohidroxiapatita	Estabilización directa de Pb mediante nanohidroxiapatita y promoción del crecimiento de las plantas mediante el aumento de la concentración de fósforo en el suelo.	Con nanohidroxiapatita, el contenido de Pb disminuyó en un 2,86 - 21,1% y un 13,19 - 20,3% en la raíz y el brote, respectivamente.	(Ding et al., 2017)
		nZVI	Fomento del crecimiento de plantas a baja concentración de nZVI.	Las concentraciones máximas de acumulación de Pb en raíz y brote alcanzaron 1175,4 µg por maceta con 100 mg/kg de nZVI	(Huang et al., 2018)
Cadmio (Cd) y Plomo (Pb)	Guaje blanco [*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit]	Nanopartículas de Zinc	Promover el crecimiento de las plantas mediante el alivio de la fitotoxicidad.	Con nanopartículas de ZnO, la acumulación de Cd y Pb en la planta aumentó de 1253,1 a 1863,5 mg/kg MS y de 1026,8 a 1343,4 mg/kg MS, respectivamente.	(Venkatachalam et al., 2017)
	Centeno (*Secale montanum Guss.*)	Nano sílice	Aumentar la fitodisponibilidad de Pb y promover el crecimiento de las plantas.	Las concentraciones máximas de acumulación de Pb (533,6 mg/kg MS) y Cd (208,6 mg/kg MS) en las raíces se lograron con nano-sílice.	(Moameri & Abbasi Khalaki, 2019)
Cadmio (Cd), Plomo (Pb) y Níquel (Ni)	Maíz (*Zea mays L.*)	Nanopartículas de plata	Mejorar el área de la raíz y la longitud de la raíz	Con nanopartículas de plata, las concentraciones de acumulación de Cd, Pb y Ni en el brote aumentaron de 0,65 a 0,73 mg/kg MS, de 129,1 a 232,7 mg/kg MS y de 0 a 12,4 mg / kg MS, respectivamente	(N. Khan & Bano, 2016)
Arsénico (As), Cadmio (Cd), Plomo (Pb) y Zinc (Zn)	Girasol (*Helianthus annuus L.*) y Raigrás (*Lolium perenne L.*)	nZVI	Estabilización directa de contaminantes mediante partículas nZVI	Después de usar nZVI para la fitoestabilización, las concentraciones de As, Cd, Pb y Zn en raíces y brotes disminuyeron entre un 50% y un 60% en comparación con la muestra de control.	(Vítková et al., 2018)

*mg/kg MS= miligramo por kilogramo de planta en masa seca.

Anexo B: Memoria de cálculo - Especificaciones de diseño experimental

1) Cantidad necesaria de sustrato de huerto y autocultivo:

Las medidas de cada cavidad (50) de la bandeja almaciguera son:

Dimensiones cavidad superior	: 5 x 5 cm.
Diámetro cavidad inferior	: 1,5 x 1,5 cm.
Profundidad cavidad	: 11 cm.

$$Volumen\ cavidad\ aproximado = 200\ cm^3$$
$$Volumen\ de\ sustrato\ de\ autocultivo = 0{,}9 * 200\ cm^3 = 180\ cm^3$$

El sustrato seleccionado para el estudio tiene una densidad aparente de 0,357 g/cm^3 por lo que la cantidad necesaria se obtiene de la siguiente forma:

$$masa_{cavidad} = \rho_{sustrato} * V_{cavidad} = 0{,}357 \frac{g}{cm^3} * 180\ cm^3 = 64{,}26\ g$$

$$n°\ bandejas\ almacigueras = 2$$

$$cavidades\ por\ bandeja = 50$$

$$masa_{total} = 64{,}26 * 2 * 50 = 6426\ g = 6{,}426\ kg$$

Finalmente, se requerirán 6,5 kg de sustrato de autocultivo.

2) Cantidad necesaria de matriz de sustrato según experimento

Cada una de las unidades experimentales tiene las siguientes dimensiones: 45 cm de largo, 18,5 cm de ancho y 13 cm de alto. Estas se llenarán hasta un 85% de su capacidad.

$$Volumen\ jardinera = 45\ cm\ x\ 18{,}5\ cm\ x\ 13\ cm = 10.822{,}5\ cm^3 = 0{,}0108\ m^3$$

$$Volumen\ matriz\ de\ suelo\ (V_T) = 0{,}85 * 0{,}0108\ cm^3 = 9{,}199 * 10^{-3}\ m^3$$

A continuación, el experimento se subdivide en dos según la composición de la matriz:

- El experimento No. 1 corresponde a una matriz en %p/p de 70% de relave seco (RS), 30% de compost (C). Se calculará la masa total requerida de cada componente.

$$V_T = V_{RS} + V_C$$

$$Volumen = \frac{masa}{densidad\ (\rho)}$$

$$Masa_{total}(m_T) = m_{RS} + m_C$$

$$V_T = \frac{m_{RS}}{\rho_{RS}} + \frac{m_C}{\rho_C}$$

$$m_{RS} = 0{,}7 * m_T; m_C = 0{,}3 * m_T$$

En consecuencia,

$$V_T = \frac{0{,}7 * m_T}{\rho_{RS}} + \frac{0{,}3 * m_T}{\rho_C}$$

$$V_T = \frac{0{,}7 * m_T * \rho_C + 0{,}3 * m_T * \rho_{RS}}{\rho_{RS} * \rho_C}$$

De acuerdo con los insumos seleccionados en el estudio técnico, las densidades son las siguientes:

$$\rho_{RS} = 2{,}8\frac{ton}{m^3};\ \rho_{BC} = 0{,}75\frac{ton}{m^3};\ \rho_C = 0{,}7\frac{ton}{m^3}$$

Finalmente,

$$m_T = 0{,}013556\ ton = 13{,}556\ kg$$

$$m_{RS_{maceta}} = 0{,}7 * 13{,}556\ kg = 9{,}4892\ kg$$

$$m_{C_{maceta}} = 0{,}3 * 13{,}556\ kg = 4{,}0668\ kg$$

Por lo tanto, la masa total de una jardinera del experimento No. 1 es de $13{,}56\ kg$.

A continuación, se obtiene la masa total en kg de cada componente para el experimento.

$$unidades\ experimentales\ (\exp No.1) = 10$$

$$m_{RS_{total}} = 9{,}4892\ kg * 10 = 94{,}892\ kg$$

$$m_{C_{total}} = 4{,}0668\ kg * 10 = 40{,}668\ kg$$

- El experimento No. 2 corresponde a una matriz en %p/p de 70% de relave seco (RS), 20% de biocarbón (BC) y 10% de compost (C). Se calculará la masa total requerida de cada componente utilizando el mismo método y valores de densidad que en el experimento anterior.

$$V_T = V_{RS} + V_{BC} + V_C$$

$$Volumen = \frac{masa}{densidad\ (\rho)}$$

$$Masa_{total}(m_T) = m_{RS} + m_{BC} + m_C$$

$$V_T = \frac{m_{RS}}{\rho_{RS}} + \frac{m_{BC}}{\rho_{BC}} + \frac{m_C}{\rho_C}$$

$$m_{RS} = 0{,}7 * m_T; m_{BC} = 0{,}2 * m_T; m_C = 0{,}1 * m_T$$

$$V_T = \frac{0{,}7 * m_T}{\rho_{RS}} + \frac{0{,}2 * m_T}{\rho_{BC}} + \frac{0{,}1 * m_T}{\rho_C}$$

$$V_T = \frac{0{,}7 * m_T * \rho_{BC} * \rho_C + 0{,}2 * m_T * \rho_{RS} * \rho_C + 0{,}1 * m_T * \rho_{RS} * \rho_{BC}}{\rho_{RS} * \rho_{BC} * \rho_C}$$

Finalmente,

$$m_T = 0{,}013948\ ton = 13{,}948\ kg$$

$$m_{RS_{maceta}} = 0{,}7 * 13{,}948\ kg = 9{,}7636\ kg$$

$$m_{BC_{maceta}} = 0{,}2 * 13{,}948\ kg = 2{,}7896\ kg$$

$$m_{C_{maceta}} = 0{,}1 * 13{,}948\ kg = 1{,}3948\ kg$$

Por lo tanto, la masa total de una jardinera del experimento No. 2 es de $13{,}95\ kg$.

A continuación, se obtiene la masa total en kg de cada componente:

$$unidades\ experimentales\ (\text{exp}\ No.1) = 10$$

$$m_{RS} = 9{,}7636\ kg * 10 = 97{,}636\ kg$$

$$m_{BC} = 2{,}7896\ kg * 10 = 27{,}896\ kg$$

$$m_C = 1{,}3948\ kg * 10 = 13{,}948\ kg$$

Según lo expuesto en la tabla 9, para la totalidad del experimento se necesitan 192,50 kg de relave seco, el cual se obtiene a partir de relave en pasta con un 83% de concentración de sólidos.

$$masa_{relave\ en\ pasta} = \frac{192{,}5}{0{,}83} = 231{,}93\ kg$$

3) Cantidad necesaria de nanomaterial (nZVI)

Las concentraciones de estudio son 0, 50, 100, 500 y 1000 mg por kg de sustrato.

Para obtener la cantidad necesaria de nZVI, es esencial conocer la masa de la matriz de sustrato en la jardinera. Las macetas correspondientes al experimento No. 1 y 2 requieren de 13,56 kg y 13,95 kg respectivamente. El cálculo se realiza de la siguiente manera:

Exp. No. 1 (2 jardineras por cada dosis de nZVI, una con cada especie de estudio).

$$m_{nZVI(exp.1)} = 2\ jardineras * 13{,}56\ kg * (50 + 100 + 500 + 1000)\frac{mg}{kg}$$

$$m_{nZVI(exp.1)} = 44.748\ mg = 44{,}748\ g$$

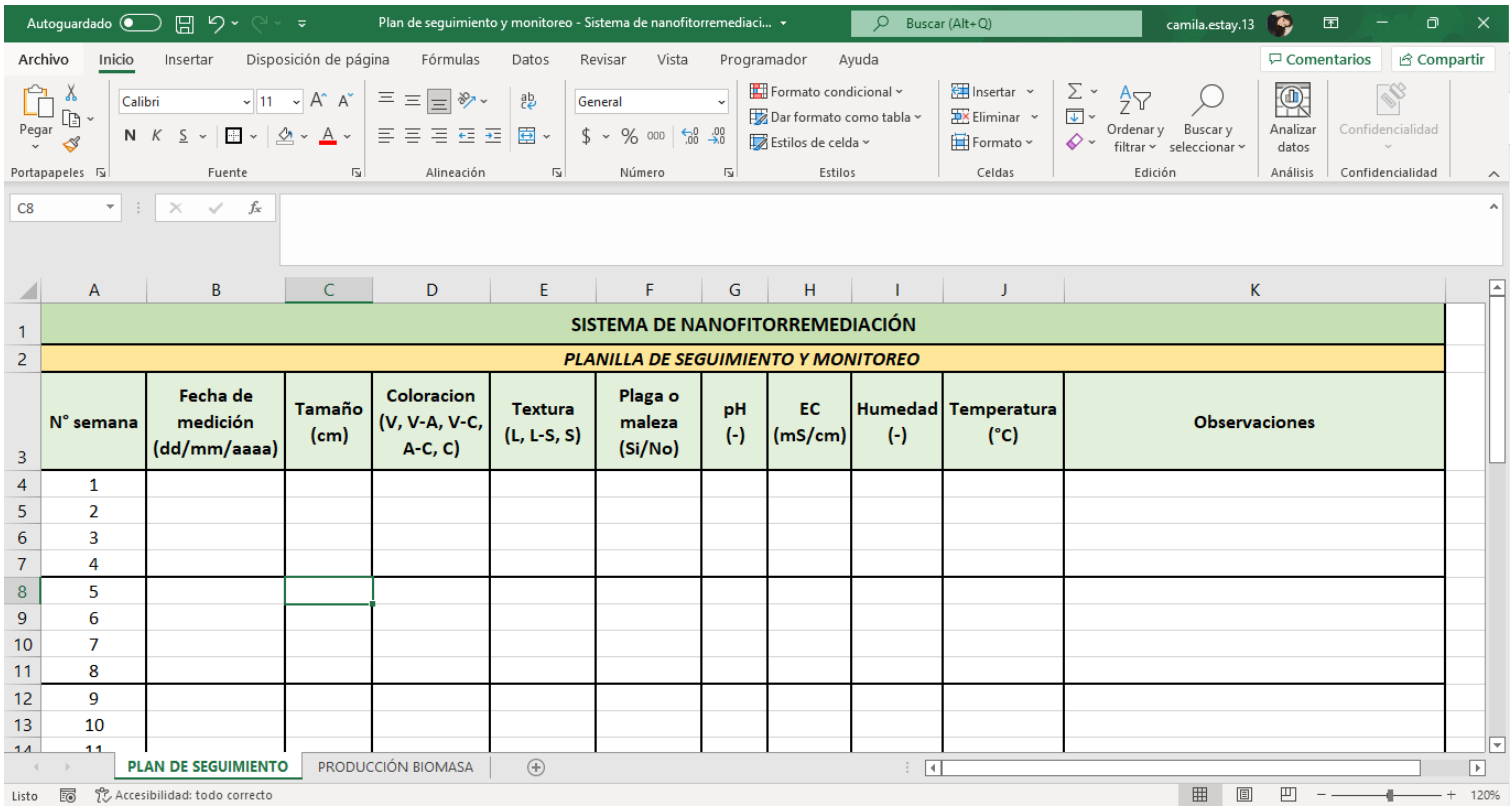
Exp. No. 2 (2 jardineras por cada dosis de nZVI, una con cada especie de estudio).

$$m_{nZVI(exp.2)} = 2\ jardineras * 13{,}95\ kg * (50 + 100 + 500 + 1000)\frac{mg}{kg}$$

$$m_{nZVI(exp.2)} = 46.035\ mg = 46{,}035\ g$$

$$m_{nZVI_{total}} = 90{,}783\ g$$

Anexo C: Planillas de seguimiento y monitoreo



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	SISTEMA DE NANOFITORREMEDIACIÓN										
2	*PLANILLA DE SEGUIMIENTO Y MONITOREO*										
3	N° semana	Fecha de medición (dd/mm/aaaa)	Tamaño (cm)	Coloracion (V, V-A, V-C, A-C, C)	Textura (L, L-S, S)	Plaga o maleza (Si/No)	pH (-)	EC (mS/cm)	Humedad (-)	Temperatura (°C)	Observaciones
4	1										
5	2										
6	3										
7	4										
8	5										
9	6										
10	7										
11	8										
12	9										
13	10										

Figura 39: Planilla de seguimiento y monitoreo en formato Excel

REGISTRO PRODUCCIÓN DE BIOMASA

	Especie N°1	Biomasa (kg)		Especie N°2	Biomasa (kg)	
	Etiqueta	Parte aérea	Raíces	Etiqueta	Parte aérea	Raíces
Exp No. 1	E1-B0-1			E2-B0-1		
	E1-B0-2			E2-B0-2		
	E1-B50-1			E2-B50-1		
	E1-B50-2			E2-B50-2		
	E1-B100-1			E2-B100-1		
	E1-B100-2			E2-B100-2		
	E1-B500-1			E2-B500-1		
	E1-B500-2			E2-B500-2		
	E1-B1000-1			E2-B1000-1		
	E1-B1000-2			E2-B1000-2		
Exp No. 2	E1-C0-1			E2-C0-1		
	E1-C0-2			E2-C0-2		
	E1-C50-1			E2-C50-1		
	E1-C50-2			E2-C50-2		
	E1-C100-1			E2-C100-1		
	E1-C100-2			E2-C100-2		
	E1-C500-1			E2-C500-1		
	E1-C500-2			E2-C500-2		
	E1-C1000-1			E2-C1000-1		
	E1-C1000-2			E2-C1000-2		

Figura 40: Planilla de registro de la producción de biomasa (cosecha) en formato imprimible.