



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**

*La Universidad Católica de Loja*

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Evaluación de la capacidad de *Sporosarcina pasteurii* para  
la precipitación inducida microbiológicamente como  
tratamiento de relaves mineros**

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de:

**INGENIERO AMBIENTAL**

**Autor:** Ramírez Cumbicos, Christian Alex

**Director:** Jumbo Flores, Diana Carolina

LOJA

2024



*Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>*

2024

## Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular

Loja, 16 de octubre de 2024

Magister,  
Mercedes Alexandra Villa Achupallas  
**Directora de la carrera de Ingeniería Ambiental**

Ciudad

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Integración Curricular denominado: Evaluación de la capacidad de *Sporosarcina pasteurii* para la precipitación inducida microbiológicamente como tratamiento de relaves mineros realizado por Christian Alex Ramírez Cumbicos ha sido orientado y revisado durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Director: Diana Carolina Jumbo Flores, Mgtr.

C.I.: 1104114119

Correo electrónico: dcjumbo07@utpl.edu.ec

### **Declaración de autoría y cesión de derechos**

Yo, Christian Alex Ramírez Cumbicos, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autor del Trabajo de Integración Curricular denominado: Evaluación de la capacidad de *Sporosarcina pasteurii* para la precipitación inducida microbiológicamente como tratamiento de relaves mineros, de la carrera de Ingeniería Ambiental, específicamente de los contenidos comprendidos en: Capítulo I marco teórico, capítulo II metodología, siendo Diana Carolina Jumbo Flores, directora del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad. Eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual de este trabajo.

Que la presente obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad", en tal virtud, cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponden en calidad de autor/a, de forma incondicional, completa, exclusiva y por todo el tiempo de su vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

.....

Autor: Christian Alex Ramírez Cumbicos

C.I.: 1104913221

Correo electrónico: [caramirez18@utpl.edu.ec](mailto:caramirez18@utpl.edu.ec)

## **Dedicatoria**

En primer lugar, quiero agradecer a Dios sobre todas las cosas por regalarme vida y salud para llevar a cabo mis estudios, a mi madre Emelia Dolores Cumbicos Paucar y a mi padre Manuel Enrique Ramírez Ramírez, que siempre estuvieron pendientes en mi progreso, por su apoyo incondicional esfuerzo constante, consejos, palabras de aliento en cada paso de este proceso. A mis gemelos Daniel Ramírez y Andy Ramírez por ser mi motivación día a día, mi apoyo y sobre todo por compartir conmigo mis logros y fracasos y siempre amarme a seguir adelante.

*Christian Ramírez*

## **Agradecimiento**

Agradezco a la Universidad Técnica Particular de Loja por abrirme sus puertas para poder realizar mis estudios en sus instalaciones. A las autoridades y docentes de la carrera y por su tiempo, dedicación y por los conocimientos impartidos en el transcurso de mis estudios.

Finalmente, mis agradecimientos son para mi tutora Mgtr. Diana Carolina Jumbo Flores, por su apoyo incondicional, paciencia, constancia y sobre todo por ser la principal guía en el desarrollo de mi trabajo de investigación, ya que sin su ayuda esto no hubiese sido posible.

*Christian Ramírez*

## Índice de contenido

Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular .....	II
Declaración de autoría y cesión de derechos .....	III
Dedicatoria.....	V
Agradecimiento.....	VI
Resumen .....	1
Abstract.....	2
Introducción .....	3
Capítulo uno .....	5
Marco teórico .....	5
1.1 Relaves mineros .....	5
1.1.1. <i>Estado actual de los relaves en Ecuador</i> .....	5
1.1.2. <i>Tratamiento de los relaves</i> .....	6
1.2 Caracterización de los relaves.....	6
1.2.1 <i>Parámetros físicos</i> .....	7
1.2.2 <i>Parámetros químicos</i> .....	8
1.2.3 <i>Parámetros mecánicos</i> .....	11
1.3 Técnicas de estabilización .....	12
1.3.1 <i>Técnicas tradicionales o químicas</i> .....	12

1.3.2	<i>Técnicas avanzadas o biológicas</i> .....	13
	Capítulo dos .....	16
	Metodología.....	16
2.1	Diseño experimental .....	16
2.1.1	Área de estudio y toma de muestras.....	16
2.1.2	Caracterización física, química y mineralógicamente los relaves mineros .....	17
2.1.3	Aplicación y evaluación de la MICP utilizando <i>Sporosarcina pasteurii</i> en relaves.....	20
	Capítulo tres .....	23
	Resultados y discusión.....	23
3.1	Análisis de resultados .....	23
3.1.1	Conductividad Eléctrica (CE) .....	23
3.1.2	pH.....	24
3.1.3	Carbonatos .....	25
3.1.4	Capacidad de intercambio catiónico.....	27
3.1.5	Fluorescencia de rayos X (FRX).....	28
3.1.6	Difracción de Rayos X (DRX).....	30
3.1.7	Sistema Unificado de Clasificación de suelos (SUCS) .....	31
3.1.8	Límites de Atterberg.....	31
3.1.9	Análisis granulométrico.....	33

<b>3.1.10 Bases intercambiables.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1.11 Análisis de metales .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1.12 Compresión Simple.....</b>	<b>38</b>
<b>3.2 Discusión de resultados.....</b>	<b>39</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>43</b>
<b>Recomendaciones .....</b>	<b>44</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>45</b>
<b>Apéndice.....</b>	<b>55</b>
<b>Apéndice A. Análisis de pH .....</b>	<b>55</b>
<b>Apéndice B. Análisis de carbonatos .....</b>	<b>56</b>
<b>Apéndice C. Análisis de compresión simple.....</b>	<b>57</b>
<b>Apéndice D. Análisis conductividad eléctrica.....</b>	<b>58</b>
<b>Apéndice E. Análisis de CIC.....</b>	<b>58</b>
<b>Apéndice F. Preparación de bacteria .....</b>	<b>59</b>
<b>Apéndice G. Análisis del Índice de plasticidad (Limites de Atterberg).....</b>	<b>60</b>
<b>Apéndice H. Periodo de curado .....</b>	<b>60</b>
<b>Apéndice I. Periodo de curado.....</b>	<b>61</b>

### Índice de tablas

Tabla 1 Escala granulométrica de las partículas del suelo .....	7
Tabla 2 Clasificación de los principales carbonatos.....	11
Tabla 3 Clasificación SUCS de las muestras de relave .....	34

### Índice de figuras

Figura 1 <i>Representación gráfica de la densidad real y aparente del suelo</i> .....	8
Figura 2 <i>Límites de consistencia de Atterberg</i> .....	8
Figura 3 <i>Vía de secreción y precipitación de biominerales en la célula de una bacteria</i> .....	15
Figura 4 <i>Precipitación de CaCO<sub>3</sub> impulsada por ureólisis</i> .....	15
Figura 5 <i>Ubicación del área de estudio</i> .....	16
Figura 6 <i>Conductividad eléctrica del relave</i> .....	23
Figura 7 <i>Determinación del pH por el método analítico</i> .....	25
Figura 8 <i>Carbonatos del relave</i> .....	26
Figura 9 <i>Capacidad de intercambio catiónico del relave</i> .....	27
Figura 10 <i>Compuestos mayoritarios y minoritarios de las muestras</i> .....	28
Figura 11 <i>Compuestos trazas de las muestras</i> .....	29
Figura 12 <i>Composición mineralógica del análisis DRX</i> .....	30
Figura 13 <i>Límites de Atterberg</i> .....	32
Figura 14 <i>Carta de plasticidad de la muestra de relave</i> .....	33
Figura 15 <i>Valores de las bases intercambiables (Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>)</i> .....	36
Figura 16 <i>Concentraciones de metales (Cu, Fe, Ni y Cd)</i> .....	37
Figura 17 <i>Resultados de compresión simple</i> .....	38

## Resumen

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de suelos y bioprocesos de la Universidad Técnica Particular de Loja con el fin de aplicar un tratamiento de estabilización en muestras de relaves que fueron obtenidos Empresa Minera Lunding Gold S.A. Donde se utilizó un tratamiento biológico de estabilización, el cual, permitió que la bacteria precipite carbonato de calcio en formas de cristales que actúan como aglutinante para unir las partículas del relave.

Se elaboraron probetas remoldadas considerando la densidad y las normas de la empresa Minera Lunding Gold S.A. La aplicación de la bacteria se la efectuó mediante dos métodos. En el método de irrigación (M1), a la probeta ya formada se le aplicó la bacteria y la solución cementante y, en el de mezclado (M2), se agrupó los componentes. Para ambos métodos, se inoculó la bacteria en dos ocasiones (a las 24 horas) en cada probeta de relave. Se agregó 15 ml de la sustancia cementante (cloruro de calcio 1N), durante 5 días cada 8 horas. Posteriormente, se analizó la resistencia y eficiencia del proceso en las probetas mediante los análisis geomecánicos y parámetros físicos-químicos del relave.

Finalmente, los resultados obtenidos muestran la máxima tensión que pueden soportar la muestra de relave ante una fuerza uniaxial. Con el tratamiento aplicado la muestra M1 indicó la mejora de 94.5 % y en M2 de 337.5%. Obtenido mejores resultados la muestra de suelo por el método mezclado (M2).

**Palabras clave:** estabilización, fuerza uniaxial, precipitación de carbonatos.

### Abstract

The present research work, Evaluation of the capacity of *Sporosarcina pasteurii* for microbiologically induced precipitation as a treatment of mining tailings, was carried out in the soil and bioprocess laboratories of the Private Technical University of Loja in order to apply a stabilization treatment in samples. of tailings that were obtained Empresa Minera Lunding Gold S.A. Where the respective biological treatment was used which allowed the bacteria used to precipitate calcium carbonate in crystal forms that act as a binder to bind the soil particles.

Remolded specimens were made considering the density and adhering to the standards of the company Minera Lunding Gold S.A. The density of each test tube was applied at 1.72 g/ml based on the density established by the aforementioned company. The bacteria was inoculated twice (24 hours later) in each tailings test tube. 15 ml of the cementing substance (1N calcium chloride) was added for 5 days every 8 hours and 15 ml of the bacteria per test tube was added every 24 hours. Subsequently, the resistance and efficiency of the process in the specimens was analyzed through geomechanical analyzes and physical-chemical parameters of the tailings.

Finally, the results obtained show the maximum tension that the tailings sample can withstand in a uniaxial force. With the treatment applied, sample M1 indicates an improvement of 94.5% and 337.5% in M2. Better results were obtained for the soil sample by the mixed method (M2).

**Keywords:** stabilization, was uniaxial, carbonate precipitation.

## Introducción

Ecuador tiene una actividad minera desde la época precolonial explotando especialmente oro y plata. Es una de las principales actividades económicas del país y contribuye con el 1.6 % de Producto Interno Bruto del Ecuador (Ministerio De Energía y Recursos Naturales No Renovables, 2020).

Esta actividad es una de las fuentes principales para el ingreso de metales pesados en los ecosistemas debido al uso de sustancias químicas con alto grado de toxicidad, como el mercurio, ácido sulfúrico y disolventes, lo que ha generado y genera una severa contaminación ambiental produciendo efectos adversos en la salud de las poblaciones cercanas.

La actividad minera produce desechos peligrosos como los relaves y, en muchos casos, esta actividad deja pasivos ambientales que afectan al ecosistema y a las poblaciones aledañas que tienen que lidiar con sus consecuencias (Ubaque *et al.*, 2014). Estos pasivos han provocado la fragmentación de los ecosistemas, la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas, contaminación atmosférica, contaminación al suelo y han dejado impactos sobre la flora y fauna (Bruguera Amarán, 2022).

Los relaves consisten en roca molida, agua y químicos y partículas de metales pesados como cianuro, arsénico, plomo, cadmio, zinc y mercurio, entre otros. Por estas características potencialmente tóxicas, los relaves tienen que permanecer resguardados en depósitos de relaves o relaveras. (Teijlingen, 2019). Con mucha frecuencia, una vez concluida la actividad minera estos relaves no son estabilizados ni química ni físicamente y son muy peligrosos tanto para el ambiente como para la salud humana ya que provoca un gran número de enfermedades, y además al estar en contacto con agua y oxígeno genera ácido lo que convierte a estos relaves en grandes fuentes de peligro y contaminación.

A través de los años se han buscado diferentes técnicas de control convencionales como la aplicación de cal hidratada o de cemento para estabilizar relaves mineros. Sin embargo, en este estudio se plantea el uso de una tecnología avanzada denominada la precipitación de carbonatos inducida microbiológicamente (MICP). La MICP es una alternativa amigable con el ambiente porque emplea menos energía para su producción, es de bajo costo y no genera gases de efecto invernadero (Portugal, *et al.*, 2020)

Al aplicar bacterias con capacidad ureolítica como *Sporosarcina pasteurii* se obtiene carbonato, que son pequeños cristales comúnmente conocidos como biocemento. El carbonato mejora las propiedades del suelo, ya que es el enlace mineral que conecta las partículas y llena los vacíos entre ellas. Esta técnica se adopta para cambiar las propiedades mecánicas (rigidez y resistencia) e hidráulicas (permeabilidad) del medio poroso o para la reparación de superficies como piedra y hormigón (Achal *et al.*, 2013).

*Sporosarcina pasteurii* es una bacteria que puede ser utilizada para diversas aplicaciones, una de ellas, es la estabilización de suelos, sin embargo, en este estudio se pretende evaluar el potencial de esta bacteria como insumo para el tratamiento de relaves mineros, contribuyendo en la disminución del impacto ambiental que la actividad minera ocasiona.

El presente estudio evalúa la estabilización biológica con la bacteria *Sporosarcina pasteurii*. Las muestras fueron obtenidas a través de la Empresa Minera Lunding Gold S.A. ubicada en la provincia de Zamora Chinchipe. Para el siguiente estudio se planteó, caracterizar las muestras y evaluar el efecto de la precipitación de calcita inducida microbiológicamente en los relaves mineros.

## Capítulo uno

### Marco teórico

#### 1.1 Relaves mineros

Los relaves mineros son desechos o subproductos de procesos mineros, conformados por una mezcla de minerales, agua y roca molida que contienen altas concentraciones de químicos (Astete *et al.*, 2009 y Zamarreño *et al.*, 2020). Debido a que contienen metales, metaloides y reactivos químicos, se consideran peligrosos, ya que pueden propagarse a través de medios eólicos o hídricos hacia sistemas terrestres y acuáticos, causando graves impactos ambientales (Anawar, 2015).

La generación de relaves es una consecuencia de la actividad minera y ocasiona diversos impactos ambientales, sociales y económicos (Huaranga Moreno *et al.*, 2021). Tienen el potencial de desequilibrar los ecosistemas, ocasionar perturbaciones en el modo de vida y la salud de la población, degradar el suelo, el agua, el aire y modificar paisajes naturales (Menéndez & Muñoz, 2021).

##### 1.1.1. Estado actual de los relaves en Ecuador

Ecuador se ha posicionado como un destino atractivo para la inversión minera en Latinoamérica (Jamasmie, 2017). La contribución del sector minero al Producto Interno Bruto total (PIB) osciló entre el 1.17% y el 1.56% entre 1999 y 2016 (Almeida, 2019), con un aumento gradual en los últimos años, alcanzando un valor de 1.48% a 1.51% en el período 2013 - 2016. A pesar de esto, uno de los grandes problemas que conlleva la actividad minera en todas sus escalas es el tratamiento y disposición de los relaves (Moreno, 2023) que en el Ecuador, la mayoría están dentro de ecosistemas sensibles como la Amazonía, los páramos, o el Chocó Andino (Teijlingen, 2019).

### **1.1.2. Tratamiento de los relaves**

Los elevados volúmenes de relaves que se generan en la minería requieren una gestión adecuada, ya sea para su disposición final o para su reaprovechamiento (Enríquez *et al.*, 2022), con el fin de proteger la integridad física de las personas, el ambiente y medio socio cultural circundante (Espín *et al.*, 2017). Una mala gestión de los relaves puede ser una fuente generadora de drenaje ácido que afectan, principalmente, al agua y suelo, alterando sus propiedades físico-químicas, incrementando las concentraciones de metales y metaloides, y ocasionando procesos de bioacumulación (Enríquez *et al.*, 2022).

Con la finalidad de proponer alternativas de solución a la problemática ambiental asociada a los relaves mineros, se ha buscado implementar reutilizar estos residuos aplicando un valor agregado de manera directa al relave, bajo la forma de agregado para la construcción en la fabricación de ladrillos y baldosas (Romero & Flores, 2010). Además, se ha identificado que los relaves tienen la capacidad de reemplazar a un agregado tradicional, como la arena, para la fabricación de adoquines (Enríquez *et al.*, 2022). En otros casos, se utilizan para relleno de galerías o sistemas de relleno con mortero de relave (mezcla de relave con materiales como cemento, arena y agua), para mejorar la confiabilidad del sostenimiento en la minería subterránea (Castañeda Ames *et al.*, 2015).

## **1.2 Caracterización de los relaves**

La caracterización se realiza mediante la medición de parámetros físicos, químicos y mecánicos. Estos parámetros son importantes para entender la composición y comportamiento de los relaves, así como para establecer estrategias adecuadas de manejo y tratamiento necesario para una correcta gestión (Candia, 2019).

### 1.2.1 Parámetros físicos

Entre los parámetros físicos más destacables para la caracterización de relaves mineros se encuentra la granulometría, densidad, permeabilidad, porosidad, textura, límites de Atterberg (límite líquido, límite plástico e índice de plasticidad), entre otros aspectos que permiten conocer la naturaleza y comportamiento del material de los relaves (Baldeón Travezaño & Gabancho Valderrama, 2016).

- **Granulometría**, se refiere a la proporción, expresada en porcentaje, de los distintos tamaños de partículas que conforman una muestra de agregado (Fierro Quintana & Asitimbay Almeida, 2019). En los relaves mineros, la granulometría puede variar dependiendo del material que sea procesado. Esta característica es fundamental para evaluar la permeabilidad de los relaves y su capacidad y estabilidad para soportar cargas (Kim *et al.*, 2011). En la tabla 1 se clasifica el tamaño de las partículas con su respectiva proporción:

**Tabla 1**

*Escala granulométrica de las partículas del suelo*

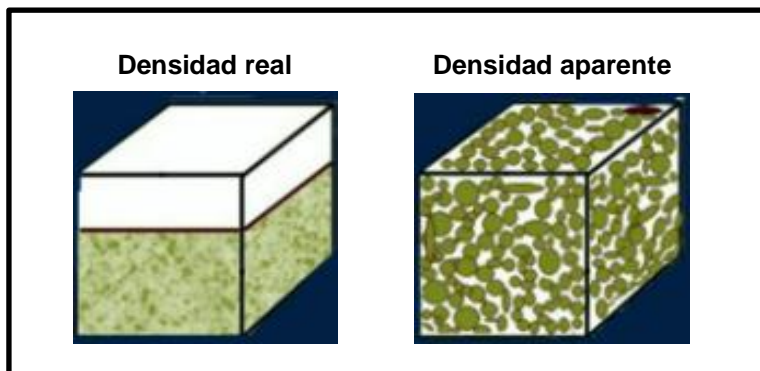
<b>Partícula</b>	<b>Tamaño</b>
Arcilla	< 0,002 mm
Limo	0,002-0,06 mm
Arena	0,06-2 mm
Grava	2-60 mm

*Nota.* Adaptado de Combatt-Caballero et al (2018).

- **Densidad real y aparente** son parámetros importantes en la caracterización de los relaves mineros porque pueden variar dependiendo que tipo de mineral procesado, lo que puede influir en su comportamiento y estabilidad (Flórez-Nisperuza *et al.*, 2018). La densidad real se refiere a la masa de sólidos por unidad de volumen, excluyendo sus espacios vacíos; mientras que, la densidad aparente es la masa del material seco por unidad de volumen, es decir, el volumen incluyendo su parte sólida y todos sus espacios vacíos (Figura 1) (Alonso Rodríguez, 2010).

**Figura 1**

*Representación gráfica de la densidad real y aparente del suelo*

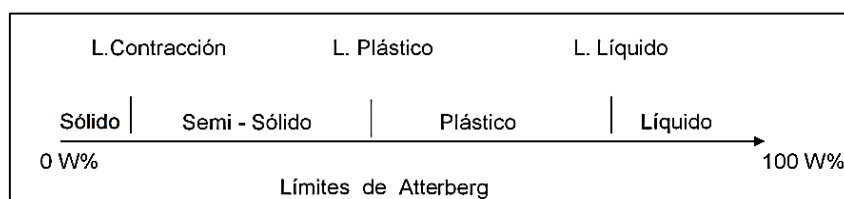


*Nota.* Adaptado de (Llanes, 2012).

- **Límites de Atterberg.** Según Hernández-Sánchez *et al.*, (2019), los límites de Atterberg, que consisten en el límite plástico inferior o límite plástico (LP) y límite plástico superior o límite líquido (LL), son parámetros importantes para evaluar la estabilidad de relaves mineros y se definen como un rango en el contenido de humedad en el que el suelo presenta una consistencia plástica. Cuando el contenido de humedad del suelo se encuentra por debajo del LP, su consistencia se vuelve frágil. En contraste, si el contenido de humedad del suelo supera el LL, éste se comporta como un líquido y puede fluir con facilidad. La diferencia entre el LL y LP se denomina índice de plasticidad (IP) (Figura 2).

**Figura 2**

*Límites de consistencia de Atterberg*



*Nota.* Adaptado de Caro Linares (2018).

### 1.2.2 **Parámetros químicos**

Estos parámetros químicos incluyen compuestos presentes en los relaves como el pH, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, bases intercambiables,

difracción de rayos X, fluorescencia de rayos X, concentración de metales pesados, carbonatos, entre otros compuestos (Candia, 2019).

- **pH** se usa para especificar el grado de acidez o alcalinidad de una solución acuosa.

En los relaves mineros el pH influye en la solubilidad y movilidad de metales pesados u otros contaminantes (Fernandez Ochoa *et al.*, 2022).

La MICP se produce a un pH elevado, y se adopta principalmente al cambiar las propiedades mecánicas (rigidez y resistencia) e hidráulicas (permeabilidad) del medio poroso, mediante la generación de minerales de carbonato de calcio que unen los granos del suelo y reducen la porosidad, por lo que tiene un gran potencial en aplicaciones geotécnicas (Cardoso *et al.*, 2020).

La enzima ureasa producida por las bacterias que intervienen en la MICP (bacterias con alta capacidad de tolerar altas concentraciones de iones metálicos) puede hidrolizar la urea a iones de carbonato, lo que conduce a un aumento del pH, lo que resulta en la mineralización de los iones de metales pesados y su conversión final en precipitados de carbonatos metálicos (Khadim *et al.*, 2019). Cabe recalcar que los carbonatos tienen un efecto significativo sobre el pH (FAO, 2021). Además, la hidrólisis de la urea conduce a un aumento en el pH al utilizar *Sporosarcina pasteurii*, debido a la producción de amonio (Omoregie, 2016).

- **Conductividad eléctrica (CE)**, es una medida de la capacidad de una solución para conducir corriente eléctrica. Puede ser utilizada para estimar la concentración de las sales y la concentración total de iones en los relaves (Solís-Castro *et al.*, 2018).

- **Capacidad de intercambio catiónico** es una medida de la capacidad del suelo para absorber cationes y determinar la cantidad de sitios disponibles para almacenar cationes en el suelo, los cuales pueden ser intercambiados por otros, convirtiéndose en cationes intercambiables (Castaño Robayo & González Veloza, 2022).

- **Bases intercambiables** son cationes en el suelo que están disponibles para ser intercambiados con cationes de la solución del suelo. Estos cationes incluyen calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), potasio ( $\text{K}^+$ ) y sodio ( $\text{Na}^+$ ) (Otero Gómez *et al.*, 2013).

Los iones de calcio juegan un papel importante en la MICP; en donde, una menor concentración de iones de calcio significa un nivel satisfactorio de descomposición del amonio que podría aumentar la actividad microbiana. Por el contrario, una mayor concentración de reactivos de cementación (urea e iones de calcio) extiende la precipitación de calcita inducida durante el proceso MICP (Omoregie, 2016). La precipitación de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) se produce en presencia de iones de calcio (Safdar *et al.*, 2021).

- **Difracción de rayos X (DRX)** es una herramienta que se utiliza para determinar la microestructura y composición de minerales, compuestos y materiales (Aguilar *et al.*, 2013). Permite analizar la composición de suelos e identificar minerales, aleaciones, metales, materiales catalíticos, ferroeléctricos y luminiscentes entre otros. Además, ayuda a determinar la estructura cristalina, la composición de un material y calcular los tamaños de grano a partir de difractogramas (Aparicio Ceja & Carbajal Arizaga, 2021).

- **Fluorescencia de rayos X (FRX)** es un método de análisis químico que permite la cuantificación no destructiva y rápida de varios elementos simultáneamente sin procedimientos complejos de preparación. Es utilizada para determinar la presencia y concentración de elementos químicos (Moreno Velásquez, 2019).

- **Concentración de metales pesados.** Los metales a evaluar son hierro (Fe), zinc (Zn), níquel (Ni), cobre (Cu) y cobalto (Co), los cuales pueden estar presentes en los relaves mineros, influyendo en el tratamiento de remediación a aplicar, sobre todo si son tratamientos biológicos. La presencia de ciertos elementos puede tener un impacto en el crecimiento de microorganismos, inhibir e incluso intoxicar la reacción bioquímica provocando una deficiencia en el proceso (Liu *et al.*, 2011; Castillo, 2017; Muñoz, 2019).

• **Carbonatos** son iones de carbono y oxígeno, representados químicamente como  $\text{CO}_3^{2-}$  y pueden estar presentes en el suelo de forma natural por la descomposición de materia orgánica o lixiviación de rocas carbonatadas (dolomita y calcita) (Rivera Uria *et al.*, 2020). En la tabla 2 se explican los principales tipos de carbonatos:

**Tabla 2**

*Clasificación de los principales carbonatos*

Grupo de los carbonatos		
Nombre	Fórmula	Características
<b>Calcita</b>	$\text{CaCO}_3$	Mineral más común de los carbonatos. Es el principal componente de las rocas sedimentarias.
<b>Dolomita</b>	$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$	Importante en la formación de rocas sedimentarias llamadas dolomías.
<b>Siderita</b>	$\text{FeCO}_3$	Se forma en ambientes sedimentarios y metamórficos.
<b>Magnesita</b>	$\text{MgCO}_3$	Es uno de los principales minerales de magnesio y se forma en ambientes sedimentarios y metamórficos.
<b>Ankerita</b>	$\text{Ca}(\text{Mg,Fe})(\text{CO}_3)_2$	Se forma en ambientes sedimentarios y metamórficos. Es menos común que otros carbonatos como la calcita o la dolomita.

*Fuente.* Adaptado de (Tritlla *et al.*, 2006)

### 1.2.3 Parámetros mecánicos

Los parámetros mecánicos de los relaves mineros se relacionan con su capacidad de soportar cargas y su estabilidad, además su resistencia, deformabilidad, cohesión y fricción mediante la determinación de parámetros como corte directo o compresión triaxial (Ortiz Bernad *et al.*, 2007), los cuales se pueden cuantificar a través de los siguientes ensayos:

- **Módulos de Poisson (ASTM C469)** mide la relación entre la deformación lateral y axial que tiene un material, en el caso de materiales de construcción como concreto, la prueba ASTM C469 es empleada para determinar este coeficiente, mediante cargas axiales y transversales (Serrano-Guzmán & Pérez-Ruiz, 2010).

- **Corte directo (ASTM D3080)** determina la resistencia al corte de cierto material, en donde se aplica una carga de corte en una muestra de material para posteriormente medir la resistencia (Chávez Burgos, 2015).

- **Compresión simple** sirven para evaluar la resistencia de un material sometido a cargas de compresión, en esta prueba se aplica una carga axial gradualmente creciente a un material, lo cual permite evaluar la capacidad del material de soportar una carga excesiva sin presentar deformación o fallas (Tierra-Pérez *et al.*, 2020).

- **Compresión triaxial UU (ASTM 2850) y CU (ASTM 4767).** Las pruebas de compresión triaxial UU (No Consolidado No Drenado) y CU (Consolidado No Drenado) permiten determinar la resistencia al corte y deformación de los suelos, registrando las respuestas de las muestras a las cargas de corte aplicadas (Escobar Villagómez & Vásconez Freire, 2023).

### 1.3 Técnicas de estabilización

Las técnicas de estabilización aplicadas para relaves mineros se utilizan para mejorar propiedades físicas, mecánicas y de resistencia del suelo; además, para reducir posibles riesgos ambientales asociados a este tipo de residuos y para ayudar a mejorar la salud de las comunidades aledañas a sitios mineros (Alarcón *et al.*, 2020).

#### 1.3.1 Técnicas tradicionales o químicas

Las técnicas de estabilización química para relaves mineros implican la adición de sustancias químicas para mitigar el efecto de contaminantes y mejorar su resistencia. En este

tipo de estabilización se incluye el uso de materiales como: Cemento, cal, ceniza volante, yeso, entre otros (Rivera *et al.*, 2020).

- **Cemento portland** (OPC) es un aglutinante muy utilizado a nivel mundial porque posee la capacidad de estabilizar una amplia variedad de suelos, aunque es mucho más efectivo en suelos arenosos y en suelos arcillosos con índices de plasticidad entre mediano y bajo (Rivera *et al.*, 2020). Este proceso se realiza por medio de la hidratación cuya función es cementar las partículas del suelo para generar estabilidad a diferentes cambios de humedad que ocurren en el ambiente, formando compuestos de silicato cálcico hidratado. Se reduce la carga neta superficial provocando que las moléculas de agua tengan una menor afinidad del material (Pandey & Rabbani, 2017).

- **Cal.** La adición de cal es una de las técnicas más usadas para estabilizar el suelo. Se aplica la cal en suelos arcillosos y las partículas pierden la cohesión convirtiendo al suelo en un material más granular. Los suelos estabilizados con cal mejoran su calidad y sirven para construir pavimentos y cimentaciones, cabe recalcar el porcentaje de cal no debe exceder al 8 % (Rivera *et al.*, 2020).

- **Cenizas volantes** (CV) se clasifican dependiendo del carbón empleado en la combustión, pero las más encontradas en los procesos son: cenizas tipo F y cenizas tipo C (Rivera *et al.*, 2020). Las cenizas tipo F están compuestas de óxidos de silicio, aluminio y hierro; representando un total de 70 % del material y un contenido de óxido de calcio del 10 %, mientras que las cenizas tipo C representan un 30 % óxido de calcio y altos contenidos de óxidos de azufre (SO<sub>3</sub>) (Rivera *et al.*, 2020).

### **1.3.2 Técnicas avanzadas o biológicas**

Las técnicas avanzadas se apoyan de la biotecnología que emplea organismos para la obtención de bienes y servicios (Wilches Flórez, 2010). Existen varios tipos de técnicas avanzadas o biológicas, como se observa a continuación:

- **Precipitación de carbonatos inducida microbiológicamente (MICP)** que resulta de interacciones metabólicas entre diversas comunidades microbianas con compuestos orgánicos o inorgánicos presentes en el ambiente (Perito & Mastromei, 2011 y Ashraf *et al.*, 2021). Este proceso se lleva a cabo por bacterias ureolíticas que aumentan la concentración de iones de carbonato y calcio en el entorno, lo que ayuda a la formación de cristales de carbonato de calcio. Estos cristales pueden formar una matriz cementante que puede mejorar la resistencia y estabilidad del suelo en cuestión (Castro-Alonso *et al.*, 2019). Las bacterias sirven de nucleación para la precipitación de  $\text{CaCO}_3$  en el microambiente (Figura 3) (Sarayu *et al.*, 2014).

Las bacterias que tienen la capacidad de precipitar el carbonato de calcio (biocementación) y se han utilizado con éxito son por ejemplo: bacterias del género *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus* (Skevi *et al.*, 2021) y *Sporosarcina* (*Sporosarcina pasteurii*) (Achal *et al.*, 2009). Además, existen investigaciones sobre el uso de MICP para la eliminación de metales pesados de ambientes contaminados utilizando bacterias ureolíticas (autóctonas o añadidas) capaces de tolerar la toxicidad de los metales pesados (Khadim *et al.*, 2019).

En la figura 4 se representa el proceso durante la precipitación de carbonato inducida por ureólisis. Los iones de calcio en la solución son atraídos por la bacteria a la pared celular debido a la carga negativa de la misma. Tras la adición de urea a las bacterias, se liberan carbono inorgánico disuelto (DIC) y amonio (AMM) en el microambiente de las bacterias (A). En presencia de iones de calcio, esto puede dar como resultado una sobresaturación local y, por lo tanto, una precipitación heterogénea de carbonato de calcio en la pared celular bacteriana (B). Después de un tiempo, toda la célula se encapsula (C), lo que limita la transferencia de nutrientes y provoca la muerte celular (De Muyneck *et al.*, 2010).



## Capítulo dos

### Metodología

#### 2.1 Diseño experimental

El diseño experimental que se planteó fue una comparación de un antes y después del tratamiento de estabilización biológica. Las muestras se realizaron bajo dos métodos de aplicación que se describirán posteriormente. Además, es necesario mencionar que los ensayos se realizaron por triplicado y duplicado analítico para obtener datos robustos.

##### 2.1.1 Área de estudio y toma de muestras

La presente investigación se realizó en la Empresa Minera Lunding Gold S.A. ubicada en la provincia de Zamora Chinchipe.

**Figura 5**

*Ubicación del área de estudio*



*Nota.* Proyecto Minero Fruta del Norte Lunding Gold

La empresa envió 100 kg de relave a la Universidad Técnica Particular de Loja. Las muestras se colocaron en un balde, se traspasaron en vasos de precipitación etiquetados y se colocaron en la estufa (Marca Memmert, Modelo SFP 500) para su secado a una temperatura de entre 40-50 C°. Este proceso se realizó en el Laboratorio de Química de Suelos.

### **2.1.2 Caracterización física, química y mineralógicamente los relaves mineros**

Los parámetros físicos y químicos se realizaron en el laboratorio de Química de Suelos y en el laboratorio de Ingeniería Ambiental. Se realizó un pretratamiento del relave, que consistió en secado y tamizado en el vibro tamiz (Modelo As 200, Marca RETSCH) con el tamiz N°10 (2 mm), durante 5 minutos. El relave tamizado se empleó para la caracterización de los siguientes parámetros.

- **pH.** Se realizó siguiendo el método ASTM D4972 en el pH-metro (marca Mettler Toledo y modelo Seven Compact) que se encuentra en el laboratorio de ingeniería ambiental. Primero se comprobó el funcionamiento del pH-metro mediante la solución buffer de pH 4 con un rango de variabilidad de  $\pm 0.2$  unidades de pH (3.98 – 4.02). En la muestra de relave se realizó en una relación 1:2.5 (m/v). Se pesó 10 g de la muestra (< 2mm) en un vaso de precipitación de 100 ml donde se agregó 25 ml de agua destilada. Se agitó por 30 minutos en el agitador horizontal (GFL 3018 y Schudder- Gemini BV) y se precedió a realizar las lecturas en el pH-metro (Bazán, 2017).

- **Conductividad eléctrica (CE).** Se basó en la norma ISO 11265:1994 en una relación 1:2.5 (m /v). Se agregó 20 g de muestra utilizando vasos de precipitación de 100 ml y se añadió 50 ml de agua destilada. Se agitó en el agitador horizontal (GFL 3018 y Schudder- Gemini BV) por un lapso de 30 minutos. Se filtró y se leyó en el conductímetro (SevenCompact y S230-Basic) (Bazán, 2017).

- **Carbonatos.** Se empleó el método del calcímetro mediante una neutralización ácida (Bazán, 2017). Se pesó 1 g de muestra (< 2mm) en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se añadió 20 ml de HCl (1), se agitó y se calentó lentamente hasta su ebullición. Posteriormente, se cubrió con una luna de reloj y se añadió 50 ml de agua destilada y se dejó actuar por 5 minutos. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se agregó 3 gotas del indicador de fenolftaleína. Por último, se tituló con NaOH a 1N hasta presenciar un cambio de color de tonalidad rosa. Con la ecuación 1 se calculó el porcentaje de carbonato de calcio equivalente ( $\text{CaCO}_3$ ) presente en las muestras de relave.

$$\text{CaCO}_3 \text{equivalente } \% = \left( \frac{V_{\text{HCl}}N_{\text{HCl}} - V_{\text{NaOH}}N_{\text{NaOH}}}{\text{gramos de relave}} \right) \times 0.05 \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

- **Granulometría.** Se realizó por el Sistema unificado de clasificación de suelos (SUCs) y se preparó la muestra según la norma AASHTO T 87; ASTM D 2217. Se colocó 700 g de la muestra en un recipiente y se cubrió con agua. Se lavó la muestra con la ayuda del tamiz. Finalmente, se colocó la muestra en el horno a una temperatura de 110°C por un período de 24 horas.

- **Metales.** Se basó en el método US EPA 3052 y se realizó la lectura en el equipo de absorción atómica de llama (marca Perkin Elmer y modelo AA400) (Bazán, 2017). Para la determinación de los metales se colocó en 3 tubos de digestión 0.5 g de la muestra del relave, se agregó en cada tubo 3 ml de HF y 9 ml de  $\text{HNO}_3$ . Se colocó en la cámara y se dejó actuar por 15 minutos para su digestión. El mismo proceso se realizó para el blanco. Los tubos se colocaron en el sistema de digestión de microondas y se dejó actuar por 45 minutos, se filtró el contenido en vasos de precipitación de 25 ml, se aforó con agua destilada y se tapó la muestra. Se realizaron los estándares de cada uno de los metales y se leyeron las muestras en el equipo de absorción atómica de llama (marca Perkin Elmer y modelo AA400).

- **Capacidad de intercambio catiónico.** Se realizó por el método de saturación de acetato de amonio ( $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_2$ ) (Bazán, 2017). Se colocaron 50 g de la muestra en un matraz

de 250 ml, se añadió 40 ml de acetato de amonio ( $C_2H_7NO_2$ ), y se taparon los matraces con parafilm. Se dejó actuar por 30 minutos, se colocó un embudo con filtro y se añadió 60 ml de  $C_2H_7NO_2$ . En un matraz de 250 ml se lavó la muestra del relave con 50 ml de alcohol etílico para eliminar los restos de  $C_2H_7NO_2$ . Se añadió 100 ml de KCl en un embudo con filtro, en balones Kjeldahl se añadió 20 ml de la solución obtenida y 2 ml NaOH 1 N y se destiló en el equipo (Kjedahl - Novatech) por 5 minutos, cada muestra se colocó en vasos de precipitación de 25 ml donde se añadió 2 ml de  $H_3BO_3$  con 0.2 ml del indicador mixto (rojo de metilo al 0.66 % y verde de bromocresol al 0.99 %) en etanol al 95 %. Posteriormente, se tituló con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 0.02 N.

- **Fluorescencia de rayos X (FRX) y difracción de rayos X (DRX).** Las muestras de relave fueron enviadas al Laboratorio de Geociencias para sus respectivos análisis. Los resultados del DRX fueron analizados en el programa HighScore Plus, donde se determinó la composición mineralógica del relave.

- **Límites de Atterberg.** El límite líquido (LL) se realizó según la norma INEN 691 1982 – 05. Para el ensayo en laboratorio, se utilizó una bandeja de aluminio donde se colocó 200 g de muestra del relave tamizado con su respectivo tamaño N° 40 (tamaño de poro de 0,425 mm), posteriormente se agregó agua y con la espátula se homogenizó. Se utilizó la base del equipo Casagrande donde se colocó un porcentaje de muestra y se formó una media luna de profundidad de 10 mm. Se hizo un movimiento de arriba hacia abajo con precaución para evitar pérdidas de la muestra. Seguidamente, se dieron golpes hasta cerrar el espacio de la muestra en una serie de golpes que fueron establecidos en un rango de 15 a 20, de 20 a 25, de 25 a 30 y de 30 a 35. Utilizando la espátula se hicieron dos cortes donde cada parte tuvo una medida (1,5 mm) y se tomó una muestra de cada lado de derecha e izquierda. Las dos partes extraídas se colocaron en diferentes vasos de precipitación, se pesaron las muestras y se colocaron en la estufa (Mettler, Modelo SFP 500) por 24 horas a 110 °C. Para determinar el grado de humedad de la muestra.

El límite plástico (LP) se realizó según la norma INEN 692 1982 – 05. Para determinar el LP se utilizó un plato de porcelana, se agregó 200 g de la muestra de relave y se añadió agua destilada hasta homogenizar. Se formó una esfera para observar su plasticidad, se tomó un porcentaje de muestra y se colocó en una placa de vidrio esmerillado, se formó un rollo en forma de mina de esfero de 3 mm, se dividió la muestra en 6 partes iguales y se colocó en cada vaso de aluminio para llevarlo a la estufa (Mettler, Modelo SFP 500) a 110°C para su secado por 24 horas.

- **Humedad del relave.** Se realizó en base a la norma NTE INEN-ISO 11461. Se colocaron muestras de relave en vasos de precipitación donde se midió la masa. Estos vasos se colocaron en una estufa (Mettler y GmbH CO. kg SFP 500) a 110°C por 120 horas y se registró el peso de la masa seca para posteriormente visualizar porcentaje de humedad.

- **Compresión triaxial UU (ASTM 2850) y CU (ASTM 4767).** Para determinar la compresión triaxial se utilizaron 6 probetas remoldadas por muestra cuyas dimensiones fueron un diámetro de 5 cm y una altura 10 cm. Se determinó la densidad del relave para determinar su compresión, se trituró la muestra en partículas pequeñas y se colocó en un tubo muestreador metálico. Se colocaron cuatro capas de muestra una al inicio y otra a la mitad, dos al final, con el martillo se compactó cada muestra verificando que se apliquen 25 golpes. Se desmoldó la probeta y se registró el peso de cada probeta.

### **2.1.3 Aplicación y evaluación de la MICP utilizando *Sporosarcina pasteurii* en relaves**

Se trabajó en condiciones de esterilidad, por lo tanto, todo el material se autoclavó (matraz Erlenmeyer, probeta, puntas, medio nutriente, urea, entre otros). Se prepararon los siguientes reactivos: (a) Urea (1M), se pesó 100 g de urea y se agregó 500 ml de agua destilada y se agitó para obtener una mezcla homogenizada. En la cabina de flujo laminar (ESCO, Modelo AC2-4E2) se utilizó una jeringa y un filtro de jeringa de polipropileno de 0.45

um (CHMLAB Group-Filter LAB) para obtener una urea estéril. (b) Nutrient broth o caldo nutriente, se pesó 13 g y se diluyó en 1 litro de agua destilada) y se esterilizó en la autoclave.

c) La bacteria *Sporosarcina pasteurii* se adaptó a condiciones de metales pesados, específicamente en: Cloruro de mercurio, nitrato de plomo y solución de cadmio.

En el caso de *Sporosarcina pasteurii* se realizó la cinética celular, para conocer el crecimiento microbiano. Esto permitió conocer el tiempo donde la bacteria alcanza su fase exponencial donde los microorganismos se multiplican a gran velocidad.

En cuanto al relave, se elaboraron probetas remoldadas considerando la densidad y rigiéndose a las normas de la empresa Minera Lunding Gold S.A. Se aplicó la densidad a cada probeta a 1.72 g/ml cumpliendo lo establecido de la empresa minera.

El proceso de aplicación del tratamiento de estabilización se realizó en los dos métodos en el M1 que es de irrigación el cual aquí la probeta está formada y seca, posteriormente se añade 15 ml de inóculo por medio de una pipeta y 15 ml de sustancia cementante (cloruro de calcio), y el método M2 el proceso fue por mezclado donde se utilizó un recipiente y agregamos 824.568 g de la muestra y 50 % de agua destilada y el 50 % de inóculo y sustancia cementante (cloruro de calcio). Una vez mezclada la muestra se realizó armar las probetas.

La aplicación se realizó siguiendo lo propuesto por Omoregie (2016), se inóculó la bacteria en dos ocasiones (a las 24 horas) en cada probeta de relave. Se agregó 15 ml de la sustancia cementante (cloruro de calcio 1N), durante 5 días cada 8 horas y cada 24 horas se añadió 15 ml de la bacteria por probeta.

Las probetas se mantuvieron por un periodo de latencia de 14 días, posteriormente, se desmoldó y se cuantificaron los parámetros de control (pH, conductividad eléctrica, carbonatos, capacidad de intercambio catiónico, análisis de metales, bases intercambiables,

fluorescencia de rayos X y difracción de rayos X), que son las variables con las que se evaluaron la eficiencia de la bioestabilización aplicada al relave.

## Capítulo tres

### Resultados y discusión

#### 3.1 Análisis de resultados

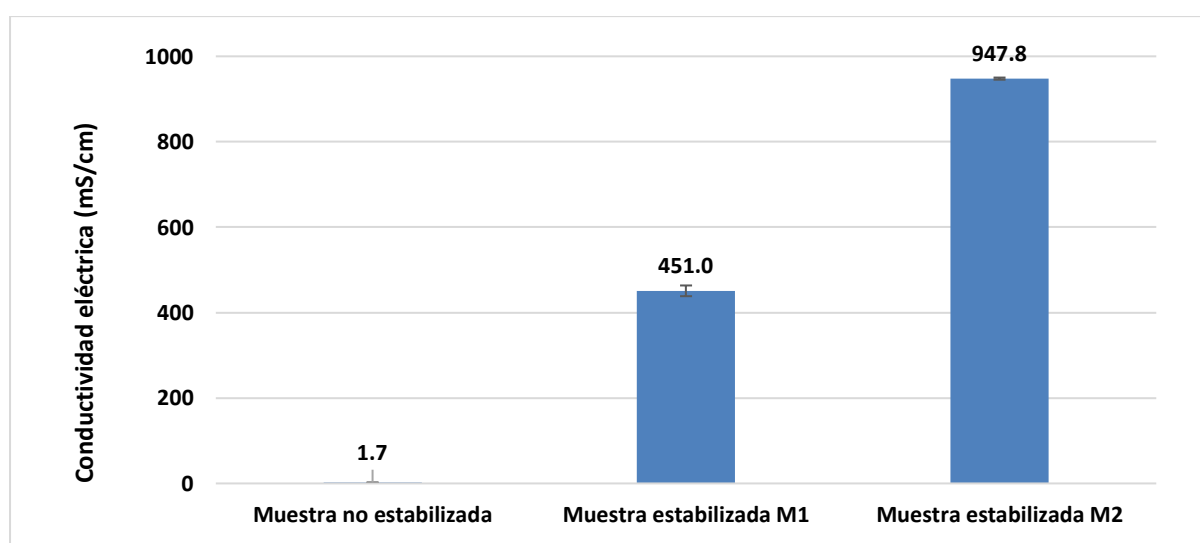
Se presentan los resultados de los parámetros realizados que son: conductividad eléctrica, pH, textura, carbonatos, comprensión simple, capacidad de intercambio catiónico, granulometría, humedad del relave, Límites de Atterberg (límite plástico, límite líquido), cuantificación de metales y difracción de rayos X.

##### 3.1.1 Conductividad Eléctrica (CE)

En la figura 6 se visualiza los resultados de la conductividad eléctrica (CE) del relave. Antes del tratamiento se inició con un promedio de 1.7 mS/cm y después de aplicado el tratamiento se observó en la primera muestra estabilizada por el método de irrigación su promedio es de 451.0 mS/cm y en el segundo método por mezclado su promedio es de 947.8 mS/cm donde se verificó que la conductividad eléctrica aumentó con el tratamiento aplicado.

**Figura 6**

*Conductividad eléctrica del relave*



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados de conductividad eléctrica de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabilizada por irrigación, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada el relave por mezclado de la bacteria y fuente de calcio (M2). Los datos corresponden a los valores medios de los triplicados  $\pm$  DE (n=6).

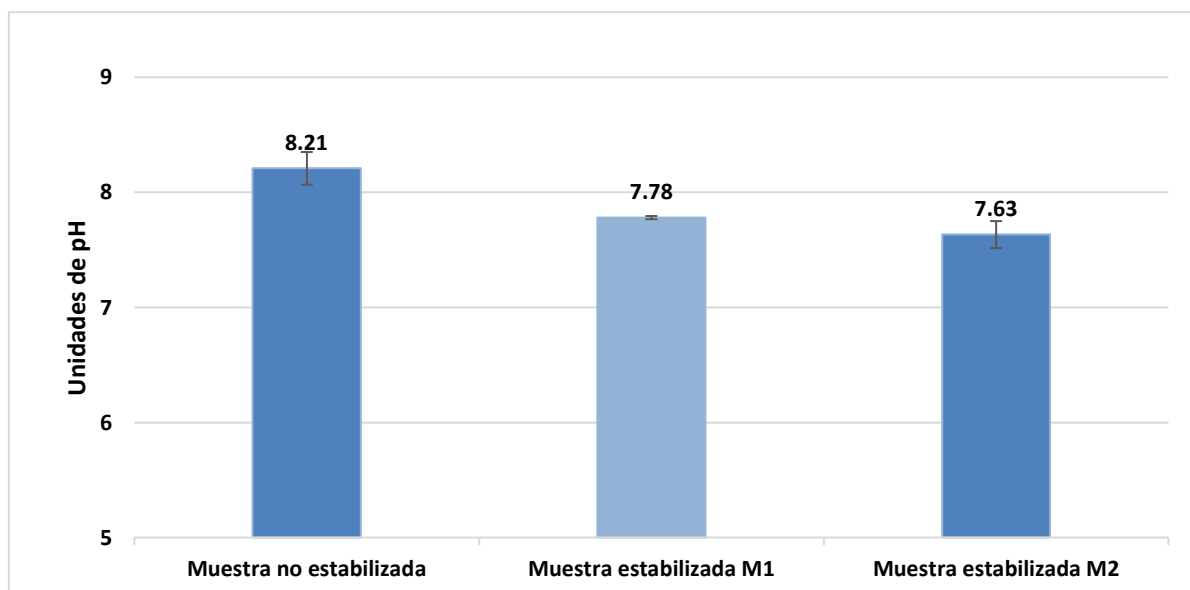
En la técnica de precipitación de carbonatos inducida microbiológicamente (MICP), ocurre una serie de reacciones en medio acuoso denominándose: 1) hidrólisis enzimática de urea, 2) equilibrio del amoníaco en agua, 3) equilibrio del ácido carbónico y 4) precipitación del carbonato (Bhattacharya *et al.*, 2018; Camilo & Marulanda, 2022; Tamayo-Figueroa *et al.*, 2019). En los procesos intermedios de la hidrólisis (1) se forman iones de amonio y dióxido de carbono, provocando el aumento de sales en las muestras de los suelos estabilizados. Por otro lado, como un líquido cementante y fuente de calcio para las bacterias se suministró cloruro de calcio, el cual es una solución salina que podría haber inducido en el aumento de las sales y consecuentemente, la conductividad eléctrica (Harkes *et al.*, 2010; Sharaky *et al.*, 2018). En la figura 6 se muestran los resultados de conductividad eléctrica, siendo notable su aumento en las muestras estabilizadas.

### **3.1.2 pH**

Los resultados obtenidos en el análisis de pH del relave se muestran en la figura 7. Antes del tratamiento tuvo un valor de 8.21 (alcalino). En la muestra estabilizada del primer método por irrigación (M1) se obtuvo un promedio de 7.78 (alcalino) y, del segundo método por mezclado (M2), un valor promedio de 7.63 (alcalino). Lo que significa porcentajes de disminución del 5.23 % en la muestra M1 y en la muestra M2 7.064 %.

**Figura 7**

*Determinación del pH por el método analítico*



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados de pH de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabilizada el relave por irrigación de la bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada con mezcla de relave, bacteria y fuente de calcio (M2). Los datos corresponden a los valores medios de los triplicados  $\pm$  DE (n=6).

En la serie de reacciones de la técnica MICP (mencionadas en el apartado 3.1.1), en la fase de equilibrio de amoníaco, aparte de formarse amonio también se produce iones de hidroxilo lo cual aumentaría el pH de las muestras tratadas. Sin embargo, Camilo & Marulanda (2022) explican que el pH puede llegar a disminuir en la etapa inicial de curado debido a los ácidos orgánicos producidos por el metabolismo de la bacteria. Este hecho podría indicar en qué etapa de la técnica MICP se encontraban la mayoría de cepas bacterianas de las muestras tratadas del relave, siendo la fase inicial de hidrólisis de la urea la más acorde con los datos obtenidos.

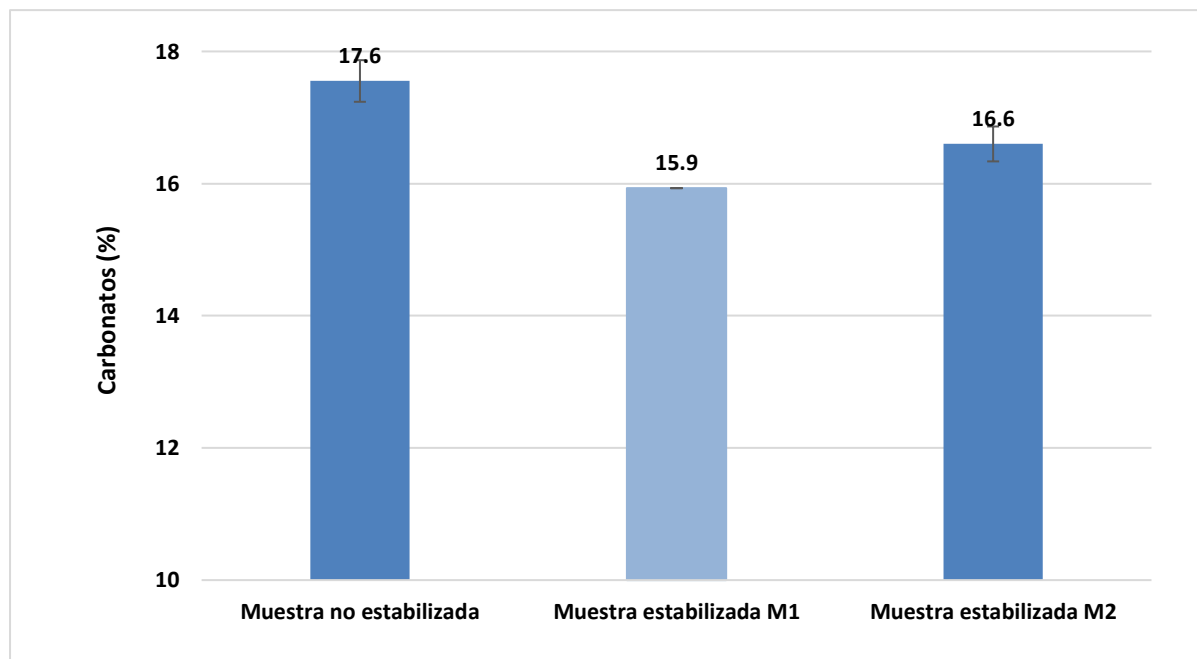
### **3.1.3 Carbonatos**

La concentración de carbonatos se grafica en la figura 8. La muestra sin tratamiento tiene un valor de 17.6 % y después del tratamiento biológico, 15.9 % en el primer método de

irrigación y 16.6 %, en el segundo método por mezclado. Existiendo una mínima disminución, pudiendo indicar que este parámetro no se ha visto afectado por la estabilización biológica.

**Figura 8**

*Carbonatos del relave*



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados de carbonato de calcio de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabilizada por irrigación, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada el relave por mezclado de la bacteria y fuente de calcio (M2). Los datos corresponden a los valores medios de los triplicados  $\pm$  DE (n=6).

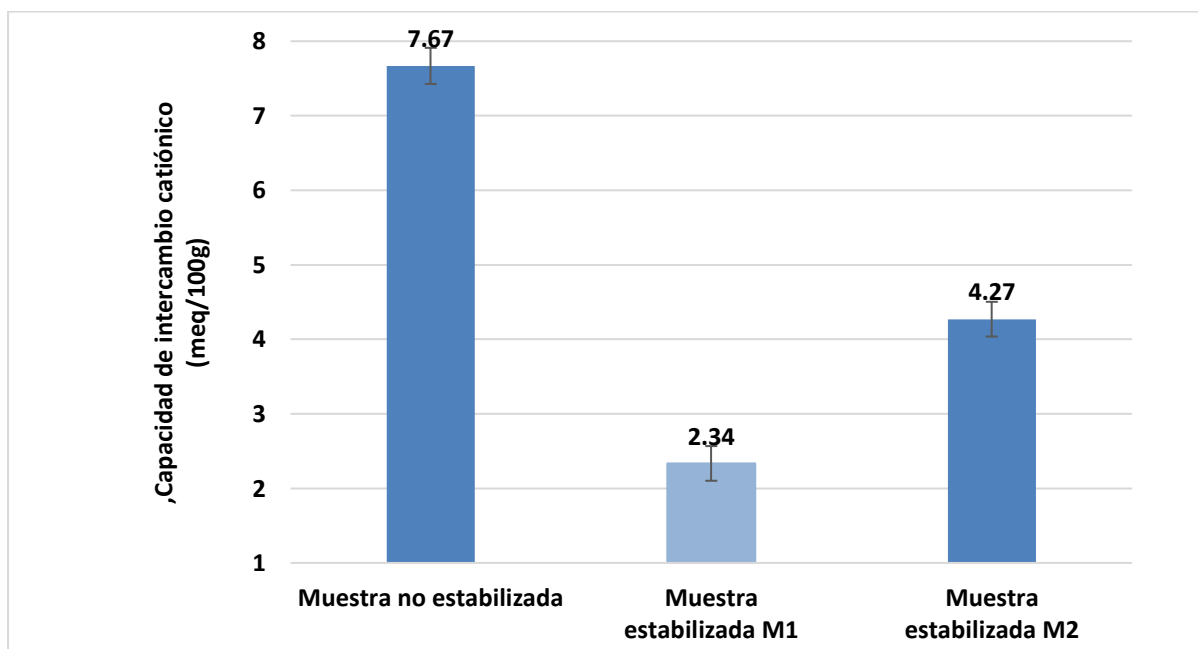
Continuando con las reacciones del MICP, como ultima reacción, los iones de carbonato y los iones de calcio precipitan en forma de cristales de carbonatos de calcio cumpliéndose así la estabilización biológica (Cheng & Cord-Ruwisch, 2012). Sin embargo, anteriormente se señaló que el pH podría indicar que las muestras tratadas no culminaron todas las etapas de la técnica MICP y, por lo tanto, la precipitación de carbonatos no llegó a producirse. En la figura 8 se muestra que no existe aumento en ninguna de las muestras tratadas, sino que, al contrario, se mantienen en un valor próximo al de la muestra no tratada.

### 3.1.4 Capacidad de intercambio catiónico

En la figura 9 se verifica la concentración de la capacidad de intercambio catiónico (CIC). Antes del tratamiento del relave se obtuvo un promedio de 7.67 meq/ 100g. Las muestras tratadas por método 1 y método 2 disminuyeron con valores de 2.34 y 4.27 meq/100g, respectivamente. Según FAO (2024), valores bajos de CIC, indican que el suelo: perdió la capacidad de retener nutrientes, incrementó el tamaño de sus partículas y el pH disminuyó, coincidiendo con los datos anteriores.

**Figura 9**

*Capacidad de intercambio catiónico del relave*



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados de capacidad de intercambio catiónico de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabiliza la muestra por irrigación, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada la muestra por mezcla de la bacteria y fuente de calcio (M2). Los datos corresponden a los valores medios de los triplicados  $\pm$  DE (n=6).

La capacidad de intercambio catiónico se puede definir como la capacidad del suelo de retener cationes intercambiables y por lo tanto una mayor CIC, una mayor retención (Meter *et al.*, 2019). Este parámetro se relaciona directamente con el pH, debido a que al aumentar

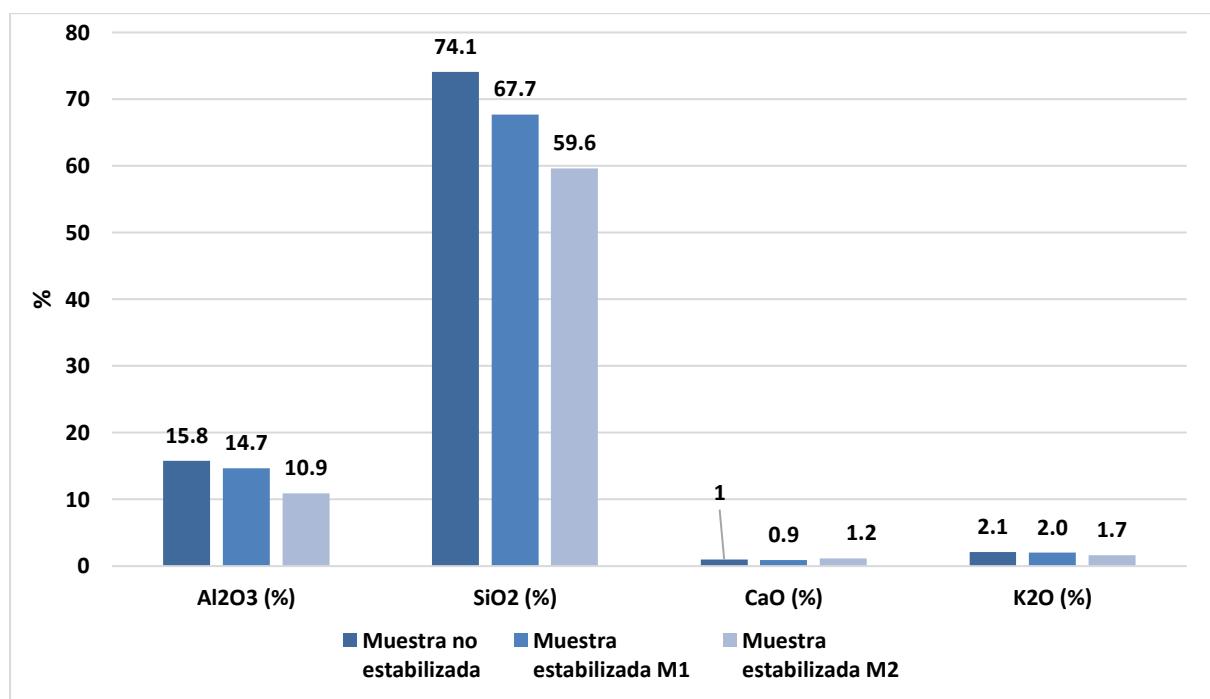
de pH también incrementa la CIC (Camilo & Marulanda, 2022). Dicho lo anterior, las muestras tratadas por los dos métodos (M1 y M2) tienen una baja retención de cationes intercambiables en comparación a la muestra no tratada.

### 3.1.5 Fluorescencia de rayos X (FRX)

El análisis FRX permite conocer la composición química elemental. En la siguiente figura se muestra los compuestos mayoritarios (>1%) y minoritarios (0.1% - 1%). Se identificó que la mayor concentración en la composición del relave es el óxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) con un 74.1%, el cual corresponde al mineral cuarzo.

**Figura 10**

*Compuestos mayoritarios y minoritarios de las muestras*



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados de los compuestos mayoritarios y minoritarios de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabilizada por irrigación, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada el relave por mezclado de la bacteria y fuente de calcio (M2).

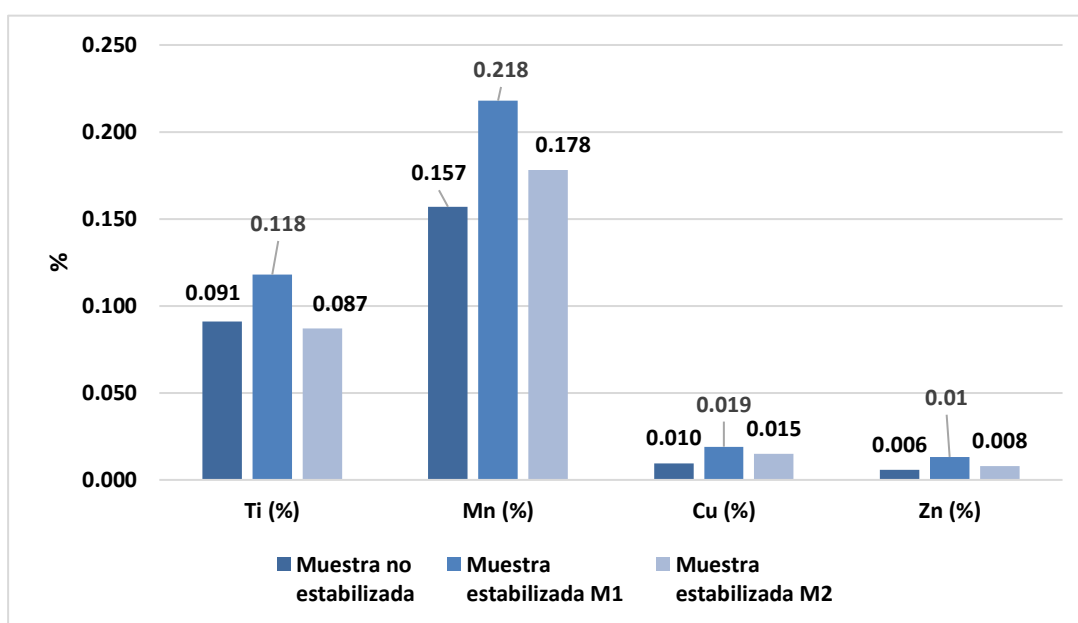
Por otro lado, después del tratamiento disminuyó el óxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ), el óxido de aluminio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) en los dos métodos de aplicación (M1 y M2). Siendo los valores de la muestra

del M2, los más bajos. También, el óxido de potasio ( $K_2O$ ) disminuye, pero en menor medida, un 2.4% en M1 y un 20.2% en M2. Cabe recalcar que en el método por mezclado (M2) el porcentaje de  $CaO$  (1.16%) es mayor al suelo de relave no tratado (1%) y al tratado por el M1 (0.92%). En el proceso de la técnica MICP (equilibrio del amoníaco) se forman hidroxilos ( $OH^-$ ) los cuales al entrar en contacto con la solución cementante (Cloruro de calcio) se podría haber dado una las reacciones necesarias para formar el óxido de calcio (Camilo & Marulanda, 2022).

Con respecto a las trazas ( $<0,1\%$ ), se encuentran: titanio, manganeso, cobre y zinc en la siguiente figura.

**Figura 11**

*Compuestos trazas de las muestras*



*Nota.* Composición química de la muestra.

En el caso de los compuestos traza, se evidencia el aumento de los valores en las muestras estabilizadas, siendo más notable la muestra del método de irrigación (M1). Este hecho no quiere decir explícitamente que las concentraciones en las muestras tratadas hayan aumentado, sino que, al disminuir las concentraciones de los compuestos mayoritarios y

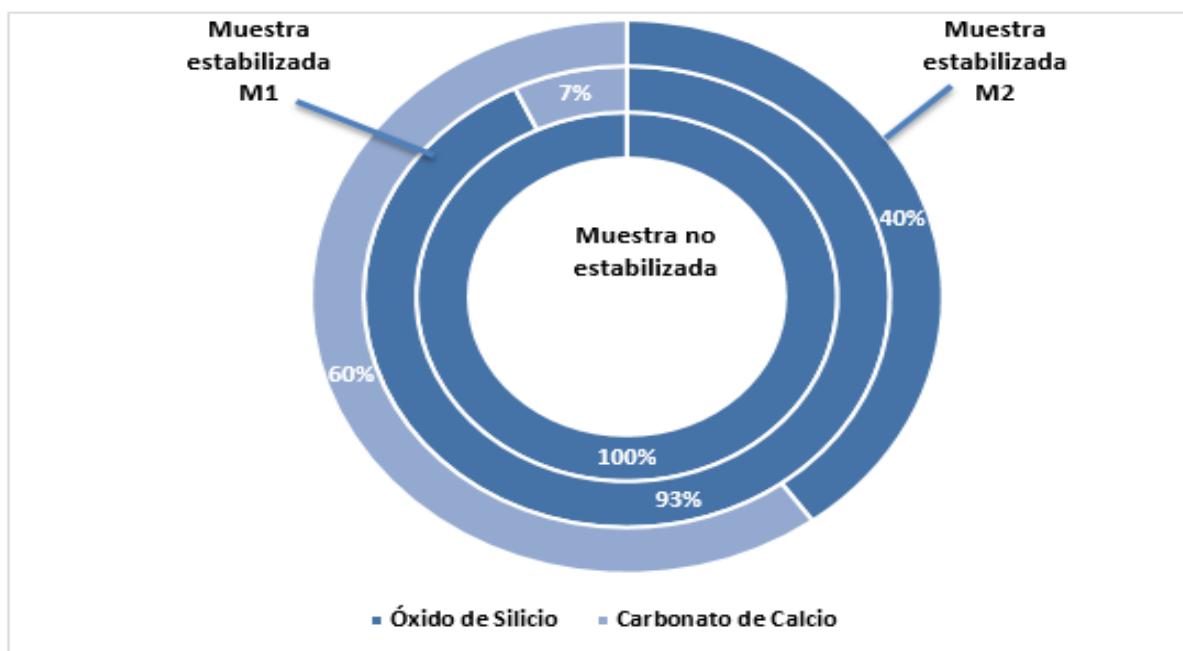
minoritarios, los elementos trazas tuvieron mayor peso. Dicha premisa se fundamenta en que no existió fuentes de alimentación de titanio, manganeso, cobre ni zinc; pero si del calcio y por eso, su incremento.

### 3.1.6 Difracción de Rayos X (DRX)

El análisis de DRX identifica minerales y aleaciones en base a la estructura interna del material. A continuación, se presenta los diferentes porcentajes de los minerales de las muestras de relave.

**Figura 12**

*Composición mineralógica del análisis DRX*



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados del análisis DRX de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabilizada por irrigación, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada el relave por mezclado de la bacteria y fuente de calcio (M2). La circunferencia interior (o más pequeño) representa la 'Muestra no estabilizada'; la circunferencia intermedia, la 'Muestra estabilizada M1' y; la circunferencia exterior (o más grande), la 'Muestra estabilizada M2'.

Este análisis es un parámetro de verificación y sustento de los datos de FRX. Este hecho se refleja en que la muestra no estabilizada tenía un contenido mineralógico del 100%

de óxido de silicio (cuarzo) y en las muestras tratadas disminuye: en M1 se obtiene 93% y en M2, 40%. Lo cual verifica la disminución óxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) en el análisis FRX.

Como anteriormente se ha mencionado, esta disminución de porcentaje no significa que la concentración se haya reducido, sino que otro compuesto ha aumentado su concentración, en este caso, el carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ). Esto se sustenta por la fase final de la técnica MICP, en donde ocurre la precipitación de carbonatos cálcicos (Camilo & Marulanda, 2022). En la muestra M1 se obtiene 7% de  $\text{CaCO}_3$  y en la muestra M2, un 60%, esta gran diferencia demuestra que el método de mezclado (M2) propicia mejores resultados, pudiendo ser porque en el M2 existe un mayor contacto de las partículas del relave con las bacterias.

### **3.1.7 Sistema Unificado de Clasificación de suelos (SUCS)**

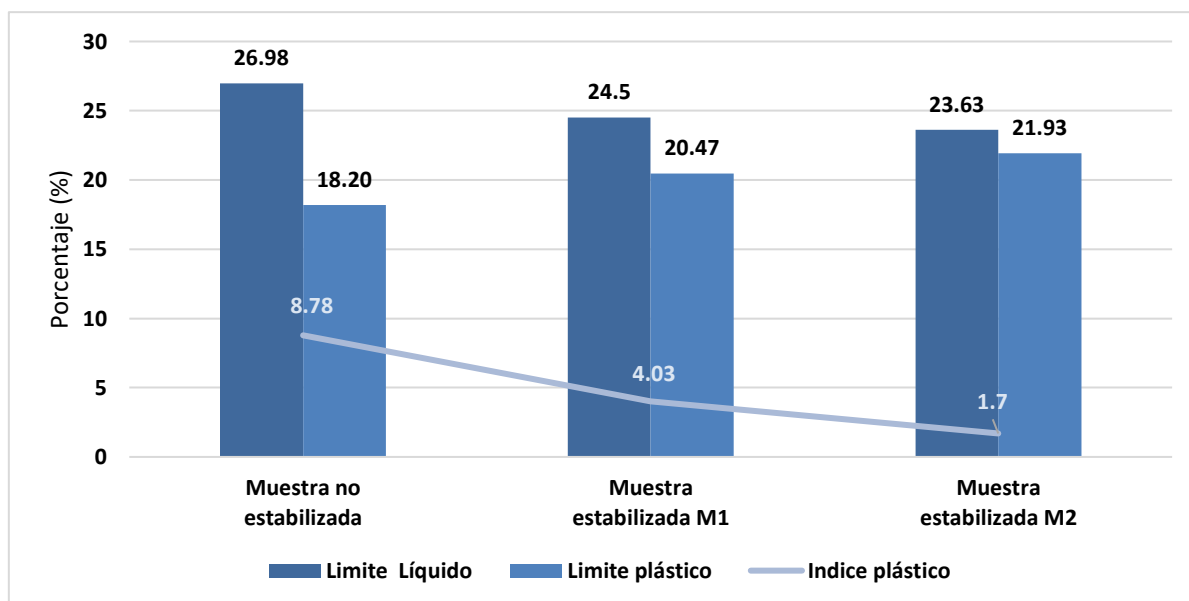
A partir de los lineamientos del SUCS se pudo clasificar el suelo del relave en estudio. Los lineamientos considerados son dos: los límites de Atterberg y el análisis granulométrico.

### **3.1.8 Límites de Atterberg**

En la siguiente figura se muestra los resultados del análisis de los límites de Atterberg.

Figura 13

Límites de Atterberg



*Nota.* Se muestra la distribución de valores de los límites de Atterberg con respecto a la muestra sin tratamiento y las muestras tratadas (M1 y M2). Siendo M1 estabilizada por irrigación, bacteria y fuente de calcio y M2, estabilizada por mezclado de la bacteria y fuente de calcio.

El Límite Líquido (LL) hace referencia a la tendencia del suelo en comportarse como un cuerpo líquido en presencia un determinado porcentaje de agua y, el Límite Plástico (LP), a la tendencia del suelo en comportarse como un cuerpo plástico en presencia un determinado porcentaje de agua. Y, por último, el Índice de Plasticidad (IP), señala un rango de humedad en el cual el suelo se comporta como un cuerpo plástico, siendo suelos muy plásticos los que tienen valores altos de IP (Universidad de Chile INACAP, 2014).

En las muestras estabilizadas, tanto por M1 y M2, disminuye el límite líquido en un 9.2% en el M1 y un 12.4% en el M2. Así mismo en el IP se da un decrecimiento de: 54.1% en el M1 y un 80.6% en el M2. Por el contrario, el límite plástico aumenta, siendo este valor el responsable de la disminución del IP.

Según la clasificación de los valores del IP en un informe de la Universidad de Chile INACAP (2014), el relave sin tratar era un suelo 'débilmente plástico', es decir, de una

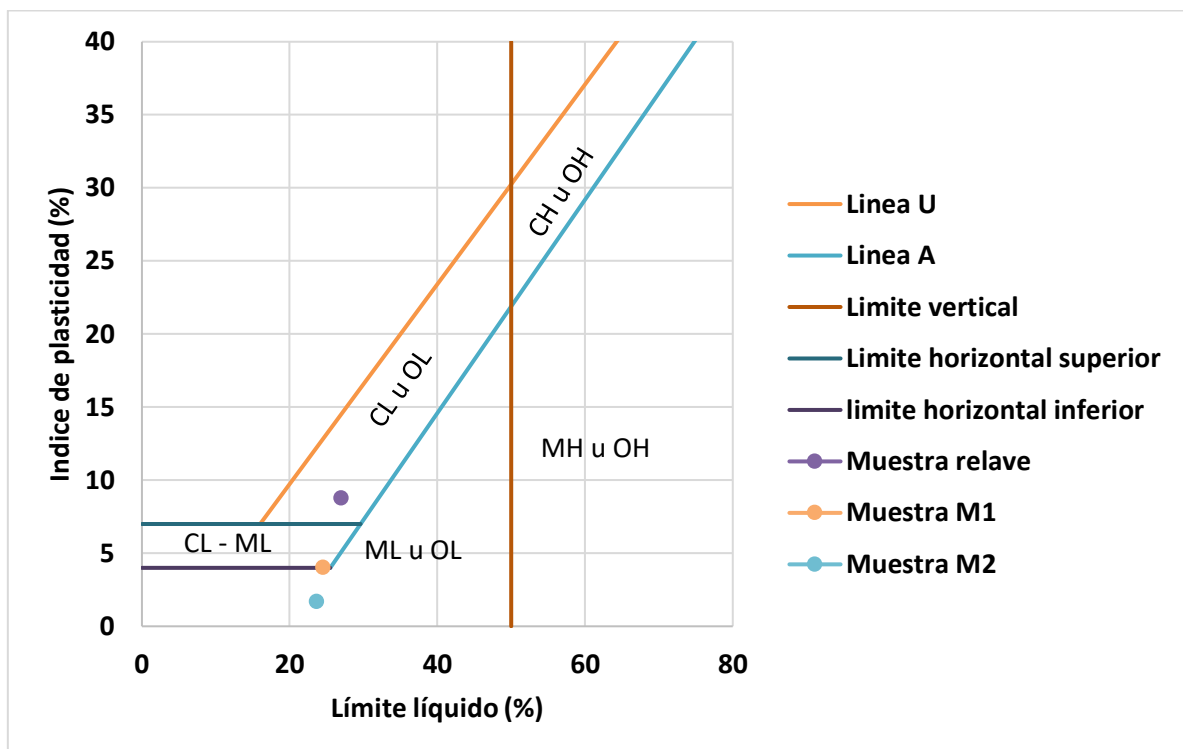
considerable deformación ante la presencia del agua. Posterior al tratamiento por la técnica MICP, tanto la muestra del M1 y M2 se convirtieron en suelos 'ligeramente plásticos', es decir, suelos con mayor resistencia. Aun así, los valores de IP de las muestras estabilizadas muestran una notable variabilidad, en el M1 se alcanza un 4.03% y en el M2, un 1.7%, obteniéndose mayor reducción de plasticidad en el M2. En vista de ello, el método de aplicación por mezclado (M2) es el que tiene mejor efecto.

### 3.1.9 Análisis granulométrico

En la figura 14 se grafica la carta de plasticidad, en donde se emplea los valores de los límites de Atterberg.

**Figura 14**

*Carta de plasticidad de la muestra de relave*



*Nota.* La carta de plasticidad es un sistema de coordenadas cartesianas que clasifica las arcillas y limos, mediante la línea A, dada por una ecuación presente en la norma ASTM D 2487 93. Las demás líneas subclasifican las arcillas y limos.

A partir de los valores de los límites se estableció el punto 'Muestra relave' (sin tratamiento) y muestras M1 y M2 (muestras tratadas). La 'Muestra relave' se situó en la zona 'CI u OL' que indica que son Arcillas Inorgánicas de Baja Plasticidad (CL) o Limos y Arcillas Orgánicas de Baja plasticidad (OL). Para clasificar la muestra de relave entre CL u OL, se determinó si el suelo es orgánico o no. En este caso se empleó la ecuación 'Orgánico' de la norma ASTM D 2487-93.

$$\text{Orgánico} \left( \frac{LL - \text{sec ado al horno}}{LL - \text{no sec ado}} < 0.75 \right) = \text{Ec. 2}$$

Obteniéndose un resultado mayor a 0.75, indicando que la muestra del relave es inorgánica y, por lo tanto, pertenece al grupo de las Arcillas Inorgánicas de Baja Plasticidad (CL).

Para los suelos tratados: 'Muestra M1' y 'Muestra M2' se realizó el mismo procedimiento para determinar su clasificación según SUCS. En la figura 11 se muestra sus puntos respectivos, siendo diferente el símbolo de clasificación tanto para 'Muestra M1' como 'Muestra M2'. En la 'Muestra M1', se determinó que está en el grupo intermedio de CL-ML (CL, Arcillas Inorgánicas de Baja Plasticidad y ML, Limos inorgánicos polvo de roca, limos arenosos o arcillosos ligeramente plásticos). En cambio, la 'Muestra M2' se sitúa en los grupos de ML ú OL, siendo ML al ser un suelo inorgánico. Siguiendo con el análisis granulométrico, se planteó la siguiente tabla en base a las directrices de la norma ASTM D 2487-93 con el fin de obtener un nombre más específico para las tres muestras.

**Tabla 3**

*Clasificación SUCS de las muestras de relave*

<b>Nombre muestra</b>	<b>Símbolo grupo</b>	<b>Características</b>	<b>Nombre del grupo</b>
-----------------------	----------------------	------------------------	-------------------------

<b>Muestra relave</b>	CL	IP $\geq$ 7 y puntos	<30%	<15%	Arcilla ligera
		en, ó sobre línea A	retenido en la malla N° 200.	retenido en la malla N° 200.	
<b>Muestra M1</b>	CL-ML	4 $\leq$ IP $\leq$ 7 y punto	<30%	<15%	Arcilla Limosa
		en o sobre la línea A	retenido en la malla N° 200.	retenido en la malla N° 200.	
<b>Muestra M2</b>	ML	IP < 4 o punto	<30%	<15%	Limo
		debajo de la línea A	retenido en la malla N° 200.	retenido en la malla N° 200.	

**Nota.** La tabla presenta las características que cumplieron según la norma ASTM D 2487-93 para definir el nombre específico dentro los grupos.

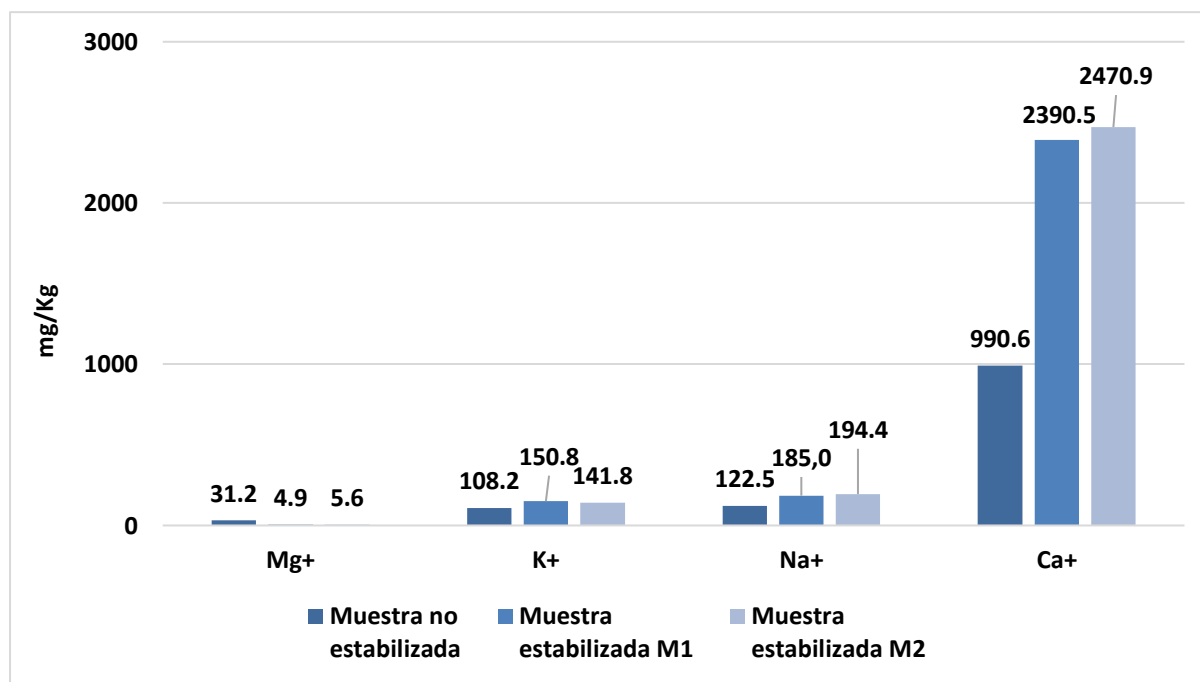
Finalmente, según SUCS, se determinó que la muestra de relave sin tratamiento es 'Arcilla ligera' perteneciente al grupo CL, la 'Muestra M1' es 'Arcilla Limosa' del grupo CL-ML y la 'Muestra M2' es Limo del grupo ML. A partir de los resultados, se muestra que en la muestra tratadas ha habido un aumento en el tamaño de las partículas, pasando de arcillas a limosas, siendo la 'Muestra M2' de aplicación de mezclado, la que tiene un mejor resultado.

### 3.1.10 Bases intercambiables

Las bases intercambiables están compuestas por calcio, sodio, magnesio y potasio, como se puede observar en la figura 14. Según el análisis mostró un aumento de concentración de calcio y potasio en los dos métodos aplicados y, un decrecimiento en las bases de magnesio y sodio.

Figura 15

Valores de las bases intercambiables ( $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$ )



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados de las bases intercambiables de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabilizada por irrigación de relave, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada el relave por mezclado de la bacteria y fuente de calcio (M2).

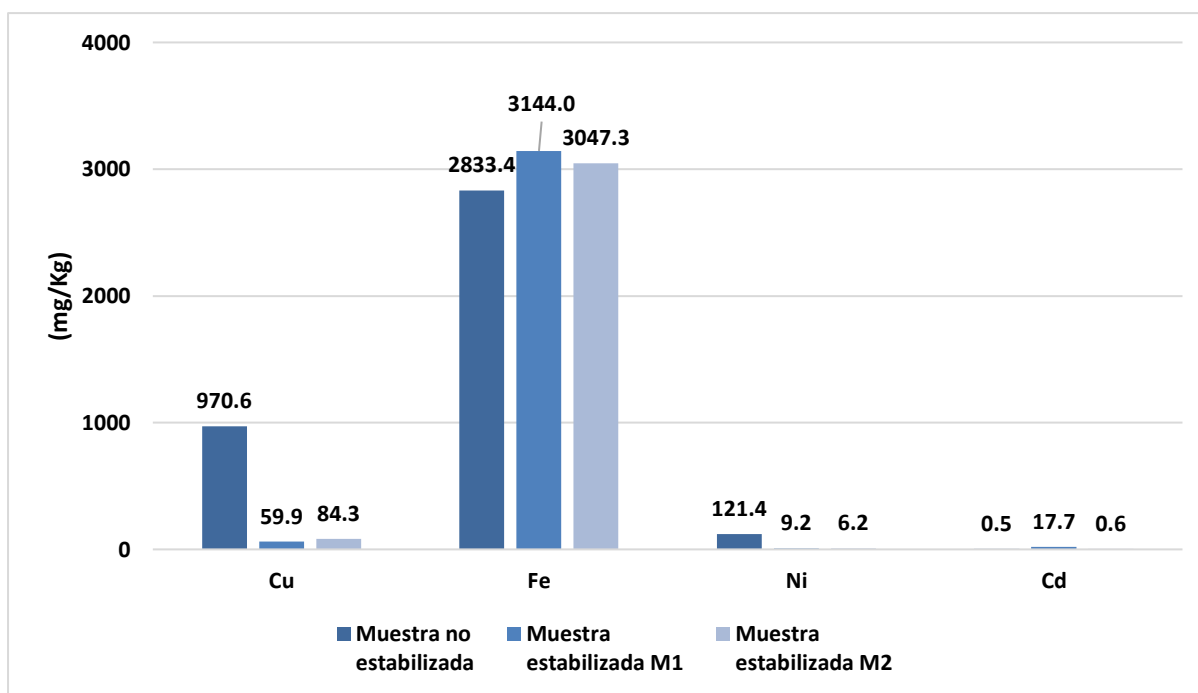
La muestra no tratada ya contaba con una considerable concentración de cal lo cual incide en que su pH sea alcalino desde un inicio. La sustancia cementante que actuó como fuente de calcio para que las bacterias precipiten el carbonato de calcio fue el cloruro de calcio. Por otro lado, en la técnica de MICP ocurre un proceso de precipitación en donde los iones de carbonato precipitan con las bases o metales divalentes, que en este caso podría haber sido el magnesio (Camilo & Marulanda, 2022). Dicho esto, el lavado con la solución salina podría haber movilizó estos precipitados y disminuir su concentración, como se presenta en la figura 15.

### 3.1.11 Análisis de metales

En el análisis de metales se puede constatar que la concentración de metales pesados (Cu, Fe, Ni, Cd, Zn) antes del tratamiento fue mayor y que posterior al tratamiento biológico, se obtuvo una disminución en la cuantificación de metales pesados.

**Figura 16**

Concentraciones de metales (Cu, Fe, Ni y Cd)



*Nota.* La figura señala comparativamente los resultados de los metales de la muestra no estabilizada (sin tratamiento), estabilizada por irrigación de relave, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada el relave por mezclado de la bacteria y fuente de calcio (M2).

Los metales cobre, hierro y níquel son de valencia variable, pudiendo ser divalente. Esta característica los hace propicios para reaccionar con los iones de carbonatos y precipitar (Camilo & Marulanda, 2022). En este estudio, amenoran notablemente las concentraciones de cobre y níquel. En cambio, el hierro y cadmio muestra un comportamiento de incremento, dando a entender que es por la disminución de los otros metales y no por el aumento de

concentración, debido a que no existió fuentes de alimentación compuestas por estos metales.

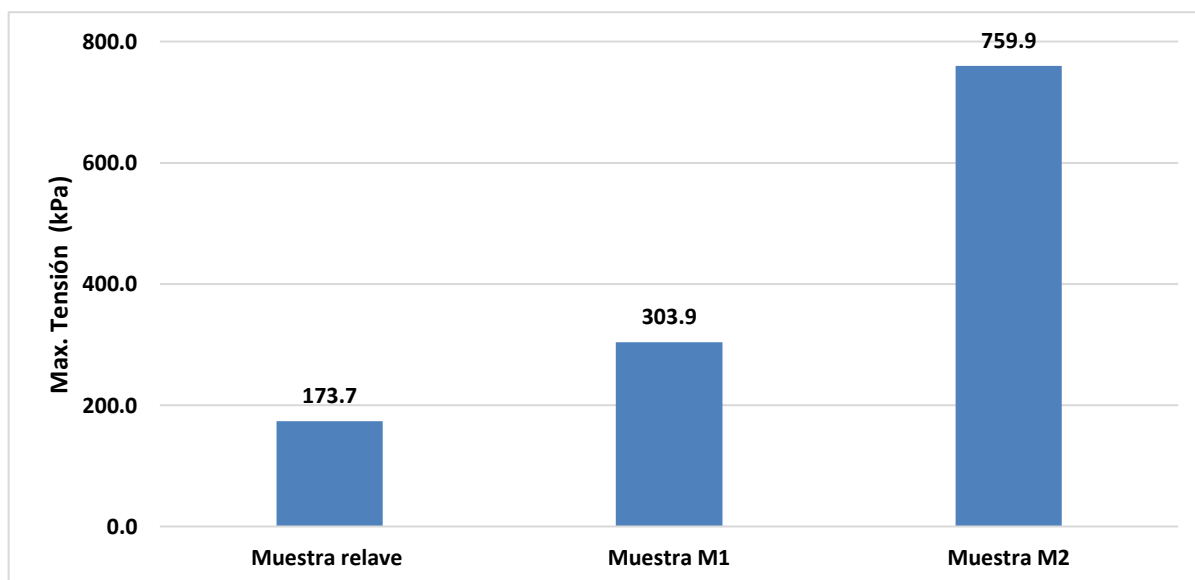
Por otro lado, Tamayo-Figueroa *et al.* (2019) mencionan que se han dado estudios para remediar metales pesados en agua y suelo a través de la técnica MICP. En estos estudios se aislaron microorganismos con capacidad de MICP y resistentes a los metales. Los metales no pueden biodegradarse ni destruirse, por ende, la técnica MICP propicia una transformación en su estado físico o químico de los metales, provocando una inmovilización microbiana de los metales (Dixit *et al.*, 2015; Hamdan *et al.*, 2011; Olaniran *et al.*, 2013).

### 3.1.12 Compresión Simple

El análisis de las resistencias de las muestras se las llevó a cabo mediante la compresión simple. Los resultados de las muestras se presentan en la figura 17.

**Figura 17**

*Resultados de compresión simple*



*Nota.* La figura indica comparativamente los resultados del análisis de compresión simple de la muestra (sin tratamiento), estabilizada por irrigación de relave, bacteria y fuente de calcio (M1) y estabilizada el relave por mezclado de la bacteria y fuente de calcio (M2).

La compresión simple es un parámetro concreto que muestra la máxima tensión que puede soportar los suelos ante una fuerza uniaxial. En la figura se observa que un crecimiento en las máximas tensiones del suelo, indicando mejoría de 94.5% en M1 y de 337.5% en M2. En el documento básico DB-SE-Cimientos (Ministerio de Fomento, 2019) clasifica a las arcillas por su consistencia siendo: la 'Muestra relave' un suelo con consistencia 'Firme', la 'Muestra M1' un suelo 'Muy firme' y la 'Muestra M2' un suelo 'Duro'. Así mismo, para el tipo de suelo se obtienen que: la 'Muestra relave' es un suelo entre blando y compacto, la 'Muestra M1' un suelo compacto o duro y la 'Muestra M2' un suelo considerado como roca blanda. Obtenido mejores resultados la muestra de suelo por el método mezclado (M2).

### **3.2 Discusión de resultados**

Los relaves mineros tienen presencia de minerales no recuperados y reactivos empleados en el proceso de beneficio, por lo tanto, su estabilización es necesaria para proteger la integridad física de las personas, la naturaleza y el entorno socio-cultural (Espín *et al.*, 2017). En el presente estudio se evaluó un método de estabilización biológica: la Precipitación de carbonatos inducida microbiológicamente (MICP) por la bacteria *Sporosarcina pasteurii*; el cual resulta factible económica y ambientalmente.

El estudio de Omoregie (2016) menciona que no solo el pH es un parámetro de control sino también la conductividad eléctrica. Para analizar la actividad de la ureasa se realiza el método de la conductividad, en donde se evalúan los cambios de la CE. En la fase de la hidrolización de la urea se generan iones de amonio y carbonatos, aumentando la CE. En el caso de estudio se verifica que las muestras estabilizadas tuvieron una considerable variación en la conductividad, indicando una gran actividad enzimática y, por lo tanto, las muestras se encontraban en un proceso de estabilización.

El pH inicial de la muestra fue de 8.208 indicado que el suelo es alcalino. Sin embargo, Kaur *et al.* (2016) menciona que el pH con el que hubo mayor crecimiento de cepas

bacterianas fue el pH 10, antes que el de 11 y 12, siendo este valor cercano al del estudio. Por lo tanto, el medio (muestra de relave) donde se realizó el tratamiento era óptimo para la técnica MICP. El suelo en estudio de (Omeregíe *et al.*, 2019) tenía un pH de 7.10 y al final de periodo de incubación (curado) obtuvo un pH entre 9.2 a 9.3. Así mismo, en la investigación de (Camilo & Marulanda, 2022) trabajaron con distintas bacterias ureolíticas, inicialmente obtuvieron un pH entre 7 a 7.2 y terminado el periodo de curado, valores de 8.8 a 9. En la presente investigación el pH no asciende, coincidiendo con la premisa de Camilo & Marulanda (2022). Mencionan que el aumento del pH puede tardar más tiempo en darse que la generación de amonio a causa de la neutralización de ácidos orgánico por los hidroxilos producidos en la ureólisis. Siendo esta una fase inicial de la técnica MICP, por ende, la estabilización biológica podría no haberse culminado.

En el estudio de Kaur *et al.* (2016) se evaluó la precipitación de carbonatos con un flujo de dióxido de carbono en bacteria ureolíticas, dando como resultado que un pH alcalino de 10 influye ligeramente más en la precipitación de  $\text{CaCO}_3$  que con pH más altos. Anteriormente se mencionó que debido al no aumento de pH, la estabilización podría no haberse completa y, en consecuencia, afectar el nivel de carbonatos.

Omeregíe (2016) indica que en su estudio que la granulometría es una base fundamental para verificar la resistencia del relave, porque no depende de la cantidad de calcita presente en la muestra si no de la estructura en base de la permeabilidad. Al disminuir la permeabilidad, induce a que la alimentación del fluido sea difícil de circular, por ende, hay acumulaciones de compuestos químicos en los poros del relave provocando dificultades a la supervivencia de la bacteria *Sporosarcina pasteurii*. Cabe recalcar que al disminuir la permeabilidad influye positivamente para la precipitación de calcio, debido que este mineral se va acumular.

La presencia de sales podría incidir en el tratamiento biológico, debido a que altas concentraciones de sales afectaría la alimentación del microorganismo y, consecuentemente,

la eficiencia del tratamiento (De Muynck *et al.*, 2010b; Dhimi *et al.*, 2016; Whiffin *et al.*, 2007); siendo la solución de cloruro de calcio una fuente de estas sales. Aun así, siguen dándose estudios para conocer más sobre estas reacciones (Cardoso *et al.*, 2018). En la muestra del relave sin tratamiento no se presentan altas concentraciones de sodio, sin embargo en las muestras tratadas existen disminución de esta base, por lo podría haberse asimilado en la alimentación de las bacterias, provocándose una interferencia en el tratamiento.

La técnica MICP ha sido considerada como un método de biorremediación debido a la formación de carbonatos metálicos. Cuando los iones de carbonatos se unen con los metales, estos elementos cambian de metales solubles a insolubles, provocando disminución en su toxicidad al tener menor biodisponibilidad (Achal *et al.*, 2011; Anbu *et al.*, 2016). Además, los carbonatos metálicos producidos en técnica MICP adquieren baja solubilidad en el agua, impidiendo la liberación de metales pesados en el ambiente (Tamayo-Figueroa *et al.*, 2019). En los estudios de Elzinga & Reeder (2002), Paquette & Reeder (1995) y Reeder (1996) demuestran que los metales divalentes como el cadmio, cobalto, cobre, níquel, plomo y zinc se pueden acoplar a diferentes zonas de la superficie del carbonato de calcio. Mugwar & Harbottle (2016) describen la capacidad de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* para la eliminación de metales pesados en sistemas acuosos aerobios, obteniendo porcentajes de remoción del: 100% en plomo y cadmio, 65 al 100% en zinc y, del 10 al 100% en cobre.

Sin embargo, la misma presencia de estos metales y metaloides puede afectar el crecimiento bacteriano y la eficiencia del MICP (Tamayo-Figueroa *et al.*, 2019). Por ende, es importante una fase previa de adaptación, lo cual en este estudio fue una pieza clave para la disminución de cobre y níquel.

En el estudio de Zomorodian *et al.* (2019) se aplica la técnica MICP en suelos arenosos con concentración media de sílice. En su análisis de resistencia al corte muestran que el suelo adquiere mayor resistencia a los 28 días de curado y, por el contrario, la menor resistencia entre los 3, 7 y 14 días. Así mismo, Bhutange *et al.*, (2020), aplicaron un

tratamiento biológico en suelo arenoso y cemento, donde las mejores resistencias se alcanzaron a los 28 días de curado. En el presente trabajo, el tiempo de curado fueron 14 días, obteniéndose una considerable mejora en la resistencia de los suelos tratados (máx. tensión, M1=303,9 Kpa y M2=759,92Kpa) en comparación al relave (máx. tensión 173,71 Kpa). Dicha mejora podría atribuirse al tiempo prolongado de tratamiento, sin embargo, a los 28 días podría haberse mejorado aún más.

## Conclusiones

Los parámetros control que determinaron la estabilización biológica en el relave del presente estudio son el aumento de la conductividad eléctrica, del calcio considerado como base intercambiable, la resistencia, también, la disminución del índice de plasticidad y la concentración de los metales y, por último, el cambio de granulometría según SUCS. Estas variaciones en los parámetros demuestran que existió mejoría en los suelos tratados por la técnica MICP.

El tratamiento fue aplicado por dos métodos: irrigación (M1) y mezclado (M2), obteniéndose los mejores resultados en el método 2 en los parámetros: 1) en conductividad eléctrica aumentó a 947.8 mS/cm, 2) en Difracción de Rayos X (DRX) el carbonato de calcio aumentó a 60%, 3) en el Índice de plasticidad, su valor disminuyó a 1.7%, 4) el suelo se transformó a Limo, según el Sistema Unificado de Clasificación de Suelo (SUCS) y 5) compresión simple, en donde la máxima tensión es de 759.9 kPa.

La disminución del pH no significa que la estabilización no se cumpla debido a que la conductividad eléctrica fue otro parámetro de control el cual nos indica que la estabilización se está realizando. No obstante, el aumento del pH podría no haberse dado por encontrarse la mayoría de las bacterias en una etapa en donde se generan sustancias orgánicas del metabolismo que interfieren con el incremento del pH. Esta etapa se da al principio del tratamiento, por lo que es posible que las muestras hayan requerido más tiempo de curado (<14 días).

La precipitación de carbonatos es la etapa final del tratamiento y la cual provoca la cementación en el suelo. En este caso hubo precipitación de carbonatos metálicos debido a la disminución considerable de los metales: cobre, hierro y níquel. Este hecho indica que la técnica MICP a parte de mejorar la resistencia de un relave minero puede biorremediar los metales pesados.

## Recomendaciones

La capacidad de intercambio catiónico es un parámetro importante en estabilización biológica por la técnica MICP, debido a que se relaciona directamente con el pH y los cationes intercambiables (necesarios en la precipitación de carbonatos). Por lo tanto, incrementar el CIC sería un factor relevante de apoyo, en ese caso inducir el contenido de materia orgánica en el suelo podría ser es una opción viable, a través de la aplicación de cantidades de abono u otras fuentes.

En algunos estudios se planteaban otros tiempos de curación más prolongados siendo, en la mayoría de ellos, el periodo de 28 días en donde existían un mayor contacto con las partículas y se obtenían las mejores resistencias. Por lo tanto, se recomienda experimentar con otros periodos de curado de mayor duración.

Para obtener una estabilización biológica con mayor eficacia sería importante complementar con diferentes técnicas de estabilización, verificar constantemente la temperatura, y en cuanto al pH que tenga un rango alto de entre 7.1 y 8.5 ya que esto favorece a la calcificación del bicarbonato generado.

Para las reacciones enzimáticas como la hidrólisis de la urea por ureasa dependen de la temperatura, por lo tanto, se debe estar entre 20 a 37 °C para favorecer la hidrólisis de la ureasa.

## Referencias

- Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P. C., & Reddy, M. S. (2009). Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36(7), 981–988. <https://doi.org/10.1007/S10295-009-0578-Z>
- Aguilar, C., Guzman, D., & Iglesias, C. (2013). Analisis de perfiles de difracción de rayos x de dos materiales metálicos. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 33(1), 15–32.
- Alarcón, J., Jiménez, M., Benítez, R., Alarcón, J., Jiménez, M., & Benítez, R. (2020). Estabilización de suelos mediante el uso de lodos aceitoso. *Revista Ingeniería de Construcción*, 35(1), 5–20. <https://doi.org/10.4067/S0718-50732020000100005>
- Almeida, M. (2019). Estudio de caso sobre la gobernanza en el sector minero en el Ecuador. Naciones Unidas.
- Alonso Rodríguez, F. J. (2010). Propiedades físicas: Densidad y porosidad. Documento Interno, Departamento Geología.
- Anawar, H. M. (2015). Sustainable rehabilitation of mining waste and acid mine drainage using geochemistry, mine type, mineralogy, texture, ore extraction and climate knowledge. *Journal of Environmental Management*, 158, 111–121. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2015.04.045>
- Aparicio Ceja, M. E., & Carbajal Arizaga, G. G. (2021). Utilidad de la difracción de rayos x en las nanociencias. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 3(2), 62–72.
- Ashraf, M. S., Hassan Shah, M. U., Bokhari, A., & Hasan, M. (2021). Less is more: Optimising the biocementation of coastal sands by reducing influent urea through response surface

method. *Journal of Cleaner Production*, 315(June), 128208.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128208>

Astete, J., Cáceres, W., Gastañaga, M. del C., Lucero, M., Sabastizagal, I., Oblitas, T., Pari, J., & Rodríguez, F. (2009). Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 26(1), 15–19.

Baldeón Travezaño, C. B., & Gabancho Valderrama, R. A. (2016). Determinación de características Físico-Químicas del desmonte de mina, para su empleo en la construcción del dique de relaves. *Minera Alpamarca*. Junín 2016. Universidad Nacional Hermilio Valdizán.

Bruguera Amarán, N. C., Díaz Duque, J. A., Álvarez Santander, J. R., Hernández Díaz, R., Ramírez Hernández, R., & Gallardo Martínez, D. (2022). Impacto de los pasivos ambientales en la red hidrográfica de la región minera de Santa Lucía, Minas de Matahambre, Cuba. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 43(1), 63-78.

Bhutange, S. P., Latkar, M. V., & Chakrabarti, T. (2020). Studies on efficacy of biocementation of cement mortar using soil extract. *Journal of Cleaner Production*, 274.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122687>

Camacho-Tamayo, J. H., Forero-Cabrera, N. M., Ramírez-López, L., & Rubiano, Y. (2017). Near-infrared spectroscopic assessment of soil texture in an oxisol of the eastern plains of Colombia. *Colombia Forestal*, 20(1), 5–18.  
<https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2017.1.a01>

Candia, J. (2019). Manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados. *J. Chem. Inf. Model*, 53(9), 35–36.

Cardoso, R., Pedreira, R., Duarte, S. O. D., & Monteiro, G. A. (2020). About calcium carbonate

- precipitation on sand biocementation. *Engineering Geology*, 271(March), 1–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2020.105612>
- Cardoso, R., Pires, I., Duarte, S. O. D., & Monteiro, G. A. (2018). Effects of clay's chemical interactions on biocementation. *Applied Clay Science*, 156, 96–103.  
<https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.01.035>
- Caro Linares, W. F. (2018). Capacidad portante de los suelos de fundación con fines de cimentación mediante ensayos de corte directo y DPL en la ciudad de Llacanora Cajamarca. <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/2530>
- Castañeda Ames, S. P., Lezama Mendieta, J. M., & Ampuero Peñaranda, J. A. (2015). Sistema de relleno con mortero de relave para mejorar la confiabilidad del sostenimiento en la minería subterránea. *Sinergia e Innovación*, 3(2), 17–41.
- Castaño Robayo, M. H., & González Veloza, J. J. (2022). Predicción de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en cultivos de aguacate empleando modelos Machine Learning.
- Castillo, B. (2017). Estabilización de Suelos Arcillosos de Macas con Valores de CBR menores al 5% y Límites Líquidos superiores al 100%, para utilizarlos como Subrasantes en Carreteras. 149. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/26917>
- Castro-Alonso, M. J., Montañez-Hernandez, L. E., Sanchez-Muñoz, M. A., Macias Franco, M. R., Narayanasamy, R., & Balagurusamy, N. (2019). Microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) and its potential in bioconcrete: Microbiological and molecular concepts. *Frontiers in Materials*, 6, 126.  
<https://doi.org/10.3389/FMATS.2019.00126/BIBTEX>
- Chávez Burgos, Y. (2015). Ensayo De Corte Directo Ntp 339.171 (Astm D3080).
- Combatt-Caballero, E. M., Palencia-L, M., & Borja-M, K. (2018). Particle size distribution by

- Bouyoucos in slightly alkaline soils from department of Cordoba, Colombia. *Acta Agronomica*, 67(1), 126–132. <https://doi.org/10.15446/acag.v67n1.60762>
- De Muynck, W., De Belie, N., & Verstraete, W. (2010). Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. *Ecological Engineering*, 36(2), 118–136. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.02.006>
- Dumitru, F.-D., Deák, G., Moncea, M.-A., Panait, A.-M., Matei, M., Boboc, M., Laslo, L., Ciobotaru, N., Lumînrăoiu, L., Cornăţeanu, G., & Gheorghe, P. I. (2019). Assessment of recovery opportunities and environmental impact of mining residues from Moldova Noua tailings pond. 20068. <https://doi.org/10.1063/1.5118076>
- Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2016). Significant indicators for biomineralisation in sand of varying grain sizes. *Construction and Building Materials*, 104, 198–207. <https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2015.12.023>
- Enríquez, A., Hermosa, P., Collahuazo, L., Acosta, F., Feijoo, C., Quezada, M., & Ibarra, D. (2022). Estudio de caso para el aprovechamiento de relaves mineros procedentes de la concesión Campanillas, Zamora Chinchipe-Ecuador, como agregado para la elaboración de adoquines. *GEOLatitud*, 5, 34–42. <http://geolatitud.geoinvestigacion.gob.ec/ojs/ojs/index.php/GeoLatitud/article/view/114/101>
- Escobar Villagómez, V. A., & Vásconez Freire, D. R. (2023). Elaboración de un manual para el uso del “equipo de ensayo triaxia” (ele), ubicado en el Laboratorio de Suelos, Bloque “E” de la Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito, Campus Sur.
- Espín, D., Jarrín, J., & Escobar, O. M. (2017b, November 15). Manejo, gestión, tratamiento y disposición final de relaves mineros generados en el proyecto Río Blanco II.
- FAO. (n.d.). Propiedades Químicas | Portal de Suelos de la FAO | Organización de las

Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Retrieved January 11, 2024, from <https://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/clasificacion-de-suelos/sistemas-numericos/propiedades-quimicas/es/>

Fan, J., Rowe, R. K., & Brachman, R. W. I. (2022). Compressibility and permeability of sand–silt tailings mixtures. *Canadian Geotechnical Journal*, 59(8), 1348–1357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/cgj-2021-0356>

FAO. (2021). Procedimiento operativo estándar para el análisis de carbonato de calcio equivalente en suelo - Método de titulación. Roma.

Fernandez Ochoa, B. H., Mullisaca Contreras, E., & Huanchi Mamani, L. E. (2022). Nivel de contaminación del suelo con arsénico y metales pesados en Tiquillaca (Perú). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 24(2), 131–138. <https://doi.org/10.18271/RIA.2022.416>

Fierro Quintana, P. D., & Asitimbay Almeida, S. A. (2019). Manual de laboratorio de ensayo de materiales para la construcción.

Flórez-Nisperuza, E., De la Ossa Albis, A. F., Flórez-Nisperuza, E., & De la Ossa Albis, A. F. (2018). La indagación científica y la transmisión-recepción: una contrastación de modelos de enseñanza para el aprendizaje del concepto densidad. *Revista Científica*, 1(31), 55–67. <https://doi.org/10.14483/23448350.12452>

Hernández-Sánchez, J. M. de los D., Figueroa-Sandoval, B., & Martínez Menes, M. R. (2019). Propiedades físicas del suelo y su relación con la plasticidad en un sistema bajo labranza tradicional y no labranza. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 53–61.

Huaranga Moreno, F. R., Rodríguez Rodríguez, E., & Bernuí Paredes, F. (2021). Bioindicator species of contamination by mining tailings in the Samne Sector, La Libertad-Peru, 2021. *Arnaldoa*, 28(3), 633–650. <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v28n3/2413-3299-arnal-28-03-633.pdf>

- Jamasmie, C. (2017). Ecuador anticipates \$4 billion in mining investments by 2021.
- Khadim, H. J., Ammar, S. H., & Ebrahim, S. E. (2019). Biomineralization based remediation of cadmium and nickel contaminated wastewater by ureolytic bacteria isolated from barn horses soil. *Environmental Technology and Innovation*, 14, 100315. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100315>
- Kim, C. S., Wilson, K. M., & Rytuba, J. J. (2011). Particle-size dependence on metal(loid) distributions in mine wastes: Implications for water contamination and human exposure. *Applied Geochemistry*, 26(4), 484–495. <https://doi.org/10.1016/J.APGEOCHEM.2011.01.007>
- Liu, J., Shi, B., Jiang, H., Huang, H., Wang, G., & Kamai, T. (2011). Research on the stabilization treatment of clay slope topsoil by organic polymer soil stabilizer. *Engineering Geology*, 117(1–2), 114–120. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2010.10.011>
- Llanes, O. (2012). Análisis espectrales de indicadores de acuíferos asociados a ecosistemas de zonas áridas en el noreste de México.
- MAHER. (n.d.). Conductividad Eléctrica del Suelo y su Influencia en la Agricultura. MAHER. Retrieved January 11, 2024, from <https://www.maherelectronica.com/conductividad-electrica-agricultura/>
- Menéndez, J., & Muñoz, S. (2021). Contaminación del agua y suelo por los relaves mineros. *Paideia XXI*, 11(1), 141–152. doi: 10.31381/paideia.v11i1.3622
- Ministerio De Energía Y Recursos Naturales No Renovables. (2020). Plan Nacional de Desarrollo del Sector Minero 2020 – 2030.
- Morales Valenzuela, A. (2021). Identificación de la ruta metabólica para producción industrial de calcita por hidrólisis de urea en *Lysinibacillus sphaericus* mediante análisis computacional genético de *Sporosarcina*, *Bacillus* y *Lysinibacillus* spp.

- Moreno, R. A. (2023). Restauración geomorfológica sobre depósitos de relaves: caso de estudio aplicado a la concesión minera Río Blanco, Ecuador. 37(1), 130–141.
- Moreno Velásquez, M. (2019). Aplicación de Análisis de Componentes Principales y Conglomerados a datos de Fluorescencia de Rayos X (FRX) en suelos.
- Muñoz, J. (2019). Estudio de la variación de los parámetros mecánicos de un talud de suelo residual tropical a través de la aplicación en laboratorio de un nutriente precipitador de carbonato de calcio sobre sus bacterias nativas.
- Omoregie, A. (2016). Characterization of ureolytic bacteria isolated from limestone caves of sarawak and evaluation of their efficiency in biocementation. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11719.55205>
- Ortiz Bernad, I., Sanz García, J., Dorado Valiño, M., & Villar Fernández, S. (2007). Técnicas de recuperación de suelos contaminados.
- Ospina, S. A. (2011). ¿Todo tiempo pasado fue mejor? Cómo ha incidido la tecnología enzimática en el bienestar de la humanidad. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(1), 5–7.
- Otero Gómez, L., Valdes, M., Morales Díaz, M., Ortega Sastriques, F., Vázquez, I., & Delgado Calzadilla, Z. (2013). Modificación al método Schatchabell para la determinación de las bases intercambiables en suelos con salinidad. *Cultivos Tropicales*, 34(4), 20–23.
- Paladines, L. (2021). Experimentation to promote attitudinal scientific competencies from the concept of mixing in basic education. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/80458/?sequence=2&isAllowed=y#page=125>
- Pandey, A., & Rabbani, A. (2017). Stabilisation of Pavement Subgrade Soil Using Lime and Cement: Review. *International Research Journal of Engineering and*

Technology(IRJET), 4(6), 5–7.

Perito, B., & Mastromei, G. (2011). Molecular basis of bacterial calcium carbonate precipitation. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, 52, 113–139. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-21230-7\\_5/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-642-21230-7_5/COVER)

Portugal, C. R. M. e., Fonyo, C., Machado, C. C., Meganck, R., & Jarvis, T. (2020). Microbiologically Induced Calcite Precipitation biocementation, green alternative for roads – is this the breakthrough? A critical review. *Journal of Cleaner Production*, 262, 121372. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121372>

Ramírez Ortega, A., & San José Arango, C. (2006). El azufre en la naturaleza. *Anales de La Real Academia de Doctores de España*, 10, 33–46.

Rivera, J. F., Aguirre-Guerrero, A., Mejía de Gutiérrez, R., & Orobio, A. (2020). Estabilización química de suelos - Materiales convencionales y activados alcalinamente (revisión). *Informador Técnico*, 84(2), 43–67. <https://doi.org/10.23850/22565035.2530>

Rivera Uria, M. Y., Romero, F. M., Sedov, S., & Solleiro Rebolledo, E. (2020). Carbonatos pedogénicos para el tratamiento del drenaje ácido de mina (DAM). Experimentos de laboratorio. *Boletín de La Sociedad Geológica Mexicana*, 72(1), 1–16. <https://doi.org/10.18268/BSGM2020V72N1A250919>

Romero, A. A., & Flores, S. L. (2010). Reuso de relaves mineros como insumo para elaboración de agregados de construcción para fabricar ladrillos y baldosas. *Industrial Data*, 13(num. 2), 75–82.

Safdar, M. U., Mavroulidou, M., Gunn, M. J., Purchase, D., Payne, I., & Garelick, J. (2021). Electrokinetic biocementation of an organic soil. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 21, 100405. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100405>

Saray, K., Iyer, N. R., & Murthy, A. R. (2014). Exploration on the biotechnological aspect of

the ureolytic bacteria for the production of the cementitious materials - A review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(5), 2308–2323. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0686-0>

Serrano-Guzmán, M. F., & Pérez-Ruiz, D. D. (2010). Análisis De Sensibilidad Para Estimarel Módulo De Elasticidad Estáticodel Concreto. *Concreto y Cemento. Investigación y Desarrollo*, 2(1), 17–30.

Skevi, L., Reeksting, B. J., Hoffmann, T. D., Gebhard, S., & Paine, K. (2021). Incorporation of bacteria in concrete: The case against MICP as a means for strength improvement. *Cement and Concrete Composites*, 120, 104056. <https://doi.org/10.1016/J.CEMCONCOMP.2021.104056>

Solís-Castro, Y., Zúñiga-Zúñiga, L. A., & Mora-Alvarado, D. (2018). La conductividad como parámetro predictivo de la dureza del agua en pozos y nacientes de Costa Rica. *Conductivity as a predictive parameter of hardness in groundwater and spring water of Costa Rica. Tecnología En Marcha*, 31(1), 35–46. <https://doi.org/10.18845/tm.v31i1.3495>

Téneva, E. (2019). Estabilización de suelos con bacterias *Sporosarcina pasteurii*. Tesis presentada para obtener el título de Doctora por la Universitat Politècnica de Catalunya. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/handle/10803/668854#page=1>

Teijlingen, K. van. (2019). Los depósitos de relaves en Ecuador y sus riesgos socio-ambientales. Fundación Pachamama.

Tierra-Pérez, L. P., Toapanta-Santacruz, S. N., & Manosalvas-Quezada, A. G. (2020). Ensayo de compresión en rocas para determinar la carga máxima que soporta un pilar de contención en una Mina subterránea. *Domino de Las Ciencias*, 6(2), 1232–1255.

Tritlla, J., Levresse, G., Corona-Esquivel, R., Banks, D., Lamadrid, H., & Bourdet, J. (2006).

Depósitos de Pb-Zn-Cu-Ba-F-Sr epigenéticos estratoligados en series sedimentarias en relación con salmueras de cuenca: depósitos de tipo "Mississippi Valley" (MVT) y similares en México. *Boletín de La Sociedad Geológica Mexicana*, 58(1), 103–139. <https://doi.org/10.18268/bsgm2006v58n1a4>

Ubaque, C. A. G., Vaca, M. C. G., & Rodríguez, C. F. A. (2014). Evaluación y diagnóstico de pasivos ambientales mineros en la Cantera Villa Gloria en la localidad de Ciudad Bolívar, Bogotá DC. *Tecnura: Tecnología y cultura Afirmando el conocimiento*, 18(42), 90-102.

Wilches Flórez, Á. (2010). La biotecnología en un mundo globalizado. *Revista Colombiana de Bioética*, 5(2), 164-169. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189218186016>.

Zamarreño, R., Cabana, R., Vergara, K., & Cortez, S. (2020). Desplazamiento de elementos metálicos en el estero El Culebrón, por la presencia de un relave minero abandonado, Coquimbo – Chile. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 23(2).

## Apéndice

### Apéndice A. Análisis de pH

Figura A1.

*Evidencias fotográficas del análisis del pH.*



*Nota.* Las fotografías muestran el proceso para analizar el pH en el laboratorio.

## Apéndice B. Análisis de carbonatos

Figura B1.

*Evidencias fotográficas del análisis de los carbonatos*



*Nota.* Las fotografías muestran el procedimiento realizado para analizar los carbonatos en laboratorio.

## Apéndice C. Análisis de compresión simple

**Figura C1.**

*Evidencias fotográficas del análisis de compresión simple*



*Nota.* Se muestra el proceso para analizar la compresión simple de la muestra no estabilizada (bandeja roja), muestra tratada por método de irrigación (bandeja azul claro) y, muestra tratada por método de mezclado (bandeja azul oscuro).

## Apéndice D. Análisis conductividad eléctrica

Figura D1.

*Evidencias fotográficas del análisis de la conductividad eléctrica del suelo.*



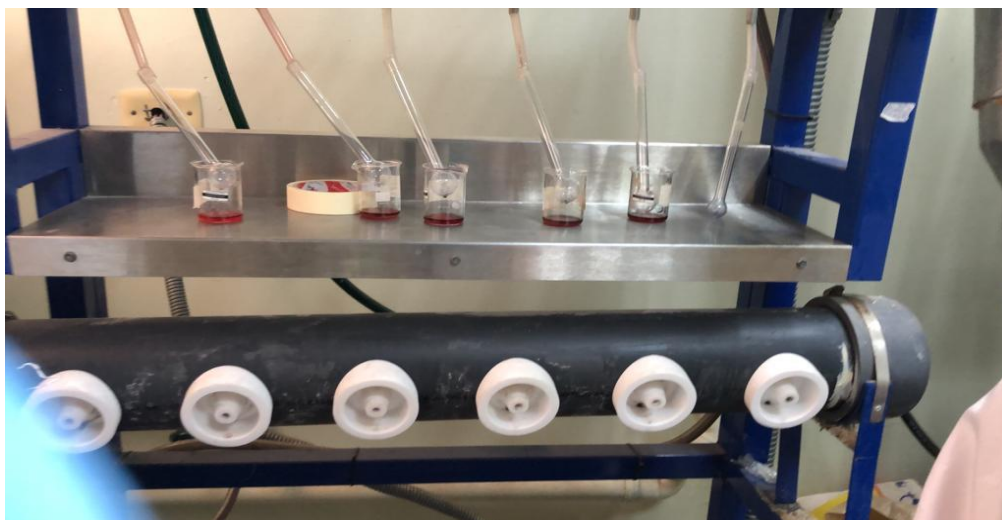
*Nota.* Se muestra el proceso para analizar la conductividad eléctrica en el laboratorio.

## Apéndice E. Análisis de CIC

Figura E1.

*Evidencias fotográficas del análisis de la capacidad de intercambio catiónico del suelo*





*Nota.* Se muestra el proceso para analizar la capacidad de intercambio catiónico en el laboratorio.

## Apéndice F. Preparación de bacteria

**Figura F1.**

*Evidencias fotográficas de la preparación de la bacteria*



*Nota.* Las fotografías muestran los materiales necesarios para la inoculación de la bacteria

## Apéndice G. Análisis del Índice de plasticidad (Límites de Atterberg)

**Figura G1.**

*Evidencias fotográficas de la determinación de los límites de Atterberg*



*Nota.* Las fotografías muestran los materiales empleados para la determinación del índice de plasticidad de todas las muestras.

## Apéndice H. Periodo de curado

**Figura H1.**

*Evidencias del procedimiento de análisis granulométrico*



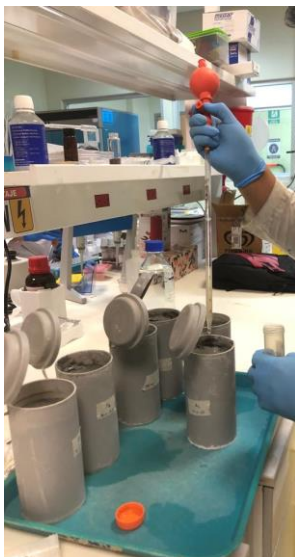
*Nota.* Las fotografías muestran los materiales empleados para el análisis granulométrico.

## Apéndice I. Periodo de curado

### Figura 11.

*Evidencias fotográficas del periodo de curado*





*Nota.* Las fotografías muestran el proceso de curado (5días) para cumplir con la estabilización biológica. Las muestras tratadas por el método de irrigación se ubican en la bandeja verde y, las muestras tratadas por el método de mezclado en la bandeja roja.