TecnoLógicas

Bioestimulación de bacterias ureolíticas autóctonas y su potencial para precipitación de calcita en suelos volcánicos tropicales

Biostimulation of Native Ureolytic Bacteria and Its Potential for Calcite Precipitation in Tropical Volcanic Soils

Michel Dayanna Bolaños-León[1]; Sebastián Camilo Guerrero-Erazo[1]; Lucio Cruz[1]; Leidy Niño[1]; Clara Inés Giraldo-Aristizábal[1]; Gloria M. Castro[2]; D. M. Sandoval-Ceron[1]

[1]Universidad del Cauca, Popayán - Colombia
[2]University of Birmingham, Birmingham – Reino Unido

Correspondencia: lucruz@unicauca.edu.co

Recibido: 17 Septiembre 2025 **Aceptado:** 16 Junio 2026 **Disponible:** 22 Junio 2026

Cómo citar / How to cite
M. D. Bolaños-León, S. C. Guerrero-Erazo, L. Cruz, L. Niño, C. I. Giraldo-Aristizábal, G. M. Castro, and D. M. Sandoval-Ceron, "Bioestimulación de bacterias ureolíticas autóctonas y su potencial para precipitación de calcita en suelos volcánicos tropicales," *TecnoLógicas*, vol. 29, no. 66, e3855, 2026.
https://doi.org/10.22430/22565337.3855

CC BY NC SA

Resumen

La precipitación de carbonato de calcio inducida por microorganismos (MICP, por sus siglas en inglés) representa una alternativa sostenible para la estabilización de suelos, con el potencial para mejorar las propiedades mecánicas y durabilidad de materiales de construcción. Este estudio tuvo como objetivo determinar la influencia de diferentes concentraciones de urea sobre la bioestimulación de bacterias ureolíticas autóctonas en un suelo volcánico tropical del suroccidente colombiano bajo condiciones de laboratorio, monitoreando la actividad ureolítica mediante los cambios de conductividad eléctrica. La metodología empleada consistió en la aplicación de tratamientos con soluciones de urea a distintas concentraciones y un ensayo control sin urea, utilizando como variables de respuesta la actividad ureolítica, el pH y la conductividad a través del tiempo. Por su parte, la caracterización mineralógica y microestructural del suelo sin tratamiento se realizó mediante espectroscopía FTIR, difracción de rayos X (DRX), espectroscopía de energía dispersiva (EDS) y microscopía electrónica de barrido (MEB). Adicionalmente, se realizaron ensayos físicos de granulometría y límites de Atterberg conforme con las normas INVIAS Colombia. Los tratamientos con urea presentaron mayores valores en la actividad ureolítica respecto al control, alcanzando valores máximos de 3.15 mM y 2.17 mM urea/min a las 72 h y 48 h, respectivamente, acompañados por valores de pH de 8.99 y 8.88. En contraste, el ensayo control mostró actividad ureolítica mínima y condiciones no favorables para la ureólisis. Los resultados demostraron que la adición de urea favorece la activación de comunidades bacterianas ureolíticas autóctonas en suelos volcánicos tropicales, promoviendo condiciones adecuadas para la precipitación microbiana de carbonato de calcio desde las primeras 48 h. Finalmente, con estos hallazgos se concluye el gran potencial de la bioestimulación como estrategia sostenible para aplicaciones de mejoramiento y estabilización de suelos en infraestructura y materiales de construcción.

Palabras clave

Actividad ureolítica, bioestimulación microbiana, estabilización de suelos, microorganismos nativos, suelos arcillosos.

Abstract

Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP) represents a sustainable alternative for soil stabilization, with the potential to improve the mechanical properties and durability of construction materials. This study aimed to determine the influence of different concentrations of urea on the biostimulation of indigenous ureolytic bacteria in a tropical volcanic soil of southwestern Colombia under laboratory conditions, monitoring ureolytic activity through changes in electrical conductivity. The methodology involved the application of treatments using urea solutions at different concentrations and a control test without urea. The response variables were ureolytic activity, pH, and electrical conductivity over time. In addition, the mineralogical and microstructural characterization of the untreated soil was performed using FTIR spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), energy dispersive spectroscopy (EDS), and scanning electron microscopy (SEM). Furthermore, physical tests such as the particle size distribution and Atterberg limits were conducted according to INVIAS Colombia standards. The samples treated with urea showed higher ureolytic activity values than the control, reaching maximum values of 3.15 mM and 2.17 mM urea/min at 72 hours and 48 hours, respectively, accompanied by pH values of 8.99 and 8.88. In contrast, the control test exhibited minimal ureolytic activity and no favorable conditions for ureolysis. The results indicated that the addition of urea promotes the activation of indigenous ureolytic bacterial communities in tropical volcanic soils, improving conditions suitable for the precipitation of calcium carbonate induced by bacteria from 48 hours onward. Finally, these findings conclude the great potential of biostimulation as a sustainable strategy for improving applications and soil stabilization in infrastructure and construction materials.

Keywords

Ureolytic activity, microbial biostimulation, soil stabilization, indigenous microorganisms, clay soils.

1. INTRODUCCIÓN

En el departamento del Cauca (Suroccidente de Colombia), gran parte de los suelos corresponde a suelos de origen volcánico, formados por materiales ígneos y metamórficos cubiertos por cenizas [1]. Estas condiciones, junto con una pluviosidad media anual de 1941 mm y temperaturas promedio cercanas a los 20 °C, favorecen tanto la actividad forestal como a la industria ladrillera debido al contenido de arcilla presente en este tipo de suelos [2]. Los minerales arcillosos están compuestos principalmente por silicatos hidratados de alúmina ($Al_2O_3 \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$), de grano fino y estructura laminar. Dichos minerales se originan a partir de la descomposición de rocas silíceas y aluminosas, como los feldespatos, y suelen encontrarse acompañados de hierro, calcio, magnesio y titanio. Esta composición mineralógica resulta relevante porque determina el comportamiento mecánico de la arcilla, su capacidad de retención de agua y su reactividad química, factores que en conjunto inciden en la estabilidad, resistencia y propiedades finales de los materiales cuando se utiliza este suelo como base [3].

Actualmente, se han desarrollado nuevos métodos para mejorar las propiedades de los materiales mediante el uso de microorganismos, especialmente bacterias. La precipitación de carbonato de calcio inducido por microorganismos (MICP), es un subproducto de una serie de reacciones bioquímicas que ocurren como resultado de procesos metabólicos microbianos, tales como la fotosíntesis, la sulfato-reducción, la desnitrificación, la amonificación, la oxidación de metano y la hidrólisis de urea [4].

La precipitación inducida por bacterias con metabolismo de hidrólisis enzimática de urea (ureólisis) resulta altamente efectiva, ya que puede ser fácilmente controlada y tiene un gran potencial para precipitar carbonato de calcio en forma rápida y abundante, creando numerosos sitios de nucleación en los cultivos bacterianos [5]. Para garantizar la efectividad del proceso de hidrólisis de urea y la precipitación inducida por microorganismos, es importante considerar factores como la concentración de urea y calcio, la disponibilidad de nutrientes, la actividad ureolítica de las bacterias, el pH y la temperatura del medio [4]. La actividad ureolítica se refiere a la velocidad con que las bacterias hidrolizan la urea, medida como la cantidad de sustrato transformado por minuto. Este proceso genera iones de amonio (NH_4^+) y carbonato (CO_3^{2-}), lo que incrementa la conductividad y el pH del medio en el que crecen las bacterias [6].

Actualmente, se ha demostrado que la MICP mejora significativamente las propiedades de los materiales de construcción mediante el uso de bacterias que fortalecen la estructura, reducen la porosidad y aumentan la durabilidad frente a diversas condiciones ambientales [7]. Estas mejoras han permitido el desarrollo de materiales sostenibles con alta resistencia a la fractura [8], además de favorecer la reparación de grietas en materiales a base de cemento, donde se han observado resultados favorables tres semanas después de la inyección bacteriana [9]. Asimismo, se ha explorado su aplicación en procesos de restauración de estructuras patrimoniales y estatuas [10], así como en problemas geotécnicos que afectan la calidad y estabilidad del suelo, como la licuefacción [11] y la erosión [12], en los que se han reportado avances significativos en la reducción de la susceptibilidad del suelo a dichos fenómenos, mejorando su capacidad mecánica y la integridad del material tratado. La MICP incluso ha impulsado el desarrollo de nuevas líneas de investigación, como lo es el caso de la precipitación de calcita inducida enzimáticamente (EICP), en la que, en lugar de emplear microorganismos, se utiliza directamente la enzima producida por estos, lo cual ha mostrado resultados favorables para mejorar las propiedades de ciertos materiales [13], [14].

En cuanto al origen de las bacterias utilizadas en esta técnica, estudios han demostrado que tanto la adición de cepas exógenas como la estimulación de bacterias permiten alcanzar altos niveles de actividad ureolítica [15]-[18], así como inducir procesos eficientes de biocementación en suelos [19], [20]. Aunque los mejores resultados suelen obtenerse con cepas exógenas, este enfoque presenta limitaciones como costos elevados, dificultad para garantizar la supervivencia celular y preocupaciones ecológicas. En contraste, la bioestimulación se considera una estrategia más sencilla, económica y con mayor aceptación regulatoria [21].

A pesar de los avances reportados en aplicaciones de MICP para estabilización de suelos y materiales cementantes, diversos autores coinciden en que la eficiencia del proceso depende significativamente de variables ambientales y operacionales como el tipo de suelo, la disponibilidad de nutrientes, la concentración de urea y calcio y la viabilidad microbiana [22]. En consecuencia, los resultados obtenidos en arenas limpias o sistemas idealizados no necesariamente representan el comportamiento de matrices arcillosas o suelos volcánicos con elevada complejidad mineralógica y microbiológica.

Para este estudio, se han utilizado suelos volcánicos tropicales de la región del Cauca, que se caracterizan por ser ligeros, altamente porosos, de baja resistencia y escasa estabilidad volumétrica, lo que genera importantes problemáticas económicas, sociales y estructurales. Estas condiciones afectan el desarrollo urbano y rural debido a la tendencia de los suelos a presentar asentamientos elevados, colapsos, inestabilidad estructural y otras dificultades geotécnicas [23].

Ante esta problemática, se plantea la necesidad de explorar técnicas de estabilización natural como estrategia para mejorar las propiedades físicas y mecánicas del suelo, para diversas aplicaciones en infraestructura. En este contexto, la bioestimulación surge como una alternativa prometedora, al aprovechar la biodiversidad microbiana autóctona para inducir procesos de biocementación efectivos; no obstante, su aplicación es limitada y existe desconocimiento local sobre la técnica dada la naturaleza de estos suelos, ya que la mayoría de las investigaciones sobre MICP se han desarrollado utilizando cepas bacterianas exógenas cultivadas en laboratorio y materiales granulares homogéneos bajo condiciones altamente controladas [24], [25]. Aunque estos estudios han permitido comprender los mecanismos fundamentales de biocementación, sus resultados no son fácilmente extrapolables a suelos naturales complejos, especialmente aquellos de origen volcánico y alta fracción fina. Adicionalmente, existe información limitada sobre la respuesta de comunidades bacterianas ureolíticas autóctonas frente a procesos de bioestimulación en suelos tropicales volcánicos, así como sobre la relación entre la actividad ureolítica, las variaciones de pH y conductividad eléctrica. Esta limitación dificulta la implementación de estrategias MICP adaptadas a condiciones reales de suelos tropicales empleados en aplicaciones de infraestructura y materiales de construcción.

En este contexto, el objetivo de esta investigación fue determinar la influencia de diferentes concentraciones de urea sobre la bioestimulación de bacterias ureolíticas autóctonas en un suelo volcánico tropical del suroccidente colombiano bajo condiciones de laboratorio, monitoreando la actividad ureolítica mediante los cambios de conductividad eléctrica.

2. METODOLOGÍA

El diseño experimental siguió la metodología planteada en la Figura 1.

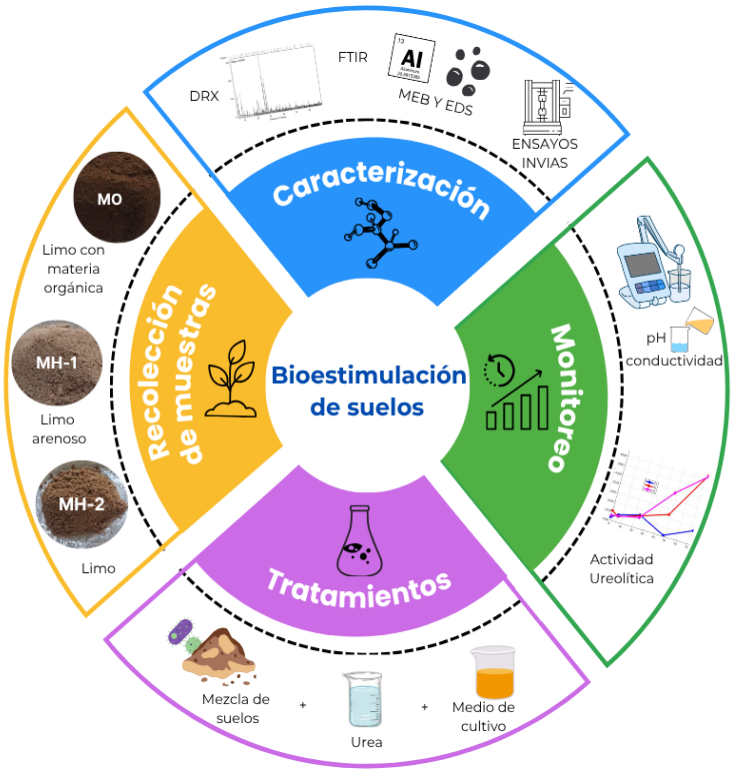

Figura 1. Metodología para caracterización y bioestimulación de suelos. Fuente: elaboración propia.

2.1 Recolección de muestras de suelo

Se recolectaron tres muestras de suelo de la ladrillera 'MONTEFLOR' ubicada en el municipio de Popayán, Cauca, Colombia (2° 29' 02.4" N, 76° 43' 29.0" W), representativas de las condiciones edáficas locales como se muestra en la Figura 2a. El muestreo se realizó en talud lateral siguiendo un patrón en zig-zag, con el fin de obtener material representativo de los tres tipos de suelo, que corresponden a: MH-1 (limo arenoso), MH-O (limo con materia orgánica) y MH-2 (limo), Figura 2b. Posteriormente, las muestras fueron tamizadas para eliminar grava y restos vegetales, y se almacenaron en bolsas plásticas a 4 °C para conservar las condiciones de humedad.

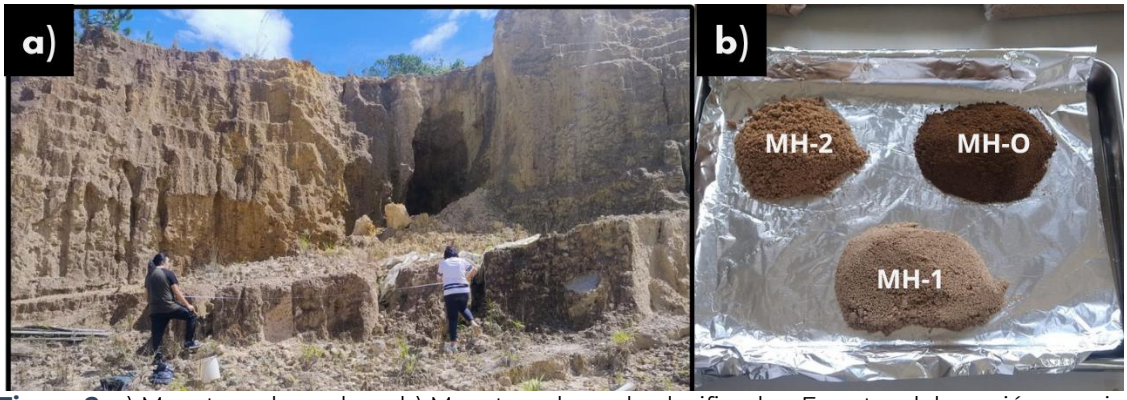

Figura 2. a) Muestreo de suelos y b) Muestras de suelo clasificadas. Fuente: elaboración propia.

2.2 Caracterización de muestras

2.2.1 Caracterización física y mecánica del suelo

Las propiedades físicas de las muestras se determinaron siguiendo la normativa del Instituto Nacional de Vías (INVÍAS) [26], incluyendo: tamaños de partículas y análisis granulométrico por hidrómetro (INV E-123-13), límites de Atterberg — límite líquido (INV E-125-13), límite plástico e índice de plasticidad (INV E-126-13) — y clasificación unificada de suelos para propósitos de ingeniería (INV E-181-13).

2.2.2 Caracterización fisicoquímica del suelo

Las muestras de suelo fueron caracterizadas fisicoquímicamente para determinar su composición química, estructural y microestructural mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), utilizando un espectrómetro Thermo Scientific Nicolet Apex y difracción de rayos X (DRX), empleando un difractómetro Bruker D2 PHASER.

Por otra parte, el estudio de la morfología y tamaño de granos se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), utilizando un microscopio electrónico TESCAN VEGA acoplado a un detector EDS para determinar la composición elemental. Para la preparación de las muestras, el suelo seco al horno fue dispersado en acetona utilizando un sonicador Elmasonic en condiciones de laboratorio durante 15 minutos. Posteriormente, las muestras fueron depositadas sobre un portamuestras de aluminio hasta evaporar la acetona y seguido recubiertas con una capa de oro de 25 nm de espesor en un sputtering de marca LUXOR con target de oro. El análisis se realizó con un voltaje de operación de 20 kV y una distancia de trabajo de 15 mm, lo que aseguró la adquisición de imágenes de alta resolución con su análisis elemental.

2.3 Bioestimulación de actividad ureolítica

2.3.1 Medio de enriquecimiento de bacterias ureolíticas

Se preparó un medio de enriquecimiento para promover el crecimiento de bacterias ureolíticas autóctonas del suelo, siguiendo las cantidades establecidas por [27], que contiene: 5.5 g/L de extracto de levadura, 5.0 g/L de cloruro de sodio, 0.4 g/L de D-glucosa, 0.4 g/L de fosfato dipotásico y 20 g/L de urea, pH 7.0; después de que el medio de cultivo fue esterilizado, se agregó la urea asépticamente a dos concentraciones (200 mM y 300 mM), que fueron seleccionadas con base en estudios previos que reportan actividad ureolítica eficiente dentro de este rango para procesos MICP, como en los estudios [20] y [28]. La selección de las dos

concentraciones tuvo el fin de analizar la respuesta bacteriana y determinar la que mejor promueve la hidrólisis de urea.

2.3.2 Ensayos de bioestimulación de suelos

Para cada tratamiento se utilizaron 10 g de suelo ajustado según su contenido de humedad natural y 90 mL del medio de enriquecimiento. Con el fin de identificar la concentración de urea más favorable para la bioestimulación bacteriana, se preparó inicialmente una mezcla ternaria 1:1:1 en peso, de los tres tipos de suelo (MH-1, MH-2 y MH-O), la cual fue incubada en medios suplementados con 200 mM y 300 mM de urea; adicionalmente, se estableció un tratamiento control sin adición de urea. Una vez identificada la concentración con mayor actividad ureolítica, se evaluaron muestras individuales y mezclas binarias 1:1 en peso, correspondientes a (MH-1 + MH-O), (MH-2 + MH-O) y (MH-1 + MH-2), utilizando la concentración seleccionada. Para cada tratamiento, se prepararon seis réplicas independientes destinadas al monitoreo temporal de la actividad ureolítica a 0, 6, 24, 48, 72 y 96 h. Los ensayos se realizaron en matraces Erlenmeyer incubados a 30 ± 2 °C y 60 rpm en una incubadora orbital tipo shaker (JP Inglobal®).

2.4 Monitoreo de actividad ureolítica

Al finalizar cada tiempo de incubación, se extrajo un volumen definido de muestra tratada, el cual fue mezclado con una solución de urea previamente preparada a concentración estándar. Se registró la conductividad eléctrica realizando lecturas cada 30 segundos durante 5 minutos [28], con un conductímetro digital marca Sper Scientific; con el mismo equipo, se midió el pH con el fin de monitorear su variación a lo largo del proceso de enriquecimiento. Como control, se realizaron las mismas mediciones en una mezcla en la que la urea se sustituyó por agua desionizada.

2.5 Cálculo de la actividad ureolítica

En términos prácticos, la actividad ureolítica constituye un indicador directo de la eficiencia en la descomposición de la urea. Generalmente, dicha actividad se normaliza respecto a la biomasa, expresándose como actividad ureolítica específica por unidad de densidad óptica (OD_{600}), como se muestra en (1) y de acuerdo con la formulación de. [29]:

$$kUrea = \frac{\Delta E.C}{\Delta t}\frac{C}{OD_{600} * factor\ de\ dilución} \quad (1)$$

Donde: kUrea es la actividad ureolítica específica normalizada por OD_{600} [mM urea/min/OD_{600}], ΔE.C es el cambio en la conductividad eléctrica [mS/cm], Δt es el intervalo de tiempo entre mediciones [min], C es la conversión de cambio de E.C a mM de urea hidrolizada (en este caso: 10.62 mS/cm = 1 mM urea), OD_{600} es la densidad óptica de la suspensión bacteriana original medida a 600 nm y el factor de dilución = 0.1, valores que fueron establecidos por [30].

Sin embargo, en el presente estudio no se realizó normalización por biomasa debido a las limitaciones metodológicas asociadas al uso de matrices de suelo natural heterogéneas. La presencia de partículas minerales finas, materia orgánica suspendida y agregados coloidales propios de los suelos volcánicos genera interferencias significativas en las mediciones de absorbancia óptica, impidiendo que los valores de OD_{600} representen exclusivamente la concentración celular bacteriana. Adicionalmente, al trabajar con comunidades microbianas autóctonas no aisladas, la cuantificación precisa de biomasa activa mediante densidad óptica resulta limitada y potencialmente sesgada. Por esta razón, la actividad ureolítica se expresó en

función de la variación temporal de la conductividad eléctrica, enfoque ampliamente utilizado en estudios de MICP para evaluar indirectamente la hidrólisis de urea en sistemas complejos de suelo [30]. Esta aproximación permite comparar de manera consistente la respuesta ureolítica entre tratamientos bajo condiciones experimentales homogéneas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización antes de la bioestimulación

3.1.1 Análisis FTIR

Los espectros infrarrojos de las muestras de suelo (Figura 3) permiten identificar los modos vibracionales asociados a los grupos funcionales presentes en cada muestra.

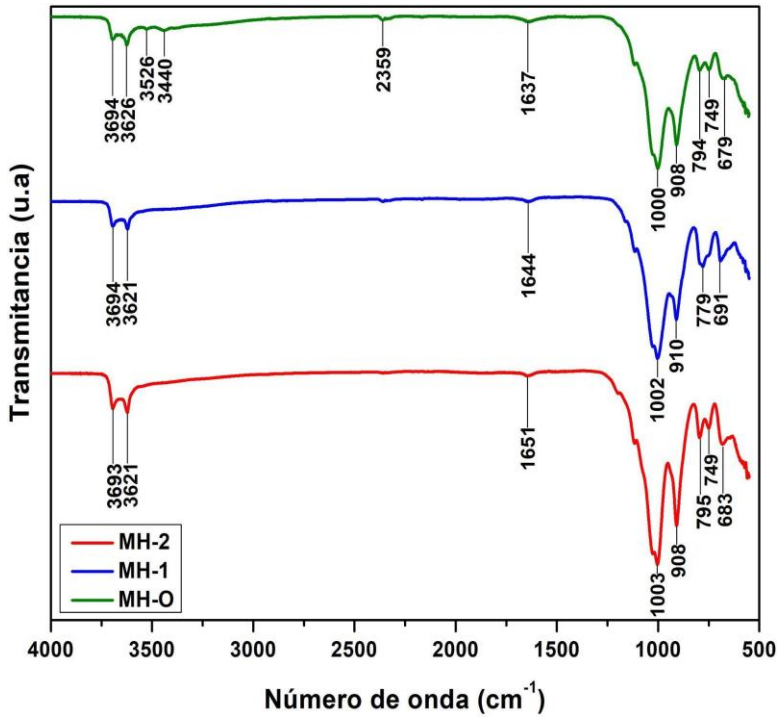

Figura 3. Espectros FTIR para las muestras: a) MH-2 (limo), b) MH-1 (limo arenoso) y c) MH-O (limo con materia orgánica). Fuente: elaboración propia.

En todas las muestras se identificó una doble banda en el rango 3694-3621 cm-1, atribuida a las vibraciones características de la halloysita ($Al_2Si_2O_5(OH)4$) [31]. La presencia de halloysita ha sido estudiada en geotecnia por su capacidad de modificar la plasticidad y mejorar la resistencia mecánica de suelos arcillosos. Su morfología tubular favorece interacciones con polímeros y agentes cementantes, lo que puede potenciar procesos de biomineralización inducida y contribuir a la estabilización de suelos [32].

Las bandas entre 1003-679 cm^{-1} se atribuyen a los modos de vibración del óxido de silicio (Si–O). La intensidad de las bandas refleja la abundancia de sílice, componente clave en la estructura de suelos arcillosos. En ingeniería de materiales, la sílice participa en reacciones puzolánicas y en la formación de fases cementantes que incrementan la resistencia a la compresión y la durabilidad de materiales derivados del suelo. Su identificación respalda la pertinencia de aplicar tratamientos de bioestimulación que promuevan la precipitación de carbonatos y la consolidación de la matriz [33].

La detección de las bandas entre 3526-2359 cm^{-1} evidencia la presencia de compuestos orgánicos [34]. En el contexto de estabilización, La presencia de estos compuestos puede tener efectos contrarios; por un lado, reduce la cohesión y favorece la degradación, por otro, puede servir como fuente de carbono para microorganismos implicados en procesos de precipitación de $CaCO_3$. Reconocer esta dualidad es esencial para diseñar estrategias de bioestimulación que aprovechen la actividad microbiana sin comprometer la estabilidad mecánica del suelo [35]. La Tabla 1 resume la información correspondiente a cada una de las bandas identificadas en el espectro FTIR de las muestras.

Tabla 1. Descripción de las bandas vistas en los espectros FTIR. Fuente: elaboración propia.

Número de onda (cm^{-1})	Descripción	Referencia
3694—3693	Formación de enlaces de hidrógeno entre grupos OH y moléculas de agua (banda típica de caolinitas).	[31]
3626—3621	Vibraciones de estiramiento de grupos hidroxilo internos individuales (ν (OH)).	[31]
3526—2359	Asociado a grupos orgánicos.	[34]
1651—1637	Vibración de deformación del agua (tensión OH).	[36]
1003—1000	Vibraciones de estiramiento antisimétricas en el plano Si–O–Si.	[31]
910—908	Flexión de Al_2OH (Al–OH deformación).	[31]
795—749	Si–O tensión del cuarzo y del silicio.	[31]
691—679	Vibraciones perpendiculares de Si–O.	[31]

3.1.2 Análisis DRX

La caracterización mineralógica mediante difracción de rayos X (Figura 4) confirma una composición heterogénea de fases cristalinas en las muestras de arcillas, evidenciada por reflexiones intensas en posiciones 2θ entre 8.9° y 33.6°. La conversión de estos ángulos a distancias interplanares mediante la ley de Bragg, permitió identificar fases clave. Los picos basales en torno a 9.89 Å y 9.01 Å (PDF #14-0164) se atribuyen a planos (001) de caolinita y/o esmectita, indicando la coexistencia de arcillas tipo 1:1 y 2:1 con distintos grados de hidratación interlaminar. La caolinita aporta plasticidad moderada y baja expansividad, mientras que la esmectita introduce un potencial de hinchamiento por hidratación interlaminar. Esta combinación sugiere que los suelos poseen un comportamiento mixto, donde la estabilización requiere técnicas que reduzcan la expansividad sin comprometer la trabajabilidad [37]. Reflexiones adicionales en 7.16 Å y entre 4.44–4.05 Å (PDF #29-1499) confirman la presencia de montmorillonita e/o illita, respectivamente, la primera, de carácter expansivo y con alta capacidad de intercambio catiónico, resulta susceptible a procesos de biomineralización inducida mediante precipitación de carbonatos; la segunda, de naturaleza no expansiva, aporta estabilidad estructural y reduce el riesgo de deformaciones excesivas. [38]. Los picos en 3.66–3.18 Å (PDF #46-1045) corresponden a cuarzo, feldespatos (microclina, albita) y filosilicatos como muscovita o clorita, lo que indica la presencia de fases tectosilicáticas y filosilicatos ricos en hierro (Fe) y magnesio (Mg), comunes en ambientes sedimentarios y volcánicos alterados (ICDD PDF #22-0711, #09-0466) [37]. Estos componentes tectosilicáticos actúan como esqueletos rígidos, mejorando la resistencia mecánica y reduciendo la plasticidad global del suelo. Su presencia es favorable para la consolidación y durabilidad de materiales derivados de estas arcillas. En combinación con los compuestos orgánicos identificados en el FTIR, se sugiere un escenario donde la bioestabilización puede ser una alternativa viable, siempre que se controle la degradación orgánica [35]. La composición mineralógica indica que las arcillas poseen propiedades mixtas: plasticidad moderada, potencial de hinchamiento controlado y capacidad de adsorción.

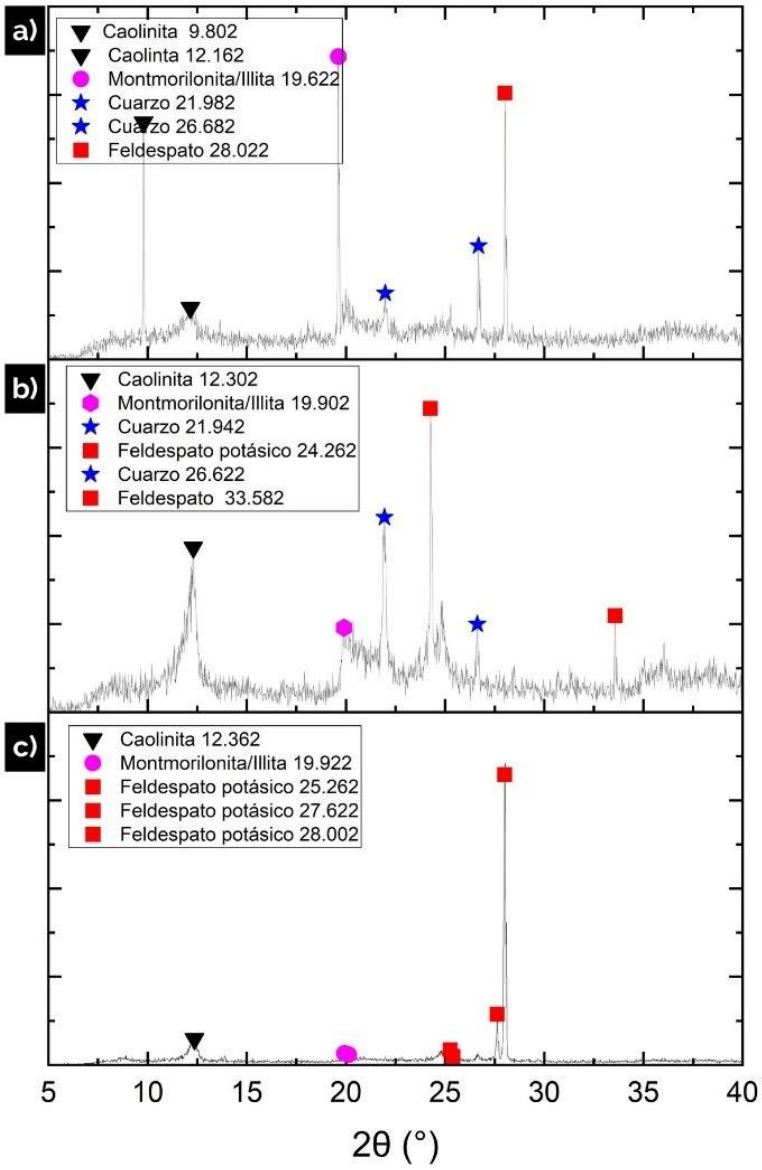

Figura 4. Difractograma DRX para las muestras: a) MH-O (limo con materia orgánica), b) MH-2 (limo) y c) MH-1 (limo arenoso). Fuente: elaboración propia.

3.1.3 Análisis MEB Y EDS

La Figura 5 muestra las micrografías obtenidas mediante MEB en las que se observan partículas con morfología irregular y un rango de tamaños entre 1.5 µm y 38 µm, además de algunas partículas de mayor dimensión, según la escala de cada imagen. Asimismo, se evidencian aglomerados de partículas finas adheridas a partículas más grandes, lo que indica la coexistencia de distintas fracciones granulométricas. Las partículas más finas (<5 µm) se asocian con componentes arcillosos [26], las de tamaño intermedio (5–75 µm) corresponden a limo y las de mayor tamaño (>75 µm) a la de arena, confirmando la presencia de estas fracciones en proporciones variables dentro de las muestras. Por su parte, los espectros EDS muestran que la composición elemental semicuantitativa, está dominada por oxígeno, silicio, aluminio y carbono, los cuales representan aproximadamente el 87 % de la composición total.

También se detectan elementos en menor proporción, como hierro, cobre, magnesio, calcio y titanio, lo que sugiere la presencia de fases minerales secundarias.

La morfología irregular y la coexistencia de fracciones granulométricas observadas en SEM reflejan la heterogeneidad textural de las arcillas, lo que influye en su comportamiento mecánico y en la necesidad de tratamientos de estabilización diferenciados. La presencia de partículas finas (<5 µm) asociadas a arcillas expansivas explica la susceptibilidad al hinchamiento, mientras que las fracciones más gruesas aportan rigidez y resistencia estructural [33]. La composición elemental obtenida por EDS concuerda con los resultados FTIR y DRX, confirmando la dominancia de silicatos y aluminosilicatos como constituyentes principales. Este aspecto es relevante en ingeniería geotécnica, ya que la abundancia de Si y Al favorece reacciones puzolánicas y la formación de fases cementantes en procesos de estabilización. Los elementos minoritarios (Fe, Mg, Ca, Ti) sugieren la presencia de fases secundarias que pueden actuar como nucleadores en procesos de biomineralización, contribuyendo a la consolidación del suelo [39]. En conjunto, los resultados SEM/EDS refuerzan la interpretación de una matriz arcillosa heterogénea, con potencial de bioestabilización mediante precipitación de carbonatos, siempre que se controle la proporción de fracciones finas y la interacción con materia orgánica previamente identificada en FTIR.

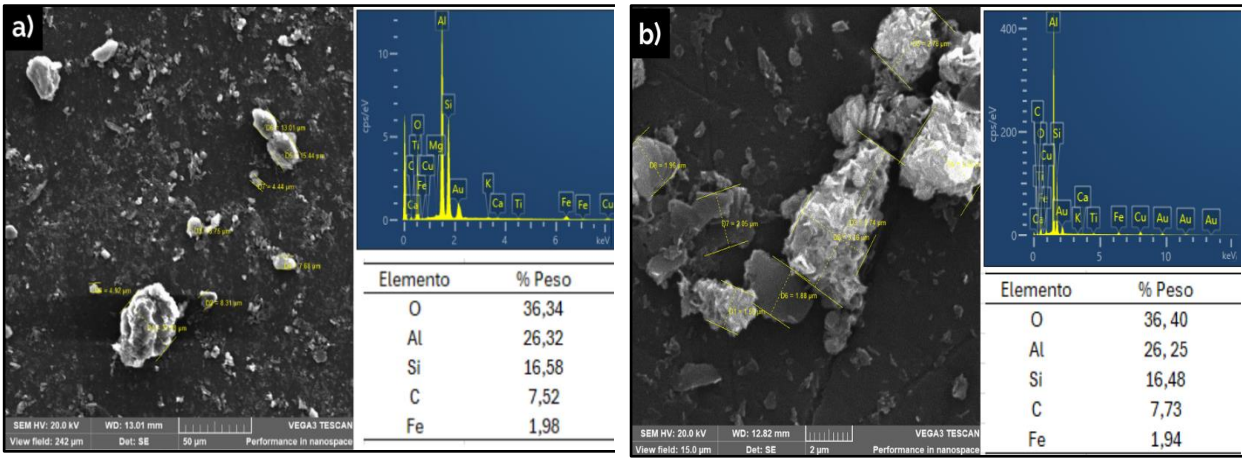

Figura 5. Análisis MEB y EDS: a) MH-2 (limo) y b) MH-1 (limo arenoso). El análisis elemental mostrado solo representa los porcentajes en peso más significativos. Fuente: elaboración propia.

3.1.4 Ensayos INVIAS

Los ensayos físicos realizados a las muestras de suelo mostraron que las fases MH-1 (limo arenoso) y MH-2 (limo) son de la misma naturaleza, ya que presentan composiciones y comportamientos similares en cuanto a los límites líquido y plástico, haciendo que se clasifiquen como limos de alta plasticidad (MH), de acuerdo con el sistema unificado de clasificación de suelos (SUCS). Las diferencias observadas en su apariencia se atribuyen al distinto grado de meteorización de los suelos, factor que influye en la mineralogía y textura del material, modificando características como el color, la plasticidad y la cohesión, sin alterar de manera significativa su clasificación como MH (Limo de alta plasticidad o compresibilidad). Los resultados obtenidos conforme a los ensayos realizados con la norma INVIAS se presentan en la Tabla 2, estos muestran resultados típicos de suelos de la zona geológica y formación [1], [23], con valores de alta plasticidad y alto grado de expansividad (LL > 60 % e IP > 32), ver Norma INV E -132-13 [26], así como alto contenido de partículas de arcilla.

Los ensayos físicos evidenciaron que las muestras MH-1 y MH-2 presentan comportamientos geotécnicos similares, clasificándose ambas como limos de alta plasticidad (MH) según el sistema unificado de clasificación de suelos (SUCS). Los elevados valores de límite líquido (LL > 64 %) e índice de plasticidad (IP > 32 %) indican un comportamiento expansivo y

una alta capacidad de retención de agua, características típicas de suelos volcánicos con elevado contenido de partículas finas y minerales arcillosos presentes en la región del Cauca [1], [23]. Desde el punto de vista de la MICP, estas propiedades representan un desafío importante para la aplicación de procesos de biocementación. Diversos estudios han reportado que los suelos con alta fracción de arcilla pueden limitar la movilidad de soluciones nutritivas y reducir la distribución homogénea de carbonato de calcio precipitado debido a su baja permeabilidad y elevada superficie específica [40]. En consecuencia, la mayoría de las investigaciones sobre MICP se han enfocado en arenas limpias y materiales granulares, donde la difusión de nutrientes y el crecimiento bacteriano son favorables. No obstante, la elevada capacidad de retención de humedad observada en los suelos analizados podría favorecer la permanencia de actividad microbiana durante periodos prolongados de incubación, generando condiciones potencialmente adecuadas para la bioestimulación de bacterias ureolíticas autóctonas. Este comportamiento sugiere que, aunque los suelos volcánicos finos presentan mayores limitaciones operacionales para aplicaciones MICP, también podrían ofrecer ventajas relacionadas con la estabilidad hídrica y la persistencia metabólica microbiana [33]. Las diferencias visuales entre MH-1 y MH-2 probablemente se relacionan con distintos grados de meteorización y contenido mineralógico, factores que pueden influir en la disponibilidad de sitios de nucleación para precipitación de calcita. Sin embargo, el presente estudio no evaluó directamente parámetros de permeabilidad ni resistencia mecánica posterior al tratamiento, lo cual constituye una limitación para establecer de manera concluyente el impacto ingenieril de la bioestimulación sobre el comportamiento geotécnico del suelo.

Tabla 2. Propiedades físicas del suelo. Fuente: elaboración propia.

Parámetro	MH-1	MH-2
% Arena	21.52	26.41
% Limo	27.54	30.98
% Arcilla	50.94	42.61
Límite líquido LL (%)	64.25	64.20
Límite plástico LP (%)	32.17	31.94
Índice de plasticidad IP (%)	32.08	32.26
Clasificación de suelos (SUCS)	MH	MH

3.2 Caracterización después de la bioestimulación

3.2.1 Medidas de conductividad

Los resultados de conductividad y estimulación bacteriana se presentan en la Figura 6, que muestra la evolución temporal de la conductividad eléctrica promedio para cada tratamiento. Se observa que los ensayos presentan variaciones tanto en la magnitud como en el patrón de crecimiento, dependiendo del tratamiento aplicado.

En el primer ensayo, correspondiente a la mezcla de las tres fases de suelo (Figura 6a), el tratamiento control mantuvo valores bajos y relativamente estables durante el periodo de enriquecimiento (1667–2260 µS). En contraste, las concentraciones de urea a 200 mM (U200) y 300 mM (U300) generaron incrementos progresivos en la conductividad, destacando el ensayo con U300, que registró la mayor respuesta alcanzando valores cercanos a 6500 µS al final del ensayo, con un incremento notable desde las 48 h.

La Figura 6b muestra los resultados del segundo ensayo realizado con las muestras de suelo por separado a una concentración de U300. Este ensayo permitió identificar el papel específico de cada tipo de muestra en la dinámica de la conductividad. En este caso, aunque todos los suelos respondieron positivamente a la adición de urea con un aumento de la conductividad,

la fase de materia orgánica (MH-O) presentó un aumentó más rápido en el sistema, lo que podría atribuirse a su capacidad de retención de nutrientes y de agua, así como a la interacción con la urea y los microorganismos. Mientras que las fases MH-1 y MH-2 mantuvieron comportamientos más estables a lo largo del tiempo, lo que sugiere una respuesta más lenta pero efectiva en la estimulación química. Al final del ensayo, las fases MH-1 y MH-O registraron los valores más altos de conductividad.

En la Figura 6c, correspondiente a la combinación de dos fases de suelo, se observa que los valores de conductividad se mantuvieron casi constantes hasta las 24 h. Posteriormente, entre las 24 y 48 h, se evidenció un aumento en la combinación MH-1 + MH-O, que alcanzó un valor cercano a 2900 µS a las 48 h, mientras que MH-2 + MH-O y MH-1 + MH-2 permanecieron alrededor de 2100 y 1600 µS, respectivamente. A las 72 h, los tres tratamientos mostraron un marcado incremento, alcanzando valores máximos de conductividad entre 6900 y 7100 µS, sin diferencias significativas entre ellos. Este comportamiento indica que un incremento pronunciado de la conductividad ocurre en el intervalo 48–72 h, siendo más temprana la respuesta en la combinación MH-1 + MH-O, mientras que en MH-2 + MH-O y MH-1 + MH-2 el ascenso es más tardío, aunque igualmente intenso.

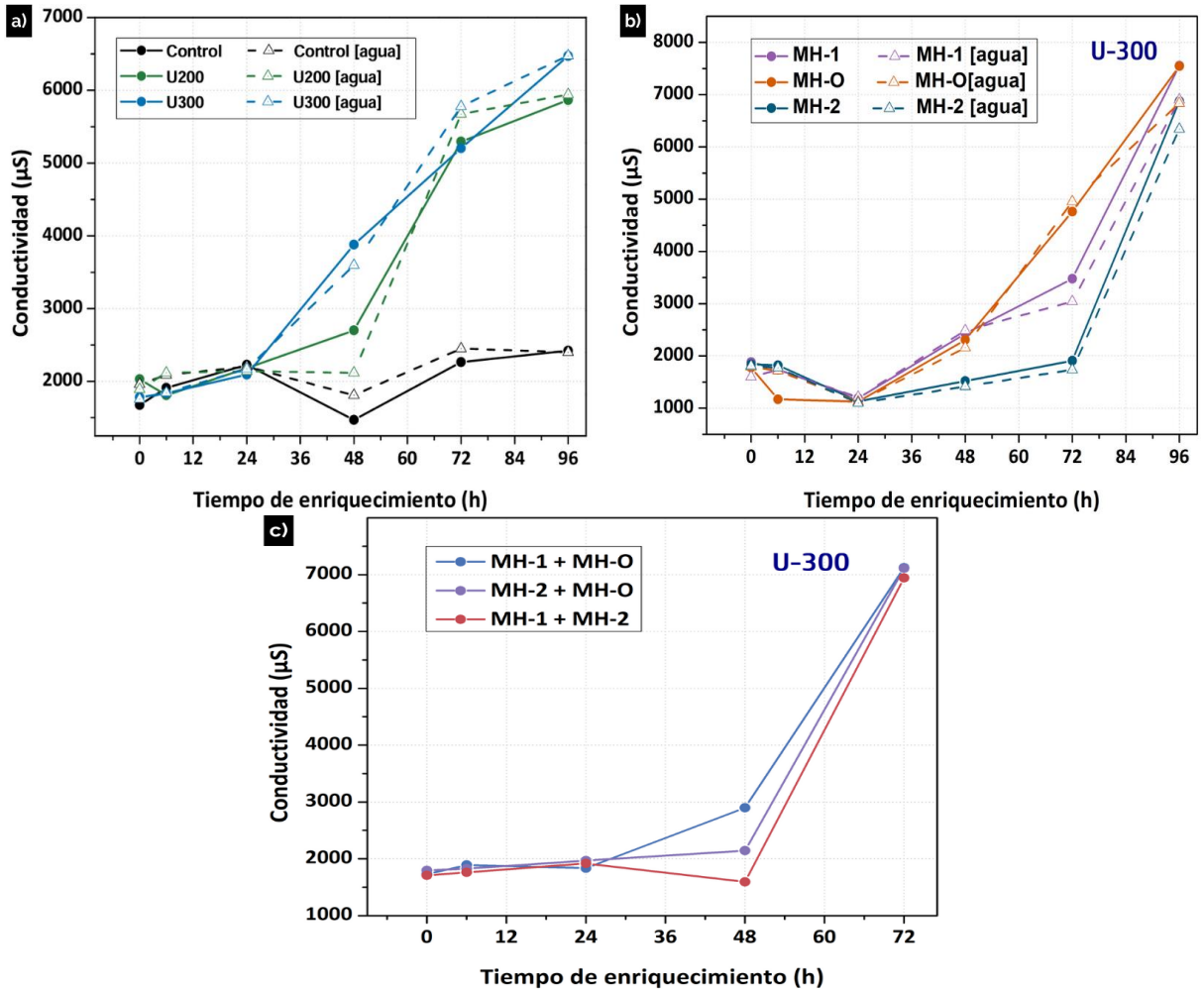

Figura 6. Conductividad promedio a lo largo del tiempo de enriquecimiento: a) Mezcla de las tres fases, b) Muestras individuales y c) Mezcla de dos fases. [agua]: dilución del tratamiento con agua desionizada. Fuente: elaboración propia.

Estos resultados muestran una clara correlación entre la concentración de urea y el incremento de la conductividad, lo que sugiere una activación progresiva de procesos bioquímicos asociados a la estimulación bacteriana nativa y, asimismo, indica una mayor disponibilidad de especies iónicas en solución, derivadas de la hidrólisis de la urea y la actividad microbiana, de forma similar a lo reportado por [20]. La reacción catalizada por la enzima ureasa, como se observa en (2), explica la liberación de especies iónicas en solución. El incremento progresivo de la conductividad está asociado a la hidrólisis de la urea y a la disponibilidad de iones amonio y carbonato.

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \rightarrow 2NH_4^+ + CO_3^{2-} \quad (2)$$

Además, los iones NH_4^+ liberados pueden sustituir cationes como Ca^{2+} o Mg^{2+} adsorbidos en el complejo arcillo-húmico como se observa en (3), favoreciendo la liberación de estos cationes a la solución. Este proceso está directamente relacionado con la capacidad de intercambio catiónico de los suelos, lo que potencia la formación de carbonatos y la consolidación de la matriz arcillosa. La presencia de la fase orgánica (MH-O) parece modular la cinética de liberación iónica y la actividad microbiana, generando respuestas sinérgicas cuando se combina con otras fases [39].

$$Arcilla - Ca^{2+} + 2NH_4^+ \rightarrow Arcilla - (NH_4^+) + Ca^{2+} \quad (3)$$

En conjunto, los resultados confirman que la estimulación bacteriana mediante urea incrementa la conductividad eléctrica como indicador indirecto de la actividad microbiana y de los procesos de biomineralización, lo que respalda su aplicación en estrategias de bioestabilización de suelos arcillosos.

3.2.2 Actividad ureolítica (AU)

La conductividad refleja la acumulación de iones en el tiempo, mientras que la AU representa la velocidad puntual del proceso, que se calcula a partir de la pendiente de la conductividad en intervalos de tiempo, lo que representa la tasa instantánea de reacción. La Figura 7 muestra los resultados de la actividad ureolítica en función del tiempo de enriquecimiento.

Los valores de la actividad ureolítica no necesariamente siguen un patrón de crecimiento continuo, sino que reflejan fluctuaciones (picos y caídas) dependiendo de la velocidad momentánea con la que las bacterias hidrolizan la urea. Es común que haya picos de AU entre las 48 h y 72 h, cuando la comunidad microbiana está más activa y caídas de AU por agotamiento de nutrientes y aumento en los niveles de residuos disueltos [41].

En la Figura 7c se observa que la mezcla en partes iguales de MH-1 + MH-O alcanza el mayor valor de actividad ureolítica, con 3.15 mM urea/min tras 72 h. Por otra parte, en la Figura 7a se muestra que el ensayo de control refleja una actividad ureolítica inicial de 0.41 mM urea/min, esto puede atribuirse a la presencia de materia orgánica en el suelo, que puede contener trazas de urea o compuestos nitrogenados fácilmente hidrolizables; sin embargo, esta respuesta también es coherente con lo reportado para suelos naturales, donde pueden existir bacterias autóctonas capaces de producir ureasa de forma inducible cuando se detecta urea disponible en el microambiente. Estudios previos han demostrado que, incluso sin enriquecimiento externo, ciertos microorganismos del suelo pueden activar una producción basal de ureasa o mantener una expresión constitutiva de baja intensidad [42], [43]. Además, se observa que la mezcla de MH-1, MH-2 y MH-O registró el segundo valor más alto de actividad ureolítica, con 2.17 mM urea/min a las 48 h. Finalmente, la prueba individual de cada tipo de suelo mostrada en la Figura 7b presentó el desempeño más bajo, tanto en actividad ureolítica como en la estabilidad del proceso, por lo cual no resulta conveniente utilizar un único tipo de suelo para el proceso de precipitación de calcita.

Los valores registrados de AU muestran una coherencia notable con los reportados en la literatura bajo metodologías similares. Por ejemplo, [15] observaron un incremento progresivo de la actividad durante las 48–72 h, alcanzando valores máximos de 3.1 mM y 2.2 mM urea/min; mientras que [16] reportaron valores cercanos a 2.0 mM urea/min en arenas bioestimuladas con 170 mM de urea; con los tratamientos más efectivos de este estudio alcanzando valores de 3.15 mM y 2.17 mM urea/min, se refleja una cinética de crecimiento y magnitudes equivalentes, lo que sugiere un desempeño eficiente de las bacterias nativas frente a la urea disponible en el medio. Por otra parte, [20] quienes aplicaron la normalización por OD_{600}, reportaron valores máximos de 2.5 mM a 8.0 mM urea/min/OD_{600} entre las 48 h y 72 h, coincidiendo con el periodo de máxima actividad observado en este trabajo. Aunque los valores de AU son mayores, probablemente debido a la corrección por biomasa bacteriana, las tendencias cinéticas y el tiempo de respuesta son equivalentes, lo que refuerza la consistencia del proceso.

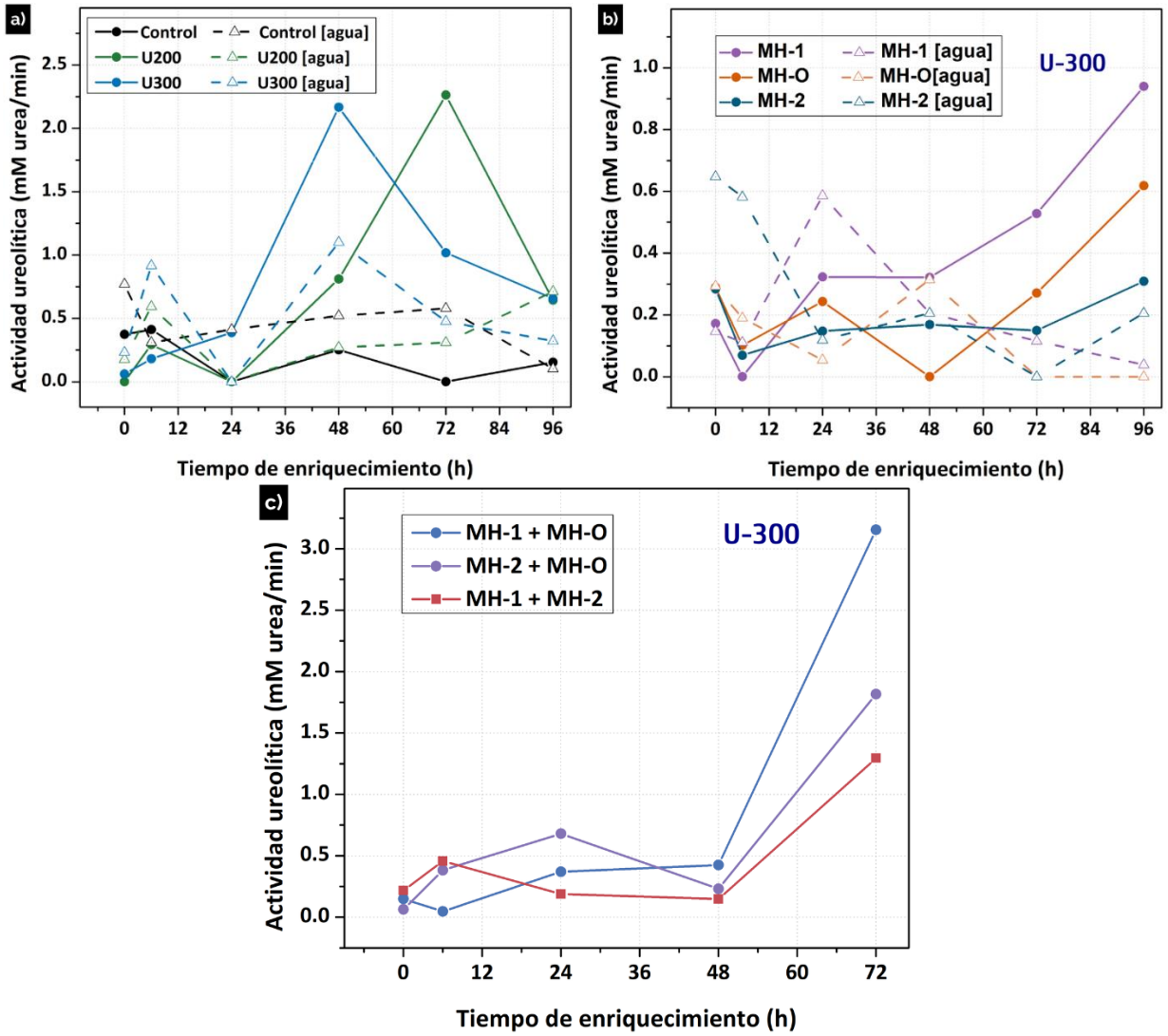

Figura 7. Actividad ureolítica a lo largo del tiempo de enriquecimiento: a) Mezcla de las tres fases, b) Muestras individuales y c) Mezcla de dos fases. [agua]: dilución del tratamiento con agua desionizada. Fuente: elaboración propia.

Los resultados indican que la adición de la fase MH-O desempeña un papel clave en la respuesta de la AU, ya que favorece un mayor crecimiento de actividad bacteriana, dado que este tipo de suelos suelen albergar una mayor diversidad y abundancia de microorganismos;

además, son las mezclas que contienen esta fase las que registran mayor actividad ureolítica en cada uno de los ensayos. Por otro lado, al realizar la medición en ausencia de urea (representada por la línea punteada), los valores de AU se mantienen bajos ya que no hay urea disponible en el medio que impulse la actividad enzimática. En estas condiciones no se genera la liberación de NH_4^+, por lo que la conductividad permanece constante y la actividad ureolítica calculada resulta casi nula a lo largo del ensayo en estas condiciones.

En el contexto de estabilización de suelos, estudios como [17] y [18], demuestran que el valor óptimo de AU no necesariamente corresponde a las tasas más altas de hidrólisis de urea, sino a una velocidad controlada que permita una precipitación gradual y homogénea del carbonato de calcio ($CaCO_3$) dentro de la matriz del suelo, lo que mejora la uniformidad del cemento y puede incrementar la resistencia mecánica del material. Además, según [22], estas cinéticas lentas permiten la formación de cristales de mayor tamaño y distribución más equilibrada dentro de la matriz, evitando la cementación localizada. Así, aunque las comunidades nativas puedan mostrar una cinética más lenta, su diversidad microbiana y su capacidad para mantener una AU más estable en el tiempo pueden favorecer la generación de microambientes que promuevan una biomineralización más uniforme. En este sentido, la bioestimulación de comunidades autóctonas no sólo constituye una alternativa sostenible y compatible con las condiciones locales del suelo, sino también tiene un potencial adecuado para aplicaciones ingenieriles donde la uniformidad y estabilidad estructural son prioritarias.

3.2.3 Valores de pH

Los cambios de pH durante el proceso de enriquecimiento se pueden dividir esencialmente en dos etapas: una fase inicial caracterizada por la acidificación debido a la respiración bacteriana aeróbica y la fermentación anaeróbica, y una fase de alcalinización resultante de la acumulación de amoníaco [16]. Como se muestra en la Figura 8, los niveles de pH en las primeras 24 h oscilan entre valores de 6 y 7, donde se observa una ligera disminución del pH en la mayoría de los ensayos, atribuida a procesos metabólicos iniciales como la respiración bacteriana y la fermentación, que generan compuestos ácidos en el medio. Por otro lado, a las 48 h se observó un aumento gradual del pH. Los datos indicaron que entre las 72 h y 96 h los valores de cada una de las mezclas a las que se adicionó urea se encuentran en valores de pH entre 8.90 y 8.11. Este proceso es atribuido a la acumulación continua del amoníaco como producto de la hidrólisis de urea. Los datos indicaron que las concentraciones más altas de urea, específicamente U200 y U300, experimentaron los aumentos más significativos en pH con valores de 9.02 y 9.11 respectivamente.

De acuerdo con [44], los valores de pH tras 72 h de tratamiento de bioestimulación de bacterias autóctonas suelen situarse entre 8.5 y 9.5, lo cual coincide con los valores obtenidos en este estudio. [45] reportó tres fases características en la evolución del pH: una fase inicial (entre 0 h y 24 h) que se atribuye a la adaptación y crecimiento bacteriano con una variación mínima en los valores de pH; una fase intermedia en el que las bacterias han crecido y dividido (entre 24 h y 60 h) donde se da un aumento pronunciado del pH, que ocurre debido a una rápida hidrólisis de la urea y liberación de iones amonio, y una fase estacionaria (posterior a las 60 h), en la que se ven incrementos pequeños en el pH por el agotamiento de nutrientes y la disminución de la actividad ureolítica.

De forma similar, [46] observó valores de pH neutros (entre 7.3 y 7.6) durante las primeras 12 h, seguidos de un aumento pronunciado hasta alcanzar valores cercanos a 9.0 h a las 72 h. En sus ensayos de control (sin adición de urea), el pH alcanzó valores alrededor de 8.0, el cual ocurre por la descomposición de compuestos nitrogenados presentes en el extracto de levadura. Este comportamiento se asemeja al observado en la Figura 8a de este estudio, donde los tratamientos control presentaron una tendencia similar. Por su parte, cuando se emplean cepas exógenas, como en el estudio de [47], el pH aumenta rápidamente durante las primeras 12 h tras la inoculación, alcanzando valores entre 9.2 y 9.4. Esto se debe a que las bacterias son previamente cultivadas y adaptadas antes de su aplicación, lo que les permite hidrolizar la urea

con mayor rapidez y elevar el pH del medio en menor tiempo. No obstante, los valores finales de pH tienden a ser similares independientemente del origen de las bacterias; la diferencia radica en que, al trabajar con bacterias nativas, es necesario un periodo de adaptación más prolongado para que estas se desarrollen y generen las condiciones óptimas de su entorno.

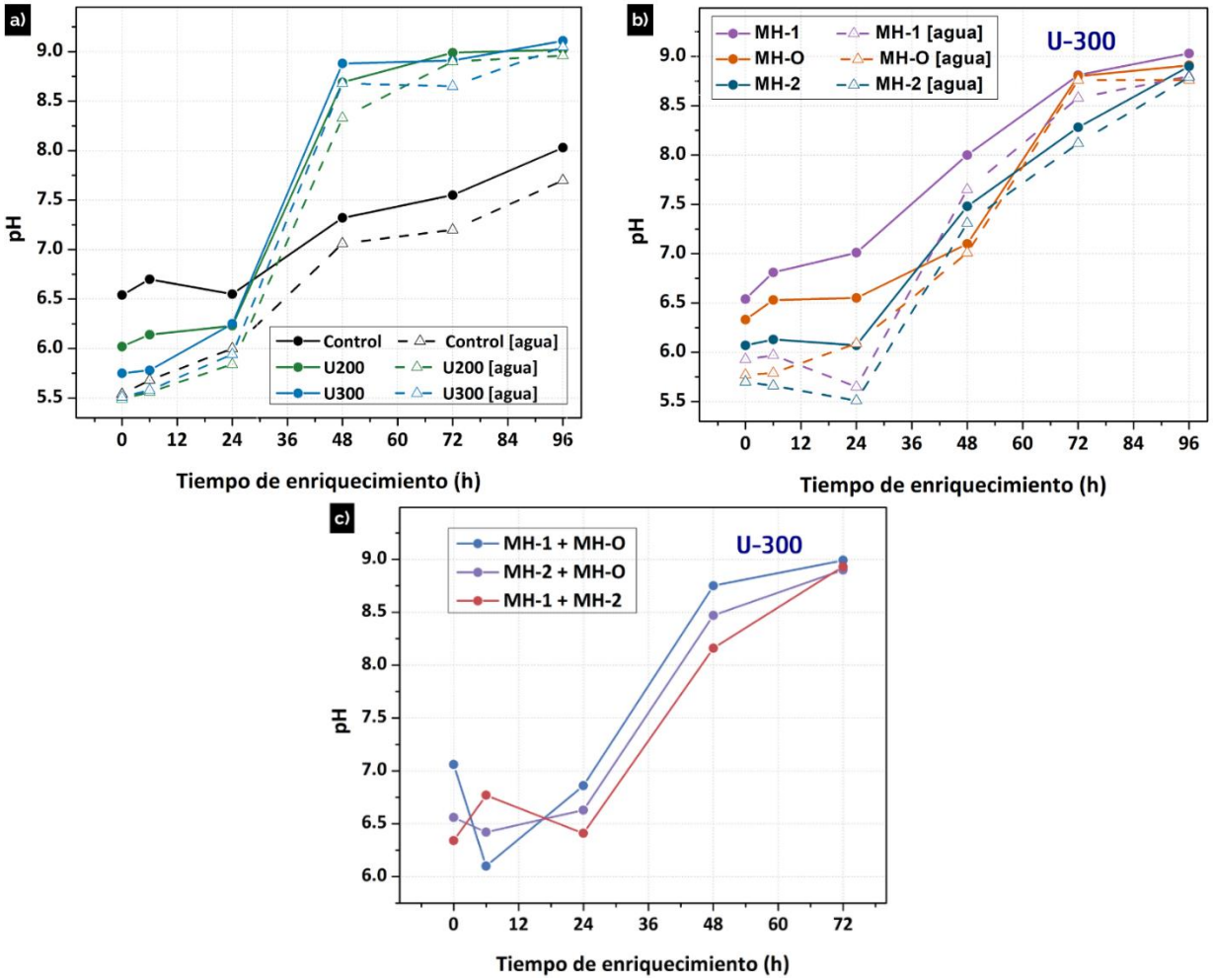

Figura 8. Valores de pH a lo largo del tiempo de enriquecimiento: a) Mezcla de tres fases, b) Muestras individuales y c) Mezcla de dos fases. [agua]: dilución del tratamiento con agua desionizada.
Fuente: elaboración propia.

El pH desempeña un papel determinante en la eficiencia del proceso MICP, ya que influye directamente tanto en la actividad ureolítica como en la precipitación de carbonato de calcio. En particular, se ha reportado que la ureasa bacteriana alcanza su máxima actividad alrededor de pH 8, mientras que la sobresaturación de carbonato y la nucleación de calcita se optimizan en condiciones alcalinas (pH > 9) [48], [49]. Sin embargo, valores de pH inferiores a 4 reducen drásticamente la eficiencia de precipitación y pueden inhibir la hidrólisis de urea [50].

En el presente estudio, los valores de pH registrados se mantuvieron dentro del rango óptimo reportado para la ureólisis (7–9), lo que sugiere que las bacterias autóctonas presentes en los suelos evaluados desarrollan una actividad ureolítica suficiente para inducir condiciones alcalinas y, potencialmente, la precipitación de calcita. A diferencia de los ensayos con *Sporosarcina pasteurii*, donde la ureasa intracelular limita la influencia del pH externo [49], en este caso las comunidades microbianas nativas probablemente presentan ureasa extracelular, la hidrólisis ocurre directamente en el entorno líquido del suelo por lo que las variaciones de pH observadas reflejan la respuesta colectiva del consorcio bacteriano a la bioestimulación.

Esto concuerda con los hallazgos de. [51], quienes demostraron que los grupos microbianos naturales mantienen una actividad ureolítica efectiva dentro de rangos de pH moderadamente alcalinos (pH 6.5 – 8.3), confirmando su potencial para procesos de biocementación sin necesidad de inoculación externa.

4. CONCLUSIONES

La investigación confirma que los suelos arcillosos evaluados poseen una composición mineralógica heterogénea, dominada por minerales aluminosilicatos típicos de ambientes volcánicos, cuya estructura favorece la interacción con comunidades microbianas nativas. La caracterización fisicoquímica y microestructural evidenció la presencia de fases expansivas y no expansivas, así como componentes orgánicos que modulan la respuesta del sistema frente al enriquecimiento con urea. En este contexto, todas las muestras incrementaron significativamente su actividad ureolítica tras el enriquecimiento, demostrando la capacidad de las poblaciones bacterianas nativas para responder mediante la producción de ureasa. La mezcla MH-1 + MH-O registró los valores más altos de actividad, mientras que la combinación de las tres fases (MH-O + MH-1 + MH-2) mostró un comportamiento más estable y representativo de las condiciones reales de los suelos empleados en la industria ladrillera de la región. Estos hallazgos confirman que el suelo evaluado contiene bacterias ureolíticas activas y presenta condiciones propicias para su bioestimulación, lo que lo hace adecuado para la aplicación de la técnica de MICP. Aunque, no se realizó una cuantificación directa de calcita precipitada ni ensayos mecánicos posteriores al tratamiento, por lo que no es posible establecer aún el impacto del proceso sobre propiedades geotécnicas del suelo. La respuesta positiva a la adición de urea respalda la viabilidad de avanzar hacia etapas posteriores orientadas a la precipitación de calcita, consolidando la matriz arcillosa y mejorando sus propiedades mecánicas inducidas por bioestimulación y analizar la evolución microestructural del suelo tratado. En conjunto, la integración de resultados fisicoquímicos y biológicos proyecta a estos suelos como un recurso estratégico para el desarrollo de soluciones sostenibles en ingeniería geotécnica y de materiales, abriendo el camino hacia procesos de biocementación con potencial aplicación en la estabilización de suelos arcillosos y en la producción de materiales cerámicos más resistentes y duraderos.

5. AGRADECIMIENTOS Y FINANCIACIÓN

Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigaciones VRI de la Universidad del Cauca por el apoyo mediante el proyecto de desarrollo interno ID6679: Estabilización de suelos utilizados en la fabricación de ladrillos, mediante la precipitación de carbonato de calcio inducido por microorganismos y al Tecnoparque Nodo Cauca-SENA por el apoyo mediante el proyecto I2025-1614011-22244- Estabilización de suelos arcillosos mediante precipitación de calcita mediada por microorganismos, en ejecución durante la vigencia 2025. Finalmente, agradecemos a la ladrillera MONTEFLOR, de propiedad del Sr. Mauricio Montero que gentilmente ha proporcionado las muestras de suelo.

6. REFERENCIAS

[1] A. Lizcano, M. C. Herrera, and J. C. Santamarina, “Suelos derivados de cenizas volcánicas en Colombia,” *Rev. Int. Desastres Nat. Accid. Infraest. Civ.*, vol. 6, no. 2, p. 167, Feb. 2006. https://cdn-web-content.srk.com/upload/user/image/MCHerrera-ALizcano-JCSantamarina_Suelos+Derivados+de+Cenizas+Volcánicas+en+Colombia_2006.pdf

[2] W. D. Kingery, H. K. Bowen, and D. R. Uhlmann, *Introduction to Ceramics*. 2nd ed. New York, NY, USA: John Wiley & Sons, 1976. https://www.wiley.com/en-us/shop/general-introductory-materials-science/introduction-to-ceramics-2nd-edition-p-9780471478607

[3] R. E. Garcés Aguilar, and W. N. Garcés Aguilar, "Caracterización de las arcillas del norte del Cauca, Colombia: enclave para la optimización del proceso productivo de la industria ladrillera," *J. Cien. Ing*., vol. 9, no. 1, pp. 34-41, Aug. 2017. https://jci.uniautonoma.edu.co/2017/2017-6.pdf

[4] D. P. Tamayo Figueroa, "Reparación de grietas en materiales base cemento empleando cultivos bacterianos axénicos y mixtos," Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 2023. https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/85319

[5] J. R. Nahuat-Sansores, L. F. Jiménez, and F. del C. Teh-Dzul, "Carbonatogénesis inducida por adición de bacterias en el concreto," *Ing. Rev. Acad. Fac. Ing. UADY*, vol. 25, no. 3, pp. 14-21, Jan. 2021. https://www.revista.ingenieria.uady.mx/ojs/index.php/ingenieria/article/view/214/184

[6] M.-J. Cui, A. Teng, J. Chu, and B. Cao, "A quantitative, high-throughput urease activity assay for comparison and rapid screening of ureolytic bacteria," *Environ. Res*., vol. 208, p. 112738, May. 2022. https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112738

[7] J. J. Emmatty, R. K. Rajeev, H. M. Davis, and A. P. Sasidharan, "Microbe induced calcium carbonate precipitation mediated brick manufacturing," *Int. J. Creat. Res. Thoughts*, vol. 11, no. 11, pp. 426-450, Nov. 2023. https://ijcrt.org/papers/IJCRT2311638.pdf

[8] J. Qiu, J. Artier, S. Cook, W. V. Srubar, J. C. Cameron, and M. H. Hubler, "Engineering living building materials for enhanced bacterial viability and mechanical properties," *iScience*, vol. 24, no. 2, p. 102083, Feb. 2021. https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102083

[9] M. Mahfuzul Islam, N. Hoque, M. Islam, and I. Ibney Gias, "An Experimental Study on the Strength and Crack Healing Performance of E. coli Bacteria-Induced Microbial Concrete," *Adv. Civ. Eng.*, vol. 2022, no. 3060230, pp. 1-13, Apr. 2022. https://doi.org/10.1155/2022/3060230

[10] E. Ortega-Villamagua, M. Arcos, M. Romero, C. Vasquez, and A. Palma-Cando, "Precipitación de carbonatos inducida microbiológicamente como potencial estrategia en la restauración de estructuras patrimoniales," *Ge-Conserv.*, vol. 21, no. 1, pp. 224-234, Jun. 2022. https://doi.org/10.37558/gec.v21i1.1119

[11] N. Ayu Diana, R. A. Aryani Soemitro, J. Jaya Ekaputri, T. Rendy Satrya, and D. Desa Warnana, "Biogrouting with microbial-induced carbonate precipitation (MICP) for improving the physical and mechanical properties of granular soils potential liquefaction," *MethodsX*, vol. 14, no. 1, p. 103246, Jun. 2025. https://doi.org/10.1016/j.mex.2025.103246

[12] Y. Wang *et al.*, "State-of-the-art review of soil erosion control by MICP and EICP techniques: Problems, applications, and prospects," *Sci. Total Environ*., vol. 905, p. 169016, Feb. 2023. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169016

[13] W. Hu, W.-C. Cheng, S. Wen, and K. Yuan, "Revealing the Enhancement and Degradation Mechanisms Affecting the Performance of Carbonate Precipitation in EICP Process," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 9, p. 750258, Nov. 2021. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.750258

[14] J. Li *et al.*, "Impact of soil density on biomineralization using EICP and MICP techniques for earthen sites consolidation," *J. Environ. Manage*., vol. 363, p. 121410, Jul. 2024. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121410

[15] S. Liu, Y. Sui, and B. Dong, "Reinforcement of reclaimed sand by stimulating native microorganisms for biomineralization," *Front. Bioeng. Biotechnol*., vol. 10, p. 1050694, Dec. 2022. https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1050694

[16] Y.-J. Wang, X.-L. Han, N.-J. Jiang, J. Wang, and J. Feng, "The effect of enrichment media on the stimulation of native ureolytic bacteria in calcareous sand," *Int. J. Environ. Sci. Technol*., vol. 17, no. 3, pp. 1795-1808, Mar. 2019. https://doi.org/10.1007/s13762-019-02541-x

[17] R. Murugan, G. K. Suraishkumar, A. Mukherjee, and N. K. Dhami, "Influence of native ureolytic microbial community on biocementation potential of *Sporosarcina pasteurii*," *Sci. Rep.*, vol. 11, no.1, p. 20856, Oct. 2021. https://doi.org/10.1038/s41598-021-00315-5

[18] C. Konstantinou, Y. Wang, G. Biscontin, and K. Soga, "The role of bacterial urease activity on the uniformity of carbonate precipitation profiles of bio-treated coarse sand specimens," *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 6161, Mar. 2021. https://doi.org/10.1038/s41598-021-85712-6

[19] X. Hu, X. Fu, P. Pan, L. Lin, and Y. Sun, "Incorporation of Mixing Microbial Induced Calcite Precipitation (MICP) with Pretreatment Procedure for Road Soil Subgrade Stabilization," *Materials*, vol. 15, no. 19, p. 6529, Sep. 2022. https://doi.org/10.3390/ma15196529

[20] Y. Zhang, X. Xu, S. Liu, Y. Wang, J. Du, and N. Jiang, "Bacterial activity and cementation pattern in biostimulated MICP-treated sand-bentonite mixtures," *J. Rock Mech. Geotech. Eng*., vol. 16, no. 12, pp. 5121-5134, Dec. 2024. https://doi.org/10.1016/j.jrmge.2024.07.005

[21] S. Paul, T. Sikder, and M. Mim, "Stabilization of expansive soil through MICP and jute fiber reinforcement: strength and shrink-swell analysis," *Bull. Eng. Geol. Environ*., vol. 84, no. 3, p.135, Feb. 2025. https://doi.org/10.1007/s10064-025-04159-5

[22] N. Erdmann, and D. Strieth, "Influencing factors on ureolytic microbiologically induced calcium carbonate precipitation for biocementation," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 39, vol. 2, p. 61, Dec. 2023. https://doi.org/10.1007/s11274-022-03499-8

[23] J. C. Viviescas, and M. I. Rendon, "Seasonal Rainfall Effects on Shear Strength and CBR in Volcanic Ash Soils," *Res. Sq.*, Sep. 2025. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-7511273/v1

[24] Y. Xiao *et al.*, "Compression behavior of MICP-treated sand with various gradations," *Acta Geotech.*, vol. 16, no. 5, pp. 1391-1400, May. 2021. https://doi.org/10.1007/s11440-020-01116-2

[25] D. Mujah, M. A. Shahin, and L. Cheng, "Microstructural and Geomechanical Study on Biocemented Sand for Optimization of MICP Process," *J. Mater. Civ. Engin.*, vol. 31, no. 4, p. 04019025, Jan. 2019. https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0002660

[26] Manual de Normas de Ensayo de Materiales para Carreteras, Sección 100: Suelos, Instituto Nacional de Vías (INVIAS), Bogotá, Colombia, 2012. [Online]. Available: https://caminoscomunitarios.invias.gov.co/docs/caja-herramientas/anexos-modulo-tecnico/normas-ensayo/normas_ensayo_100.pdf

[27] R. Turner, G. M. Castro, J. Minto, G. El Mountassir, and R. J. Lunn, "Treatment of fractured concrete via microbially induced carbonate precipitation: From micro-scale characteristics to macro-scale behaviour," *Constr. Build. Mater*., vol. 384, p. 131467, Jun. 2023. https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2023.131467

[28] M. P. Harkes, L. A. van Paassen, J. L. Booster, V. S. Whiffin, and M. C. M. van Loosdrecht, "Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement," *Ecol. Eng*., vol. 36, no. 2, pp. 112-117, Feb. 2010. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.01.004

[29] J. Peng, and Z. Liu, "Influence of temperature on microbially induced calcium carbonate precipitation for soil treatment," *PLoS One*, vol. 14, no. 6, p. e0218396, Jun. 2019. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218396

[30] J. M. Minto, E. MacLachlan, G. El Mountassir, and R. J. Lunn, "Rock fracture grouting with microbially induced carbonate precipitation," *Water Resour. Res*., vol. 52, no. 11, pp. 8827-8844, Nov. 2016. https://doi.org/10.1002/2016wr018884

[31] W. P. Gates, J. T. Kloprogge, J. Madejova, and F. Bergaya, *Infrared and Raman Spectroscopies of Clay Minerals*, Saint Louis, USA: Elsevier, 2017. URL

[32] E. Emmanuel, C. C. Lau, V. Anggraini, and P. Pasbakhsh, "Stabilization of a soft marine clay using halloysite nanotubes: A multi-scale approach," *Appl. Clay Sci.*, vol. 173, pp. 65-78, Jun. 2019. https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.03.014

[33] A. A. Firoozi, C. G. Olgun, A. A. Firoozi, and M. S. Baghini, "Fundamentals of soil stabilization," *Int. J. Geo-Engin.*, vol. 8, no. 1, p. 26, Dec. 2017. https://doi.org/10.1186/s40703-017-0064-9

[34] A. J. Margenot, F. J. Calderón, K. W. Goyne, F. N. D. Mukome, and S. J. Parikh, "IR Spectroscopy, Soil Analysis Applications," in *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 3rd ed., J. C. Lindon, G. E. Tranter, and D. W. Koppenaal, Eds., Saint Louis, USA: Academic Press, 2017, pp. 448-454. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12170-5

[35] M. Chen, S. Gowthaman, K. Nakashima, and S. Kawasaki, "Influence of humic acid on microbial induced carbonate precipitation for organic soil improvement," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 30, no. 6, pp. 15230-15240, Feb. 2023. https://doi.org/10.1007/s11356-022-23157-8

[36] Y. Tkachenko, and P. Niedzielski, "FTIR as a Method for Qualitative Assessment of Solid Samples in Geochemical Research: A Review," *Molecules*, vol. 27, no. 24, p. 8846, Dec. 2022. https://doi.org/10.3390/molecules27248846

[37] D. M. Moore, and R. C. Reynolds, *X-ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals*, 2nd ed. Oxford, U. K.: Oxford University Press, 1997. https://doi.org/10.1017/S0016756898501501

[38] D. Carroll, *Clay Minerals: A Guide to Their X-ray Identification*. Boulder, CO, USA: Geological Society of America, 1970. https://doi.org/10.1130/SPE126

[39] E. Alotaibi, M. G. Arab, and M. Omar, "A novel kinetic model for urea hydrolysis via enzyme-induced carbonate precipitation (EICP) process," *Chem. Eng. J. Adv.*, vol. 24, p. 100946, Nov. 2025. https://doi.org/10.1016/j.ceja.2025.100946

[40] Y. Mo, S. Yue, Q. Zhou, and X. Liu, "Improvement and Soil Consistency of Sand–Clay Mixtures Treated with Enzymatic-Induced Carbonate Precipitation," *Materials*, vol. 14, no. 18, p. 5140, Sep. 2021. https://doi.org/10.3390/ma14185140

[41] V. S. Whiffin, "Microbial $CaCO_3$ precipitation for the production of biocement," Doctoral Thesis, Murdoch University, Murdoch, Australia, 2004. https://researchportal.murdoch.edu.au/esploro/outputs/991005540291407891

[42] R. Roscoe, C. A. Vasconcellos, A. E. Furtini-Neto, G. A. A. Guedes, and L. A. Fernandes, "Urease activity and its relation to soil organic matter, microbial biomass nitrogen and urea-nitrogen assimilation by maize in a Brazilian Oxisol under no-tillage and tillage systems," *Biol. Fertil. Soils*, vol. 32, no. 1, pp. 52-59, Oct. 2000. https://doi.org/10.1007/s003740000213

[43] B. Mahanty, S. Kim, and C. G. Kim, "Assessment of a Biostimulated or Bioaugmented Calcification System with Bacillus pasteurii in a Simulated Soil Environment," *Microb. Ecol*., vol. 65, no. 3, pp. 679-688, Apr. 2013. https://doi.org/10.1007/s00248-012-0137-4

[44] S. Saneiyan, D. Ntarlagiannis, and F. Colwell, "Complex conductivity signatures of microbial induced calcite precipitation, field and laboratory scales," *Geophys. J. Int.*, vol. 224, no. 3, pp. 1811-1824, Mar. 2021. https://doi.org/10.1093/gji/ggaa510

[45] A. I. Omoregie, F.-K. Kan, H. F. Basri, M. O. E. Silini, and A. Rajasekar, "Enhanced MICP for Soil Improvement and Heavy Metal Remediation: Insights from Landfill Leachate-Derived Ureolytic Bacterial Consortium," *Microorganisms*, vol. 13, no. 1, p. 174, Jan. 2025. https://doi.org/10.3390/microorganisms13010174

[46] Y. J. Wang, X. L. Han, Y. Zhang, and N. J. Jiang, "A preliminary study on the enrichment of indigenous ureolytic and nitrifying bacteria in beach sand: implication for coastal erosion control," in *Proc. 9th Int. Conf. Environ. Geotechnics (9ICEG)*, Jun. 2023, pp. 39-45. https://doi.org/10.53243/ICEG2023-107

[47] K. Wen, Y. Li, F. Amini, and L. Li, "Impact of bacteria and urease concentration on precipitation kinetics and crystal morphology of calcium carbonate," *Acta Geotech.*, vol. 15, pp. 17-27, Jan. 2020. http://doi.org/10.1007/s11440-019-00899-3

[48] S. Stocks-Fischer, J. K. Galinat, and S. S. Bang, "Microbiological precipitation of $CaCO_3$," *Soil Biol. Biochem.*, vol. 31, no. 11, pp. 1563-1571, Oct. 1999. https://doi.org/10.1016/s0038-0717(99)00082-6

[49] G. D. Okwadha, and J. Li, "Optimum conditions for microbial carbonate precipitation," *Chemosphere*, vol. 81, no. 9, pp. 1143-1148, Nov. 2010. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.066

[50] H.-J. Chen, Y.-H. Huang, C.-C. Chen, J. P. Maity, and C.-Y. Chen, "Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) Using Pig Urine as an Alternative to Industrial Urea," *Waste Biomass Valor.*, vol. 10, pp. 2887-2895, Oct. 2019. https://doi.org/10.1007/s12649-018-0324-8

[51] S. Al-Thawadi, "High strength in-situ biocementation of soil by calcite precipitating locally isolated ureolytic bacteria," Doctoral Thesis, Murdoch University, Murdoch, Australia, 2008. https://researchportal.murdoch.edu.au/esploro/outputs/doctoral/High-strength-in-situ-biocementation-of-soil/991005544552507891

CONFLICTO DE INTERÉS

Todos los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Michel Bolaños: Diseño, desarrollo de la investigación y redacción.

Sebastián Guerrero: Diseño, desarrollo de la investigación y redacción.

Diego Sandoval: Conceptualización, supervisión, diseño de la investigación, redacción y revisión final del manuscrito.

Lucio Cruz: Conceptualización, supervisión, diseño de la investigación, redacción y revisión final del manuscrito.

Leidy Niño: Metodología, investigación, redacción y revisión.

Clara Giraldo: Metodología, investigación, redacción y revisión.

Gloria Castro: Metodología, investigación y revisión.

Todos los autores leyeron y están de acuerdo con la publicación de esta versión del manuscrito.