

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA CAR RERA DE BIOLOGÍA CIENCIAS AMBIENTALES

CUANTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA PRESENTE EN UN RELAVE MINERO

T E S I S Para obtener el título de: B I Ó L O G A

PRESENTAN:

Arias Muñoz Karen Contreras Vázquez Grisell Andrea

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Jorge Antonio Valdivia Anistro

ASESOR INTERNO:

Dra. Alberta Lourdes Castillo Granada



CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE 2022



Universidad Nacional Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Al apoyo otorgado para el desarrollo del presente trabajo de tesis realizado con el recurso otorgado al proyecto; Fortalecimiento del proceso de enseñanza-aprendizaje de la Química en la Carrera de Biología PE204517 del Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGPA), UNAM.

A la Dra. Lourdes Castillo Granada del Laboratorio de Espectroscopia de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, por las asesorías académicas, por la preparación de las muestras de suelo para su lectura por espectroscopia de infrarrojo y por la obtención e interpretación de los espectros.

Dedicatorias

Para mis padres Edit Muñoz Padilla y Oscar Arias Martínez, por apoyarme siempre en cada decisión, logro y fracaso, pero sobre todo por el amor que me han brindado.

A mi compañero en la vida, mi hermano Oscar Yael Arias Muñoz, por ser mi más grande inspiración y recordarme que siempre se puede.

Para mi abuela Blanca Muñoz González, por enseñarme el infinito amor a la vida, por abrirme paso a la biología.

A mi familia, amigos y colegas, por todo el apoyo y cariño.

A mis profesores por brindarme las herramientas necesarias para concluir mi formación académica.

Para mi amiga y colega, Andrea, por nunca rendirnos

Dedicatorias

A mis padres Lucía Vázquez Hernández y Andrés Contreras Martínez, por todo el esfuerzo y sacrificio que han hecho para que podamos cumplir nuestras metas, esto es para ustedes.

A Alejandra, Samantha, Sofía, Daniela y Samuel por ser mis compañeros de vida y de travesuras, si los tengo a ustedes lo tengo todo, los amo con todo mi ser.

A mis abuelos, en especial a mi abuelita Lucía, por ser la mejor abuelita que alguien pudiera tener, siempre te llevo conmigo.

A mis tíos y primos, gracias por todo el apoyo.

A ti Mauricio, por todo el amor y apoyo incondicional que me has dado, por siempre impulsarme a seguir. Que este solamente sea el principio.

A Karen esto es nuestro.

Índice	
Resumen	1
Introducción	2
Marco teórico	2
1. Definición y características de la materia orgánica (MO).	2
2. Sustancias Húmicas (SH).	3
2.1 Ácidos fúlvicos (AF).	3
2.2 Ácidos húmicos (AH).	4
2.3 Huminas	5
3. Proceso de formación de las SH.	6
4. Relaves mineros	7
4.1 Condiciones físicas desfavorables de los RM	7
4.2 Condiciones químicas desfavorables de los RM	7
4.3 Condiciones biológicas desfavorables de los RM	8
Antecedentes	8
Zona de estudio	10
Justificación	11
Hipótesis	12
Objetivos	12
Objetivo general	12
Objetivos particulares	12
Métodos	13
Muestreo	13
Trabajo de laboratorio	14
Propiedades físicas y químicas del suelo colectado en el relave "La Concha"	16
Propiedades físicas y químicas del suelo de la parte alta del relave "La Concha"	16
Propiedades físicas y químicas del suelo de la parte media del relave "La Concha".	17
Propiedades físicas y químicas del suelo de la parte baja del relave "La Concha".	17
Análisis de resultados	18
Color	18
Clase textural	19
Densidad aparente (DA)	20
рН	22

Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	23
Concentración de materia orgánica en los tecnosoles del relave la Concha	24
Análisis de correlación entre las propiedades de los tecnosoles del relave "La Concha"	27
Caracterización química de la materia orgánica presente en los tecnosoles del relave "L Concha"	л а 30
Evaluación del índice de humificación de la materia orgánica presente en los tecnosoles relave "La Concha"	del 45
Conclusión	47
Referencias	48
Anexos	62
Procedimientos de los métodos empleados para la caracterización química de las muestra suelo colectadas en el relave minero "La Concha"	s de 62
Anexo A. Color	62
Anexo B. Textura	62
Anexo C. Densidad Aparente	66
Anexo D. pH	66
Anexo E. Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	67
Anexo F. Materia orgánica (MO)	70
Anexo G. Extracción de ácidos húmicos y fúlvicos (AH y AF)	73
Anexo H. Purificación de ácidos fúlvicos (AF)	74
Anexo I. Índice de humificación	75
Anexo J. Caracterización de ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF)	76
Anexo K. Análisis estadístico	78

Resumen

La materia orgánica del suelo (MOS) es una mezcla heterogénea de residuos y su composición es definida por los tipos de materia orgánica que se deposita gradualmente y por la actividad microbiana. Existen diversos factores que influyen en la formación y en la concentración de la MOS, como el tipo de vegetación, el clima, la textura, entre otros. Los componentes de la MOS se encuentran en un proceso constante de transformación química, siendo las sustancias húmicas (SH) el resultado de dicha conversión. La cuantificación de la MOS y la formación de las SH son procesos ampliamente estudiados en suelos naturales; sin embargo, también es importante analizar ambos procesos en suelos derivados de la actividad antropogénica debido a que a minería es una actividad económica que genera un gran impacto adverso al medio ambiente, siendo los relaves mineros (RM) una evidencia de esto.

Los RM son los sitios de confinamiento de los desechos generados de la actividad minera cuando no tienen una adecuada gestión se caracterizan por tener una composición heterogénea con un nivel alto de toxicidad. Las condiciones físicas, químicas y biológicas desfavorables que presentan los RM dificultan su tratamiento y limitan el establecimiento de comunidades vegetales naturales. El sustrato de los RM es considerado un suelo de origen antropogénico, denominado *Tecnosol*. Los tecnosoles se caracterizan por carecer de estructuración y por tener una baja disponibilidad de nutrientes; por lo tanto, se considera que el contenido de materia orgánica es nulo.

En el municipio de Taxco, Guerrero, existen varios RM generados de la extracción de plata. Estos RM han sido analizados desde una perspectiva geoquímica y se ha resaltado su elevada concentración de metales pesados y la inexistencia de nutrientes esenciales para el desarrollo vegetal. Algunos de estos RM están colonizados por diversos organismos vegetales, un ejemplo es el relave "La Concha" en el cual se ha reportado la presencia de organismos tales como *Crupressus, Leucaena, Juniperus, Mimosa y Pityrogramma*. Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue cuantificar y describir la composición química de la MOS en el relave "La Concha" el cual contiene desechos mineros originados entre 1940 y 1970 y lleva más de 40 años siendo un pasivo ambiental.

El análisis de las propiedades físicas y químicas del relave demostró que su suelo carece de estructuración para la formación y retención de nutrientes; sin embargo, las zonas con vegetación que fueron analizadas mostraron evidencias de un cambio favorable para la formación y la transformación de la MOS. La concentración de la MOS fue heterogénea en todas las zonas analizadas; pero los picos más altos de concentración fueron cuantificados en las áreas con presencia de vegetación. A pesar de los factores limitantes que caracterizan al suelo del relave "La Concha", la composición química de la MOS y de las SH fue similar a suelos adyacentes sin impacto antropogénico. El análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) mostró un incremento en la concentración de algunos grupos funcionales hacía las zonas con mayor abundancia de vegetación. La composición química de los ácidos húmicos del relave "La Concha" presenta evidencias de un proceso de humificación de la MOS. Por lo tanto, se puede considerar que el aporte y la transformación del material orgánico de las plantas que colonizan al relave "La Concha" están cambiando las propiedades del suelo, haciéndolo favorable para el desarrollo de un proceso de sucesión ecológica.

Introducción

La minería en México es una actividad con más de cinco siglos de historia y su estudio se puede hacer desde diferentes perspectivas como; su importancia a nivel nacional, los empleos, ganancias que genera (Camimex en 2020 registró que el 2.3% del producto interno bruto nacional lo aporta la minería), su legado cultural y los conflictos que surgen en zonas mineras, entre ellas el daño ambiental (Santillán, 2019). Esta actividad ha tenido un impacto negativo en el medio ambiente, como la generación de sitios de confinamiento de desechos llamados relaves mineros (en México, mejor conocidos como jales mineros), productos de la extracción del mineral de interés para posteriormente ser colocados a cielo abierto sin recibir ningún tipo de tratamiento. La Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) publicó una lista preliminar donde hay 585 depósitos a nivel nacional (Contreras-López *et al.*, 2015; SEGOB, 2021).

Específicamente la Unidad Minera de Taxco (UMT) se ha caracterizado por su producción de plata (Ag), zinc (Zn) y plomo (Pb). Sin embargo, por décadas, esta industria ha generado una gran cantidad de desechos y se estima que alrededor del municipio de Taxco se encuentran cerca de 25 millones de toneladas de residuos, un claro ejemplo de esto es el relave "La Concha" con residuos originados de 1940 a 1970 (Talavera *et al.*, 2006) y que lleva más de 40 años siendo un pasivo ambiental.

Los relaves se caracterizan por su naturaleza toxica y factores adversos como bajo pH, alta salinidad y la deficiencia de nutrientes, lo que impide el establecimiento de plantas en dichos lugares (Melato *et al.*, 2016). A pesar de lo reportado en la literatura sobre las características de los relaves, en el caso específico del relave "La Concha" el cual por su origen podría ser considerado un sitio con bajo o nulo potencial para el desarrollo de vegetación, debido a su carente contenido de MO y de nutrientes, actualmente se encuentra colonizado por diversos organismos vegetales tales como *Crupressus, Leucaena, Juniperus, Mimosa y Pityrogramma* (Gómez-Bernal *et al.*, 2010) desarrollándose sobre sus desechos.

La revegetación de sitios contaminados con metales es beneficiosa para su restauración, ya que genera estabilidad a largo plazo en la superficie del suelo y previene la erosión del suelo (Melato *et al.*, 2016). La finalidad de este trabajo es que, a través de la

cuantificación y descripción de la composición química de la MO presente en el sitio, se aporte evidencia de un posible proceso de sucesión ecológica en el relave "La Concha"; generando información sobre el estado actual del relave, así como el proceso de transformación de los desechos y que sea el punto de referencia para el diseño de estrategias de biorremediación de relaves mineros.

Marco teórico

1. Definición y características de la materia orgánica (MO).

El suelo es una capa dinámica de material no consolidado que se encuentra en la superficie terrestre y está compuesto por sólidos, líquidos y gases. La parte sólida a su vez está formada por materia orgánica e inorgánica que se mezclan íntimamente por procesos naturales dando como resultado un cuerpo poroso. En los poros se acomoda aire y agua, por lo tanto, los cuatro componentes principales del suelo son: materia inorgánica o mineral, materia orgánica, agua y aire (Osman, 2013).

La materia orgánica (MO) es una mezcla heterogénea compuesta de residuos, secreciones o material celular Y su estado y composición va a depender principalmente de la actividad de microorganismos (Stevenson, 1982). La MO está formada por carbón (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N) y oxígeno (O), seguido en una menor proporción por azufre (S), hierro (Fe), fósforo (P), molibdeno (Mo) y otros (Porta *et al.*, 2003).

Son varios los factores que van a determinar las concentraciones de MO que pueda haber en un suelo, los principales son: vegetación, clima, pendiente, textura y tipo de arcillas, principalmente (Jaramillo, 2002).

La MO está formada por material no humificado y humificado. El material no humificado, también conocido como *sustancias no húmicas*, SON todos aquellos compuestos orgánicos A LOS que aún se les puede reconocer su origen (tales como carbohidratos, proteínas, lípidos, aminoácidos, ligninas y ácidos nucleicos) y que son fáciles de degradar y pueden ser aprovechadas por los microorganismos del suelo (Trujillo, 2016). Por otro lado, está el material humificado o *sustancias húmicas* (SH) son compuestos resultantes de la

degradación de los restos vegetales y animales a través de distintos procesos mediados por microorganismos y la fauna edáfica (Zapata, 2002).

2. Sustancias Húmicas (SH).

Las SH son mezclas complejas y heterogéneas de materiales polidispersos que se encuentran en suelos, cuerpos de agua y en el mar (IHSS, 2007). Su color va de amarillomarrón a negro, son sustancias con un peso molecular que va de 1000 a 500000 Daltons (Da) y constituyen más del 80% de la MO del suelo, por esto también son consideradas como los productos orgánicos de biosíntesis más distribuidos en la superficie de la tierra (Aiken *et al.*, 1985; Tan, 1998). Su origen es el resultado de diversos procesos bióticos y abióticos y de reacciones bioquímicas y químicas durante la descomposición y transformación de restos vegetales, animales y microbianos en un proceso llamado humificación (Nardi *et al.*, 2016; Duo, *et al.*, 2020). Existen varias hipótesis sobre la estructura de las SH, pero la más aceptada es que las SH están formadas por macromoléculas de conformación variable en dependencia de las condiciones de pH y fuerza iónica de la SH con los minerales del suelo, la capacidad de adsorción de iones, etc (Amador *et al.*, 2018).

Las SH se caracterizan por ser amorfas, de carácter ácido, resistentes al ataque microbiano y están formadas principalmente por C, H, N, O, P, S. Estás sustancias se clasifican de acuerdo con su solubilidad en función del pH y se pueden dividir en tres fracciones principales: ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) y huminas (Porta *et al.*, 2003). De los cuales, los más importantes son los ácidos fúlvicos y húmicos (Stevenson, 1994).

2.1 Ácidos fúlvicos (AF).

Los AF son sustancias relativamente pequeñas de bajo peso molecular (1000-50000 Da) con una coloración que va del amarillo claro al marrón oscuro, y son solubles en todos los valores de pH; y tienen un menor grado de aromaticidad que los AH (Figura 1) (Buffle, 1977). Estas sustancias contienen más oxígeno en distintos grupos funcionales oxigenados, como: carboxilos (—COOH), hidroxilos (—OH) y cetonas (>C=O), pero menos —C y —N saturado. Debido a su alto contenido de grupos carboxílicos su grado de acidez es de 103.0 mol Kg⁻¹ (Schulten & Schnitzer, 1993).



Figura 1. Estructura hipotética de ácidos fúlvicos propuesta (Buffle, 1977).

2.2 Ácidos húmicos (AH).

Los AH son la mayor fracción extraíble de las SH del suelo, son de alto peso molecular (5000 a 500000 Da) y de baja acidez (67 mol kg⁻¹). Presentan una coloración entre marrón oscuro y negro, no son solubles en soluciones con pH menor o igual a 2.0 (Trujillo, 2016). Los AH son compuestos de alto grado de polimerización, constituidos en su mayoría por anillos aromáticos unidos a largas cadenas alquílicas, aminoácidos, péptidos, ácidos alifáticos, entre otros orgánicos (Figura 2) (Schulten & Schnitzer, 1993).

Los principales grupos funcionales que componen los AH son los ácidos carboxílicos y los hidroxilos fenólicos, cuyo hidrógeno es susceptible a las reacciones de sustitución (Stevenson, 1982). De igual forma presenta grupos carboxilos (-COOH), hidroxilos (-OH) y metoxilo (-O-CH₃). Algunas diferencias que tiene con los AF es que contienen más anillos aromáticos, pero menos grupos carboxílicos (Schulten & Schnitzer, 1993).



Figura 2. Estructura química promedio de un ácido húmico (Schulten & Schnitzer, 1993).

2.3 Huminas

Las huminas son la parte de las SH que no son solubles a ningún pH, pueden constituir una mezcla de ácidos húmicos enlazados tan íntimamente que no pueden ser separados o bien puede ser material húmico altamente condensado interactuando con la parte inorgánica del suelo (Farías *et al.*, 2000). Se han hecho experimentos en donde el residuo de MO que queda después de la extracción ha sido tratado con ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido nítrico (HNO₃) o ácido fluorhídrico (HF), para romper los enlaces de las SH con los silicatos y así extraer más AH. Los ácidos extraídos de los residuos de las huminas son muy parecidos a los extraídos inicialmente en el suelo, por lo cual, se cree que las huminas son una fracción de los AH (Ruíz *et al.*, 1997).

3. Proceso de formación de las SH.

Si bien no se conoce mucho acerca del proceso de formación de las SH, estas se relacionan con el ciclo del carbono (C) y los cambios que ocurren una vez que los residuos vegetales y animales son descompuestos en el suelo por los microorganismos (Brady & Weil, 2008). Existen varias propuestas acerca de la formación de las SH, la teoría clásica escrita por Waksman es la que señala que las SH son producto de la modificación de la lignina, basado en que es una sustancia relativamente resistente a la degradación por la actividad microbiana y a que los AH tienen propiedades similares a las ligninas oxidadas (Stevenson & Butler, 1969). En esta propuesta se cree que las SH representan un sistema polimerizado cuyos productos iniciales son las huminas, las cuales, luego de una fragmentación y una oxidación, primero producen los AH y después los AF (Zapata, 2002). A través del tiempo esta teoría ha tenido cambios y, actualmente, la síntesis de las SH se puede dividir en:

- 1. Descomposición de todos los componentes de las plantas en monómeros simples.
- Polimerización de los monómeros en compuestos de alto peso molecular (Stevenson & Butler, 1969).

En 1997, Ruíz y colaboradores señalan que, el proceso inicia con la degradación de los restos vegetales, el cual está mediado por microorganismos. Posteriormente, se da la ruptura enzimática del anillo bencénico de la lignina a través de una serie de reacciones se producen los polifenoles, los cuales se oxidan a quinonas y tras un proceso de polimerización con otras unidades fenólicas, péptidos y aminoácidos forman las SH. De acuerdo con esta propuesta, los polifenoles derivados de la lignina junto con aquellas sustancias sintetizadas por los microorganismos son las unidades que hacen que las sustancias incrementen su complejidad y así formar las SH que deberían de seguir el siguiente orden: AF-AH-Huminas.

Generalmente, el análisis del proceso de formación de las SH se ha realizado en suelos y existen pocos trabajos que analicen la presencia y la composición de la MO en suelos de origen antropogénico, como en los tecnosoles derivados de la actividad minera, que son el principal componente de los relaves mineros.

4. Relaves mineros

Un relave minero (RM) es la mezcla de roca triturada con concentraciones altas de los fluidos del procesamiento de los minerales después de la extracción del mineral de interés (Kossof *et al.*, 2014).

Debido al procesamiento que se les da a estos desechos, estos se caracterizan por ser extremadamente pobres en nutrientes, por lo cual, no son aptos para el desarrollo de microorganismos y plantas (Singh *et al.*, 2004). Por lo general, estos residuos son colocados a "cielo abierto" sin ningún tratamiento, lo cual los hace propensos a la erosión y a posibles deslizamientos de materiales y desechos (Espinace *et al.*, 2006).

Las condiciones desfavorables que presentan estos sitios de confinamiento pueden ser físicas, químicas y biológicas.

4.1 Condiciones físicas desfavorables de los RM

Los RM están formados por partículas con un diámetro menor a 2.0 mm, esto puede causar la compactación de la superficie del suelo, lo cual puede ser una barrera importante para la formación y establecimiento de las raíces de las plantas (Bradshaw *et al.*, 1978). Al comienzo de la actividad minera, la estructura del suelo se destruye debido a la eliminación de las capas sucesivas, esto promueve su compactación y reduce la capacidad de retención de agua y aireación (Sheoran *et al.*, 2010). Un parámetro que se relaciona con las propiedades del suelo es la densidad aparente, que se define como la masa de suelo por unidad de volumen, lo cual describe la compactación del suelo, en una relación de sólido y el espacio poroso (Keller & Hakansson, 2010). Se considera que un suelo con una densidad mayor a 1.7 g/cm³ está severamente compactado y en sitios con desechos mineros se ha reportado una densidad aparente de hasta 1.9 g/cm³ (Maiti & Ghose, 2005).

4.2 Condiciones químicas desfavorables de los RM

Las propiedades químicas de los RM se pueden evaluar principalmente por el pH, ya que este va a depender de la naturaleza química de los residuos que le dieron origen (Sheoran *et al.*, 2010). Un ejemplo son los residuos producto de la extracción de la pirita (FeS₂), los

cuales pueden disminuir el pH hasta un nivel desfavorable (≤ 2.0) para la actividad y permanencia de microorganismos y plantas, y para la calidad del agua de la zona (Lindsay *et al.*, 2015). En el año 2005, Talavera y colaboradores reportaron en el relave "La Concha" en el municipio de Taxco (estado de Guerrero), tiene valores de pH menores de 2.9. Además, valores tan bajos de pH, afectan directamente la disponibilidad de los micronutrientes y aumentan la movilidad de los metales pesados presentes en estos sitios (Sheoran *et al.*, 2010).

4.3 Condiciones biológicas desfavorables de los RM

Los RM se caracterizan por ser un ambiente pobre y estresante para los microorganismos que comúnmente habitan el suelo. Entre ellos destacan el pH extremo, los bajos contenidos de MO y la disponibilidad de nutrientes (Talavera *et al.*, 2016).

Antecedentes

Los desechos generados de la actividad minera son conocidos como *escombreras*, *relaves* o *jales*, tienen una composición heterogénea, presentando agua, lodos, residuos y apilamientos de rocas molidas que contienen concentraciones altas de elementos potencialmente tóxicos (p. ej.: cadmio, plomo, zinc, entre otros), y todos estos desechos quedan expuestos y disponibles en el ambiente después de que los minerales de interés han sido extraídos y son abandonados sin ninguna clase de tratamiento, (Contreras-López *et al.*, 2015). Los suelos o tecnosoles que se forman en dichos relaves exteriorizan diversas condiciones, como: niveles pobres de macronutrientes, falta de MO y estructura, alto grado de compactación, mal drenaje, altas temperaturas, estrés hídrico, presencia de compuestos tóxicos y de sustancias altamente ácidas (Cuevas *et al.*, 2013). Sin embargo, existen trabajos que han descrito la presencia de MO en este tipo de sitios, lo cual, puede ser una evidencia de la transformación de los desechos a formas químicas menos tóxicas.

En 2006, Ramos y Siebe desarrollaron una estrategia para identificar relaves con riesgo ambiental potencial en el Distrito Minero de Guanajuato. Ubicaron cinco relaves representativos de procesos de cianuración y flotación que existen en la zona, y para cada relave compilaron información respecto al contenido de MO. Observando que la colonización de líquenes y plantas permite la acumulación de MO en la superficie y ayuda en la formación de agregados estables que evitan la erosión. Algunos relaves se encuentran completamente cubiertos por vegetación, como: huizaches, magueyes (*Agave* sp.), cactáceas, pirules (*Schinus mole*), pastos y jaras (*Baccharis glutinosa*), por lo que, el contenido de MO es alto en la superficie (5.1 %), sin embargo, a mayor profundidad el contenido de MO va disminuyendo.

En 2007, Ottenhof y colaboradores determinaron la composición de la materia orgánica del suelo (MOS) originada por especies pioneras en áreas seleccionadas de la Sierra de Cartagena, España, utilizando un analizador elemental total de carbono (C), nitrógeno (N) y azufre (S), pirolisis y espectroscopia ¹³C NMR en estado sólido. Los resultados obtenidos demostraron que los compuestos derivados de la descomposición de la lignina otorgan una baja calidad a la MOS (C:N>20); mientras que los polisacáridos y alquilos son los principales componentes de la MOS de alta calidad (C:N<20), por lo que *Silene ramosissima* y *Phragmites australiss* pueden proporcionar un contenido de MOS equivalente al de sitios naturales en un período de 30 años, aproximadamente.

En 2008, Ortiz-Calderón, Alcaide y Li, estudiaron el suelo de la "Planta Matta" que es una procesadora de cobre (Cu), ubicada en la Tercera Región de Chile. El contenido de MO fue determinado por el método *loss-on-ignition* (LOI) y compararon sitios con vegetación y sin vegetación, además de un sitio control. Para el sitio con vegetación se determinó un bajo contenido de MO (0.8 a 5.2%). No se mostraron diferencias significativas entre las muestras con vegetación y el control, en donde el porcentaje de MO va de 0.8 a 5.1% y de 1.3 a 5.9%, respectivamente.

En el 2016, Trujillo realizó un estudio en la región central de Perú orientado a la adaptación de plantas forestales y pastos para recuperar suelos de relaves mineros en la planta piloto metalúrgica de Yauris. Se realizaron tres tipos de tratamientos: a) relave solo, b) relave + 1 kg de cal + 0.850 kg de humus, c) relave + 2 kg de cal + 1.700 kg de humus, atendiendo las normas del Dirección General de Asuntos Ambientales (DGAA) y el Ministerio de Energía y Minas (MEM). Los relaves presentan un porcentaje de MO de 0.36%, por lo que se le da una valoración de *extremadamente pobre*. Con la aplicación del 5 y 10 % de humus, mejora el porcentaje de MO a 0.88 y a 1.09%, respectivamente.

En 2016, Wang y colaboradores utilizaron imágenes de espectroscopia de fluorescencia cercana al borde (XANES, por sus siglas en inglés) basada en la absorción de rayos X por sincrotrón para proporcionar información acerca del contenido y especiación del arsénico (As) en relaves con diferente contenido de magnetita (Fe₃O₄) y MO. En los relaves con una cantidad alta de magnetita, la arsenopirita (FeAsS) y el oropimente (As₂S₃) representaron el 88% de As total, el cual disminuyó al 48% con la adición de residuos de caña de azúcar (RCA) debido a un aumento en el As(V)-ferrihidrita del 12 al 52%. En los relaves con poca magnetita, el As(V)-ferrihidrita aumentó del 57 al 75% adicionando RCA.

Zona de estudio

En México, la minería se ha practicado desde la época prehispánica hasta nuestros días. La Unidad Minera de Taxco se ha caracterizado por su producción de plata (Ag), zinc (Zn) y plomo (Pb). Sin embargo, por décadas esta industria ha generado una gran cantidad de desechos, como es el relave "La Concha", el cual se localiza aproximadamente a 12 km al Suroeste de la ciudad de Taxco en el estado de Guerrero (Figura 3) y contiene desechos originados entre 1940 y 1970 (Talavera *et al.*, 2006). Dentro de los principales componentes ambientales que se ven impactados por esta actividad son el agua, el aire y el suelo (Espinace *et al.*, 2006).

El suelo característico de esta zona es *Chernozem* negro y pardo grisáceo, pardo rojizo y amarillo con características de arcillo arenoso, aptos para la agricultura por tener un alto grado de minerales y N (INAFED, 2010).



Figura 3. Localización del relave "La Concha" en el estado de Guerrero (Gómez-Bernal *et al.*, 2010).

Justificación

En México, la minería es de las actividades con mayor historia e importancia económica, ya que el aprovechamiento de los recursos minerales se lleva a cabo desde antes de la época de la conquista. En la actualidad, la minera aporta el 2.3% del producto interno bruto (PIB) nacional (CAMIMEX, 2020); sin embargo, esta actividad ha tenido un impacto negativo en el medio ambiente, como la generación de sitios de confinamiento de desechos llamados *relaves mineros* (en México, mejor conocidos como *jales mineros*), los cuales, son residuos producto de la extracción del mineral de interés que posteriormente son colocados a cielo abierto sin recibir ningún tipo de tratamiento, lo que los convierte en pasivos ambientales (Contreras-López *et al.*, 2015).

En el caso específico del municipio de Taxco de Alarcón, Talavera (2006) reporta que en las inmediaciones de dicha ciudad existen ~25 millones de toneladas de residuos sólidos producto de la actividad minera. Sumando a lo anterior, estudios posteriores han descrito los procesos geoquímicos que se llevan a cabo en la Unidad Minera de Taxco (UMT) específicamente en el jal "El Fraile" (Dótor-Almazán *et al.*, 2012; Talavera *et al.*, 2016), el cual, se caracteriza por su pobre contenido de MO y de nutrientes que limitan el correcto desarrollo de comunidades vegetales. No obstante, Gómez-Bernal *et al.*, (2010) realizaron un listado de diversos organismos vegetales en el relave "La Concha", que se encuentra en la misma UMT que "El Fraile".

Por lo que, la importancia de este trabajo es aportar evidencias de un posible proceso de sucesión ecológica después de más de 40 años de formarse el relave "La Concha" a través de la cuantificación y la descripción de la composición química de la MO presente en el sitio; con el fin de generar información sobre el proceso de transformación de los desechos y que sea el punto de referencia para el diseño de estrategias de biorremediación de relaves mineros. Sustentado a partir de datos experimentales que reportan la importancia de la MO y las SH para descontaminar suelos de agentes orgánicos y de metales pesados; tal es el caso del Qianjun y colaboradores (2019) quienes demostraron que las SH en conjunto con óxidos de hierro pueden disminuir las concentraciones de plomo (Pb) y cadmio (Cd) hasta un 50%.

Hipótesis

Si el relave "La Concha" se encuentra colonizado por diversos organismos vegetales derivado de un proceso de sucesión ecológica, entonces la materia orgánica presente experimenta en diferentes grados el proceso de humificación.

Objetivos

Objetivo general

Cuantificar y describir la composición química de la materia orgánica presente en el relave minero "La Concha", estado de Guerrero.

Objetivos particulares

- 1. Describir las propiedades físicas y químicas del suelo en el relave "La Concha".
- 2. Cuantificar el contenido de materia orgánica para conocer el aporte de residuos, secreciones o material celular de las plantas al suelo del relave "La Concha".
- Describir la composición química de la materia orgánica y de las sustancias húmicas a través de la espectroscopia de infrarrojo para identificar cualitativamente los grupos funcionales que los componen.
- Determinar el índice de humificación para conocer el grado de polimerización de las estructuras macromoleculares presentes en la materia orgánica cuantificada en el suelo del relave "La Concha".

Métodos

Muestreo

Se realizó un recorrido para definir las zonas de estudio. De acuerdo con su composición vegetal se definieron tres zonas: parte alta, media y baja del relave (Figura 4b). En cada zona se realizó un muestreo aleatorio simple en áreas de 30 cm x 30 cm con presencia de vegetación, en donde se colectaron 22 muestras del horizonte superficial (\leq 20 cm de profundidad) a una distancia mínima de 5.0 m y una distancia máxima de 10 m entre cada muestra, las cuales se colocaron en bolsas con cierre hermético previamente etiquetadas

La parte alta del relave se caracteriza por la presencia de un estrato vegetal arbóreo (Figura 5a y 5b), donde el género *Cupressus* es dominante. Se colectaron cinco muestras de suelo en total, cada una en un *Cupressus* diferente. La parte media del relave presenta estratos vegetales arbustivos y herbáceos (Figura 5c y 5d), donde se encuentran géneros como *Juniperus, Gibasis y Pityrogramma*; de donde se colectaron cuatro muestras de suelo. Finalmente, en la parte baja del relave: diferenciado por estratos vegetales arbóreos, arbustivos y herbáceos (Figura 5e, 5f y 5g), con presencia de géneros como *Leucaena, Juniperus, Mimosa y Pityrogramma*; colectando diez muestras de suelo. Las especies vegetales mencionadas fueron descritas por Gómez-Bernal *et al.*, 2010.

Los sitios denominados como control se seleccionaron en tres puntos sobre el río Cacalotenango (Figura 5h y 5i), que es una zona aledaña al relave, caracterizada por un estrato arbóreo (bosque de galería), en donde se colectaron tres muestras: la primera sobre el margen izquierdo del río, la segunda sobre el margen derecho del río y la última río arriba.



Figura 4. Relave "La Concha": vista frontal del relave (a) vista satelital de los sitios de muestreo (b) (Google,



Figura 5. Sitios de muestreo en el relave "La Concha": parte alta (a, b), parte media (c, d, j), parte baja (e, f, g). Sitios en el río Cacalotenango utilizados como controles (h, i).

Trabajo de laboratorio

Las 22 muestras de suelo tipo *tecnosol* se secaron a temperatura ambiente durante 48 horas y se tamizaron a través de una malla de 2.0 mm. La caracterización física y química de las muestras de sustrato del relave minero "La Concha" se realizó con diversos métodos descritos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 y con otros métodos de análisis reportados (Tabla 1; los procedimientos están descritos en los Anexos).

 Tabla 1. Parámetros y métodos empleados para la caracterización física y química de las muestras de suelo colectadas en el relave minero "La Concha".

Parámetro	Método
Color	Tabla Munsell
Textura	Hidrómetro de Bouyoucus
рН	Potenciométrico (activo)
Capacidad de intercambio catiónico	Versenato
Densidad aparente	Cilindro de volumen conocido
Materia orgánica	Walkley y Black
Extracción de AF y AH	Celi et al., 1997 modificado
Purificación de AF y AH	Kononova
Índice de humificación	Kononova-Belchikova 2002
Caracterización de AF y AH	Espectroscopia en el infrarrojo medio con Transformadas de Fourier (FTIR)

Resultados

Propiedades físicas y químicas del suelo colectado en el relave "La Concha"

Los resultados obtenidos de la caracterización física y química de las muestras de suelo en el relave "La Concha" se muestran en la Tabla 2.

 Tabla 2. Resultados obtenidos de la caracterización física y química del suelo (tecnosol) del relave minero

 "La Concha".

Sitio	Color	Textura*	DA (g cm ⁻³)	рН	CIC (cmol kg ⁻¹)	MO (%)
Alta	Pardo	Franco arenoso	1.56 (1.22-2.7)	7.82 (7.65-8.1)	13.71 (10.71- 16.02)	2.16 (1.44-3.97)
Media	Pardo amarillento claro	Arena	1.2 (1.10-1.43)	6.33 (2.74-8.29)	42.09 (11.25-108)	2.77 (1.10-3.64)
Baja	Pardo amarillento oscuro	Franco arcillo- arenoso	1.14 (0.84-1.30)	4.71 (2.96-7.33)	37.62 (8.6-80.82)	4.1 (0.93-12.02)
Control	Gris rojizo	Areno franco	0.82 (0.67-0.93)	7.47 (6.41-8.12)	49.32 (24.75-62.8)	10.81 (7.50-13.26)

DA = densidad aparente; CIC = capacidad de intercambio catiónico; MO = materia orgánica; * = clasificación USDA en el relave.

Propiedades físicas y químicas del suelo de la parte alta del relave "La Concha"

El suelo en la parte alta del relave se caracteriza por tener un color pardo (10YR4/3). El porcentaje de partículas obtenido que definen su textura fue: 78.91% arena, 18.19% limo y 2.9% arcilla; por lo cual, la clase textural del suelo se caracterizó como *franco arenoso*. Esta área del relave presentó la mayor densidad aparente, encontrando valores de hasta 2.7g cm⁻³. El pH del sitio tiene tendencia a ser medianamente alcalino, ya que oscila en un rango entre 7.65 y 8.1. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) va de 10.71 cmol kg⁻¹ hasta 16.02 cmol kg⁻¹, por lo que se considera un sitio con baja CIC. Por último, el contenido de materia orgánica (%MO) fue muy bajo (1.44-3.97%) (Ver Anexo F).

Propiedades físicas y químicas del suelo de la parte media del relave "La Concha".

La parte media del relave se caracteriza por tener un color pardo amarillento claro (10YR4/4). La clase textural del suelo es de tipo *arena*, debido a su porcentaje de partículas: 93.45% arena, 3.64% limo y 2.9% arcilla. La densidad aparente en este sitio va de 1.1 a 1.43 g cm⁻³, lo cual indica que no hay impedimento para el desarrollo de las raíces. El pH alcanza valores que van de fuertemente ácidos hasta medianamente alcalinos (2.74 a 8.29). Los valores de CIC se consideran de bajos a muy altos ya que oscilan entre 11.25 y 108 cmol kg⁻¹. Según el IH, este sitio tiene cierto grado de condensación en sus cadenas moleculares. Finalmente, la parte media del relave se caracteriza por tener un contenido muy bajo de materia orgánica (1.1-3.64%).

Propiedades físicas y químicas del suelo de la parte baja del relave "La Concha".

La parte baja del relave tiene un color pardo amarillento oscuro (10YR4/6). La clase textural, al igual que en la parte alta, se determinó como *franco arcillo-arenoso* por el porcentaje de partículas: 71.63% arena, 25.46% limo y 2.9% arcilla. La densidad aparente es similar a la parte media del relave, no impide el desarrollo de las raíces debido a que los valores van de 0.84 a 1.3 g cm⁻³. El pH se caracteriza por tener valores que van de fuertemente ácidos a neutros (2.96 a 7.33) (Ver Anexo D). La CIC del sitio oscila entre 8.6 y 80.82 cmol kg⁻¹, por lo que se consideran valores de bajos a altos. Esta parte del relave se considera la de menor grado de condensación en el IH, debido a sus características (pendiente, arrastre de material, etc.) y a su heterogeneidad. El contenido promedio de MO en este sitio es de 4.75% por lo que se considera bajo (NOM-021-RECNAT-2000); sin embargo, en esta área se encontraron los valores individuales más altos de este parámetro: 12.02, 7.53 y 6.26%.

Análisis de resultados

Color

Las muestras del relave "La Concha" se agruparon en cuatro categorías a través de su clasificación por color, los cuales son: pardo, pardo amarillento, pardo amarillento claro y pardo amarillento oscuro. El *color pardo* está presente en el 37% del total de las muestras y en su mayoría se encuentran en la parte superior del relave. La abundancia del color *pardo amarillento* fue de 26% y se presentó en las muestras de la parte baja del relave. En el caso de los colores *pardo amarillento claro* y *pardo amarillento oscuro*, están presentes en el 11% de las muestras de la parte media y en el 26% de las muestras en la parte baja del relave.

El color es una propiedad física del suelo que va a estar estrechamente relacionada con el contenido de MO (a mayor concentración de MO más oscuros serán los suelos), el clima, la pendiente y la composición mineral del suelo (Reyes-Jaramillo, 1996). Además, indica el contenido de óxidos y muchos otros constituyentes importantes del suelo, como el CaCO₃, que refleja las condiciones pasadas y actuales de los suelos (Mancini et al., 2020). Sin embargo, los relaves mineros se caracterizan por tener un bajo o nulo contenido de MO (Stefanowicz et al., 2012; Šimonovičová et al., 2019); una propiedad que también caracteriza a los relaves del distrito minero de Taxco (DMT) (Corrales-Pérez & Romero, 2013; Talavera-Mendoza et al. 2006, 2015). En este caso, los colores identificados en el relave "La Concha" están relacionados con el nivel de oxidación de los desechos que contiene. La composición mineralógica de este relave contiene: cuarzo, feldespatos, pirita, esfalerita, yeso y jarosita, principalmente (Talavera-Mendoza et al., 2005). Siendo los sulfuros, como la pirita, la fracción mineral más abundante en este relave. Los desechos generados después de la extracción del mineral de interés se caracterizan por tener una coloración que va de gris claro a oscuro (Lilić et al., 2014). El proceso de oxidación de los sulfuros es lento, y el cambio de color que van sufriendo es un reflejo de su grado de meteorización, cambiando el color de tonos grises a café rojizo a ocre (café) (Azzali et al., 2011).

Los relaves mineros del DMT tienen diferentes niveles de oxidación y se ve reflejado en su coloración: color gris oscuro en residuos sin oxidación, color gris verdoso en la zona de transición con la parte oxidada y, esta última, se caracteriza por tener un color pardo amarillento (Romero *et al.*, 2007). En 2019, Montero realizó la caracterización física y química de un área del relave "La Concha" con evidencia de un grado heterogéneo de oxidación que, de acuerdo con la clasificación de Munsell, las muestras se clasificaron como: gris, amarillo y pardo. Por lo tanto, los colores identificados en la presente caracterización del relave confirman que estos tecnosoles presentan un nivel alto de oxidación química.

Clase textural

Conocer el tamaño y la proporción de las partículas minerales que forman el suelo es importante ya que estas determinan propiedades físicas, como: la textura, la estructura y la porosidad del suelo (Reyes-Jaramillo, 1996). Sin embargo, los relaves mineros tienen un tipo de suelo con características diferentes a las que presenta un suelo natural, y estos son denominados como *tecnosoles*.

Los *tecnosoles* son un producto de la alteración y la transformación inducida por el hombre y tienen características diferentes de las que se encuentran en los suelos naturales (Echevarría & Morel, 2015). Los relaves son los sitios de depósito de los desechos generados durante las actividades mineras y presentan una composición heterogénea de material sólido (polvo, rocas, escoria y lodo) y líquido (aguas residuales y lixiviados), que pueden generar diversas emisiones gaseosas tóxicas (Qiu & Sego, 2001; Kossof *et al.*, 2014). Por su composición, los tecnosoles de los relaves mineros tienen una textura gruesa (Echevarría & Morel, 2015); lo cual, ha sido observado en relaves de México (Acosta *et al.*, 2009; Ramos-Arroyo & Siebe-Grabach, 2020). En el caso del relave "La Concha", en cada uno de los sitios se encontró que las partículas dominantes son las arenas (Tabla 3). Este tipo de textura es característica de los relaves del DMT, por lo que, tienen una estructura suelta y de poca estabilidad, con pocas reservas de nutrientes y con una movilidad alta de partículas tóxicas (Méndez-Ramírez & Armienta-Hernández, 2012; Ruiz-Huerta & Armienta-Hernández, 2012; Dótor-Almazán *et al.*, 2014).

Sitio	% Arena	% Limo	% Arcilla	Textura
Parte alta	78.91	18.19	2.9	Franco arenoso
Parte media	93.45	3.64	2.9	Arena
Parte baja	71.63	25.16	2.9	Franco arcillo- arenoso
Control	74.9	12.72	12.36	Areno franco

Tabla 3. Clase textural del suelo en el relave minero "La Concha".

Las arcillas y los limos son las fracciones de partículas finas y de tamaño intermedio que hacen que el suelo no se drene ni deseque fácilmente y, por consiguiente, tenga una buena reserva de nutrientes (Matus *et al.*, 2016; Matus, 2021). Las áreas del relave "La Concha" que fueron analizadas en el presente trabajo se caracterizaron por tener un contenido muy bajo de arcillas (2.9%), en comparación con el sitio control (12.36%). Mientras que el contenido de limos fue heterogéneo: la concentración más alta se encontró en la parte baja (25.46%), seguida por la parte alta (18.19%) y la media (25.46%).

En relaves de otras partes del mundo, se ha observado que la presencia de costras biológicas propicia el establecimiento de comunidades vegetales, y ambas modifican las propiedades físicas y químicas de los tecnosoles: disminuyen el número de partículas de tamaño grande, aumentan el número de partículas finas y la concentración de nutrientes (fertilidad) (Xu *et al.*, 2012; Nyenda *et al.*, 2019). Sin embargo, en China, en un relave de manganeso (Mn), se observó que el área sin vegetación tenía una textura arcillosa y, en las áreas con vegetación nativa que se había establecido, en la rizosfera había una textura franco-limosa o franco-arcillosa (Wang *et al.*, 2008). Con la excepción de la parte intermedia del relave "La Concha", en las texturas descritas en el presente estudio, se observa un aumento de partículas de tamaño intermedio (limos); lo cual, le estaría dando mayor estructura al suelo y, en consecuencia, aumentaría la disponibilidad de materia orgánica y de nutrientes. Sin embargo, es importante mencionar que los cambios de textura por la presencia de vegetación sólo ocurren en la parte superficial de los relaves (Xu *et al.*, 2012; Nyenda *et al.*, 2019).

Densidad aparente (DA)

La densidad aparente es una propiedad física que es importante en la caracterización del suelo y se define como *la masa de suelo por unidad de volumen* (g cm⁻³), y describe la relación entre el material sólido y el espacio poroso, y depende del contenido de MO del suelo (Keller & Hakansson, 2010). La DA es una característica que influye en la productividad del suelo, debido a su relación con el contenido y la tasa de difusión de nutrientes (Wolf & Snyder, 2003). Si la DA del suelo incrementa es por un aumento de su compactación y, en consecuencia, se afecta la retención de humedad y se limita el crecimiento de las raíces: si hay un aumento de la MO y del espacio poroso, la DA disminuye y viceversa (Salamanca & Sadeghian, 2006). Por lo tanto, en un suelo con textura fina la DA oscila de 1.0 a 1.2 g cm⁻³, y en suelos con textura gruesa la DA varía entre 1.2 y 1.6 g cm⁻³. "La Concha", es un relave cuya mayor proporción de partículas son las arenas; por lo que, presentó valores de DA heterogéneos y altos (media = 1.2 g cm^{-3} , Figura 6). Como era de esperarse, la parte alta del relave tuvo valores de DA elevados, siendo 2.73 g cm⁻³ el valor más alto cuantificado en el presente estudio. Al parecer, valores elevados de DA son característicos en relaves mineros. Por ejemplo, en relaves de bauxita se han cuantificado valores de DA de 2.78 g cm⁻³ (Yuhan *et al.*, 2019). Este valor tan alto de DA en el relave "La Concha" puede explicarse por la presencia de desechos sólidos de gran tamaño; lo que dificulta el desarrollo de los procesos edafológicos debido a la composición heterogénea de los relaves (Qiu & Sego, 2001; Kossof et al., 2014; Echevarria & Morel, 2015).

En las demás áreas del relave "La Concha" que fueron analizadas, se cuantificaron valores característicos de una textura gruesa (entre 1.2 y 1.6 g cm⁻³. Salamanca & Sadeghian, 2006). Sin embargo, se observó una tendencia de disminución de la DA de la parte alta del relave hacía la parte de abajo del mismo; alcanzando valores característicos de una textura fina (0.84 g cm⁻³). Este comportamiento podría explicarse por el aumento de la abundancia de organismos vegetales de la parte media hacia la parte baja del relave. Como se explicó anteriormente, en relaves mineros con presencia de comunidades vegetales se ha observado cambios en su textura a través del aumento de la cantidad de partículas finas (Xu *et al.*, 2012; Nyenda *et al.*, 2019); condición que mejora la velocidad de infiltración y retención de nutrientes (Kay & VandenBygaart, 2002). Por lo tanto, se esperaría observar un incremento

en la concentración de MO de la parte de arriba hacia la parte de abajo del relave "La Concha" apoyado por la disminución de la DA generado por la presencia de organismos vegetales.



Figura 6. Valores de densidad aparente cuantificados en el relave por sitio.

pН

El pH es una de las propiedades que más información proporciona sobre la calidad del suelo porque se relaciona con la disponibilidad de nutrientes y la presencia de elementos tóxicos (Thomas, 1996). Los valores de pH cuantificados en el relave "La Concha" fueron muy variables, alcanzando valores de *fuertemente ácidos* a *medianamente alcalinos* (Figura 7). La heterogeneidad en los valores de pH es una característica de los relaves del DMT (Corrales-Pérez & Romero, 2013; Talavera-Mendoza *et al.*, 2006, 2015). Sin embargo, no es una propiedad exclusiva de estos relaves, ya que en otros sitios mineros se ha observado la misma heterogeneidad (Crognale *et al.*, 2017; Šimonovičová *et al.*, 2019). La elevada proporción de sulfuros presentes en la composición mineralógica de los relaves del DMT los hace susceptibles a la generación de lixiviados extremadamente ácidos (pH <2.0) con

elevadas concentraciones de sulfatos y de metales pesados, proceso conocido como Drenaje Ácido de Mina (DAM; Talavera-Mendoza *et al.*, 2005, 2006, 2015). El DAM y las propiedades físicas de los tecnosoles de relaves mineros son los factores que limitan o impiden el establecimiento de una cobertura vegetal y, en consecuencia, la formación de MO (Gil-Loaiza *et al.*, 2016; Shi *et al.*, 2016).



Figura 7. Valores de pH cuantificados en el relave por sitio.

Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es la habilidad que tienen las partículas del suelo con carga negativa en atraer y retener a las partículas de carga positiva; este parámetro se relaciona con la textura y el contenido de materia orgánica del suelo, sin embargo, estos no son los únicos parámetros que influyen en ella (Huaynates, 2014). De acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, la CIC en el relave "La Concha" tiene una variación alta (Figura 8). Se puede observar que la CIC en la parte alta del relave es muy baja $(10.71 - 17.73 \text{ cmol kg}^{-1})$; condición que se puede relacionar con el bajo contenido de arcillas en el sitio y, en consecuencia, de MO (Tabla 3). En la parte media del relave, contrario a lo

que se describe en su contenido de MO y de arcillas, fue el sitio donde se encontraron los valores de CIC más elevados del relave (11.25 - 108 cmol kg⁻¹); lo que se puede atribuir a que esta zona tiene diferentes niveles de oxidación, que se ven reflejados en los distintos colores del suelo. Para la parte baja del relave la CIC abarca valores que van desde muy bajos (8.6 cmol kg⁻¹) hasta valores muy altos (80.82 cmol kg⁻¹). Sin embargo, los sitios



denominados como *control* están parcialmente libres de la influencia de los desechos presentes en el relave, no presentaron los valores más elevados de CIC (24.75 - 62.8 cmol kg⁻¹); a pesar de ser los sitios con el mayor contenido de MO y de arcillas (Tabla 3).

Figura 8. Valores de CIC cuantificados en el relave por sitio.

Concentración de materia orgánica en los tecnosoles del relave "La Concha"

La materia orgánica del suelo (MOS) es la fracción que contiene las formas orgánicas de carbono, nitrógeno y fósforo, y diversos elementos traza; en la cual, se encuentran

excluidos los residuos animales y vegetales que no se encuentran en descomposición (p. ejem. las raíces vivas, los rizomas y organismos subterráneos) (Soil Science Society of America, 2008). La MOS se origina a partir del material vegetal senescente autóctono o alóctono que es retenido en un ecosistema, y que ha sido al menos parcialmente degradado por la comunidad detritívora (o descomponedores). Los organismos descomponedores mineralizan el carbono orgánico como fuente de energía metabólica y, en consecuencia, producen los nutrientes necesarios para el crecimiento de otros microorganismos y de plantas (Keller & Medvedeff, 2016). Sin embargo, diferenciar la MOS de los residuos sin descomposición es complicado; por lo que, se ha mencionado que ambos están estructurados de forma continua (Lehmann & Kleber, 2015). El análisis de la MO describe la calidad del suelo porque influye en el proceso de reciclaje de nutrientes, en la capacidad de intercambio catiónico y en retención de agua (Sollins *et al.*, 2006).

Los tecnosoles de origen minero se caracterizan por tener un bajo o nulo contenido de MO (Cuevas *et al.*, 2013; Echevarría & Morel, 2015). A pesar de que diversos trabajos de investigación mencionan que la escasez de MO es una condición que caracteriza a los relaves mineros de Taxco, como "La Concha" (Corrales-Pérez & Romero, 2013; Talavera-Mendoza *et al.*, 2006, 2015); ninguno de ellos lo había confirmado experimentalmente. No fue hasta que Montero (2019) cuantificó la concentración de MO en el relave minero "La Concha", encontrado valores *muy bajos* de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000 (<4.0% MO). En el presente estudio, se cuantificaron concentraciones de MO que van de *bajas* (0.93% MO) a *altas* (12.02% MO); mientras que, en los sitios control, se cuantificaron concentraciones que van de *medias* a *altas* (7.5-13.26% MO) (NOM-021-RECNAT-2000).

Las concentraciones de MO en la parte alta y media del relave "La Concha" fueron muy bajas (de 1.43 a 3.97 % y de 1.1 a 3.64%, respectivamente) (Figura 9); observándose una ligera tendencia de disminución de la concentración de este parámetro que podría explicarse por las pendientes pronunciadas que favorecerían el arrastre y la caída del material biológico. Por otro lado, en la parte baja del relave, las concentraciones de MO fueron muy variables, oscilando de *altas* (12.02% MO) a *muy bajas* (0.93% MO), esto se puede relacionar con la heterogeneidad del sitio (Ver figura 5 e, f y g). Las muestras con mayor concentración de MO se encontraban cerca del bosque de galería adyacente al río Cacalotenango; los cuales,

aportan cantidades significativas de material vegetal. Mientras que las concentraciones más bajas se encontraban en los sitios sin ningún tipo de vegetación.

Las bajas concentraciones de MO cuantificadas en la parte alta y media del relave "La Concha" pueden explicarse por su tipo de textura y, en consecuencia, por su DA. La textura de este relave está dominada por arenas que generan valores altos de DA (Ver figura 6); siendo la parte alta del relave la que tuvo los valores más elevados de DA (2.73 g cm⁻³). Sin embargo, se observó una disminución de la DA de la parte media a la parte baja del relave alcanzando valores característicos de una textura fina (0.84 g cm⁻³); lo cual, podría explicarse por el aumento de la cobertura vegetal. Los organismos vegetales han aumentado el número de partículas finas en otros relaves mineros y el incremento de la concentración de nutrientes (Kay & VandenBygaart, 2002; Xu *et al.*, 2012; Nyenda *et al.*, 2019). Por lo tanto, la presencia de una comunidad vegetal en el relave "La Concha" podría estar modificando las propiedades físicas del suelo que lo conforma y, en consecuencia, estaría generando cambios en su composición química a través de procesos en los que podrían estar involucrados diversos microorganismos (bacterias y hongos) para la transformación de la materia en descomposición.



Figura 9. Valores de MO cuantificados en el relave por sitio.

Análisis de correlación entre las propiedades de los tecnosoles del relave "La Concha"

Se realizó un análisis de correlación lineal entre los parámetros utilizados para describir las propiedades de los desechos del relave "La Concha" (pH, MO, CIC y DA) utilizando el programa Rstudio 3.6.3 (Mohd *et al.*, 2011; Cabrera *et al.*, 2017). La matriz de correlación de los parámetros analizados por pares mostró dos correlaciones positivas y cuatro correlaciones negativas (Figura 10). En la parte superior se pueden observar los coeficientes de correlación; en la diagonal principal se muestra el comportamiento de las variables; y en la parte inferior se encuentran los gráficos de dispersión.



Figura 10. Matriz de correlación pareada entre los parámetros analizados en los tecnosoles del relave "La Concha". MO = materia orgánica (%), CIC = capacidad de intercambio catiónico (cmol kg⁻¹ suelo), DA = densidad aparente (g cm⁻³).

La correlación entre los parámetros puede ser positiva o negativa, y los valores cercanos a cero son variables que denotan una baja o nula correlación, por ejemplo: pH *Vs* MO (0.01) y pH *Vs* DA (-0.03) (Figura 11). Hay parámetros que tienen una correlación moderada, de los cuales, una es positiva (MO *Vs* CIC, 0.35) y dos son negativas (pH *Vs* CIC y CIC *Vs* DA; ambas con -0.47). Por otro lado, los parámetros con la mayor correlación fueron MO *Vs* DA; sin embargo, está fue negativa (-0.76).


Figura 11. *Heatmap* de la matriz de correlación pareada entre los parámetros analizados en los tecnosoles del relave "La Concha". MO = materia orgánica, CIC = capacidad de intercambio catiónico, DA = densidad aparente.

De los parámetros analizados, podemos considerar al pH como el más importante porque tiene una fuerte influencia sobre la mayoría de las propiedades y las funciones del suelo. El pH del suelo es determinado por la presencia de iones disueltos formadores de ácidos (como: hidrógeno (H⁺), aluminio (Al³⁺) y hierro (Fe²⁺ o Fe³⁺)) y de bases (como: calcio (Ca²⁺), magnesio (Mg²⁺), potasio (K⁺) y sodio (Na⁺)) (Thomas, 1996). La acidez o basicidad del suelo depende de la interacción de estos cationes con aniones, del tipo de material parental y de la cantidad de precipitación pluvial. Por lo que, las condiciones de acidez se presentan en suelos ubicados en regiones de alta precipitación, con material parental rico en silicatos (p. ej. riolita y granito) y con niveles altos de arenas que otorgan una baja capacidad buffer; mientras que, condiciones de basicidad edáfica, se presentan en suelos con presencia de bicarbonatos y carbonatos en regiones con baja precipitación (Gruba & Socha, 2016). Mineralógicamente, Taxco tiene una composición heterogénea, que incluye diversos metales de importancia económica (cobre (Cu), hierro (Fe), plata (Ag), plomo (Pb) y zinc (Zn)) y diversos minerales sulfurados (pirita (FeS₂), esfalerita (ZnS), gelena (PbS), calcopirita (CuFeS₂), entre otros); el material mineral sin importancia económica (ganga) contiene cuarzo (SiO₂), calcita (CaCO₃), magnetita (Fe₃O₄), barita (BaSO₄), hematita (Fe₃O₄) y rodocrosita (MnCO₃) (Armienta *et al.*, 2003). Aunque los silicatos no son un componente mineral muy abundante, hay reportes de que estos representan una fase reactiva en los relaves de Taxco (Talavera-Mendoza *et al.*, 2016); sin embargo, la oxidación de los sulfuros propicia procesos de disolución de fases (a través de la formación del DAM), de neutralización (por la presencia de CaCO₃), de precipitación (formación de fases secundarias) y de absorción (Talavera-Mendoza *et al.*, 2005; Romero *et al.*, 2007); que, en conjunto, propician la movilidad y la disponibilidad de metales pesados a través de lixiviados (Talavera-Mendoza *et al.*, 2006). Esta heterogeneidad mineral también está presente en el relave "La Concha" que, asociado a la dinámica química de todo el distrito minero de Taxco, propician una gran variabilidad en su pH: de muy ácidos (1.5) a ligeramente básicos (8.5) (Talavera-Mendoza *et al.*, 2005); condición que fue confirmada en el presente estudio (ver Tabla 2). Por lo tanto, el pH del relave "La Concha" depende de la dinámica ambiental y su variabilidad es una consecuencia del impacto de la actividad minera y del nulo tratamiento otorgado a los desechos generados.

Por otro lado, el pH influye en la abundancia y la disponibilidad de los nutrientes esenciales, en la tasa de descomposición y en las propiedades de la materia orgánica del suelo (MOS) (Nelson & Sommers, 1996; Tonon et al., 2010). La MOS cumple varias funciones, entre las que destacan la agregación del suelo y el almacenamiento de nutrientes (Craswell & Lefroy, 2001). Los nutrientes son retenidos en el suelo a través de una red de cargas que se denominan intercambiables, y la MOS incrementa la disponibilidad de dichos nutrientes al aumentar la capacidad de intercambio catiónico (CIC). La CIC puede definirse como el total de cargas negativas que están presentes en el suelo, siendo considerada como una medida de la habilidad del suelo para retener y suministrar nutrientes (p. ej. a una planta) (Sumner & Miller, 1996). Esta red de cargas negativas que definen a la CIC es dependiente de la textura del suelo: una textura gruesa presenta una menor CIC (p. ej. arenas claras: 3-5 cmol kg⁻¹ suelo), mientras que una textura fina presenta una mayor CIC (p. ej. arcillas: 20-50 cmol kg⁻¹ suelo) (Jones & Olson-Rutz, 2016). Las arcillas son un componente del suelo que incrementa la superficie de contacto y, por su composición química, están cargadas negativamente (Müller & Höper, 2004); por lo que, a mayor cantidad de arcillas hay una mayor CIC y, en consecuencia, una óptima disponibilidad de nutrientes (Kweon et al., 2013). Sin embargo, en suelos con pH ácido (con un alto contenido de iones H⁺) hay una disminución de la CIC porque ya no están libres las cargas negativas de las arcillas y de la MOS; por lo tanto, los nutrientes no pueden ser retenidos y tienden perderse durante la erosión o por lixiviación (Parfitt *et al.*, 1995; Caravaca *et al.*, 1999). Por lo tanto, la CIC cuantificada en los desechos del relave "La Concha" confirma la baja concentración de arcillas estimadas en el análisis de textura (ver Tabla 2) y, en consecuencia, ratifican el bajo contenido de materia orgánica; estás condiciones están siendo dirigidas por la tendencia de acidificación por la acción del intemperismo químico al que están expuestos estos tecnosoles.

Caracterización química de la materia orgánica presente en los tecnosoles del relave "La Concha"

La materia orgánica del suelo (MOS) se considera como la suma de los residuos de animales y de plantas en diferentes estados de descomposición y, en ésta, también se contemplan a las células, los tejidos y las sustancias excretadas por la biota del suelo (Soil Science Society of America, 2008). La degradación de estas sustancias depende de la actividad metabólica de los microorganismos del suelo a través de la excreción de diversas enzimas y de la acción de varias reacciones químicas secundarias (Jokic *et al.*, 2004; Grandy & Neff, 2008). El avance tecnológico del área analítica ha permitido el desarrollo de métodos que han permitido el estudio y la caracterización química de la MOS, siendo la *espectroscopia de infrarrojo con transformadas de Fourier* (FTIR, por sus siglas en inglés) una de las más utilizadas (Ellerbrock *et al.*, 1999; Smidt *et al.*, 2002; Bernier *et al.*, 2013; Tinti *et al.*, 2015). La espectroscopia de infrarrojo (IR) es un método rápido, no destructivo y, sobre todo, amigable con el medio ambiente que permite la identificación de los componentes orgánicos e inorgánicos de la MOS (Tinti *et al.*, 2015; Parolo *et al.*, 2017).

El análisis de la MOS a través de la espectroscopia FTIR se puede realizar de forma directa en las muestras de suelo (*bulk soil*); evitando el uso de sustancias para su extracción o de pre tratamientos que induzcan cambios conformacionales en la naturaleza de la MOS (Parolo *et al.*, 2017). Debido a que la naturaleza de la MOS varía entre los diferentes tipos de suelo, se deben considerar diversas variables para su estudio, como: origen, ubicación geográfica, edad, condiciones ambientales, uso a nivel económico, entre otras (Capriel *et al.*, 1995; Ramírez *et al.*, 2020; Šimon & Madaras, 2020). La aplicación de la espectroscopia FTIR ha ayudado a la identificación de cambios en la composición de la MOS a través del

aumento en la absorbancia de algunas señales, como ocurre con la relación positiva que se genera entre el carbono orgánico del suelo y el incremento de la señal del C—H alifático (Margenot *et al.*, 2015). Estos cambios en la intensidad de algunas señales en un espectro han permitido la definición de ciertas regiones en el espectro IR medio que son útiles para la identificación de los cambios en la composición de los grupos funcionales presentes en la MOS (Ellerbrock & Gerke, 2004; Bernier *et al.*, 2013; Parolo *et al.*, 2017):

- La región A se incluye de 3020 a 3000 cm⁻¹, las señales en esta región se deben a la presencia de enlaces C-H presentes en compuestos aromáticos y compuestos con dobles enlaces (alquenos, polienos y metilenos). De 3000 a 2800 cm⁻¹, se presentan las vibraciones simétrica y asimétrica de los enlaces C—H alifático (cadenas de hidrocarburo con CH₃, CH₂ y CH).
- La región B de 1740 a 1500 cm⁻¹, es una combinación de varias áreas de 1740 a 1698 cm⁻¹ y 1640 a 1500 cm⁻¹, que describen la parte hidrofílica de MOS debido a la conjugación de dobles enlaces aromáticos conjugados con >C=O y con nitrógeno, de 1640 a 1500 cm⁻¹ para la presencia de grupos hidrófobos como los dobles enlaces de alquenos. Por lo tanto, esta banda es utilizada para evaluar la abundancia relativa de los componentes hidrofílicos de la MOS al ser comparada con la fracción que contienen los grupos C—H alifáticos que se consideran hidrófobos.
- La región C (800-795 o 820-730 cm⁻¹) es una señal utilizada para evaluar la presencia las señales complementarias para identificar la presencia de anillos aromáticos principalmente bencenos sustituidos, así como la presencia de cuarzo, siendo esta una fracción mineral abundante del suelo al estar presentes en las arenas y tiene una señal distintiva que no afecta o interfiere con otras señales de los componentes de la MOS.

Además, también es importante considerar la región que va de 3500 a 3000 cm⁻¹ en la cual se pueden observar las señales generadas por el grupo —OH presente en los ácidos carboxílicos, fenoles, alcoholes y carbohidratos (Tinti *et al.*, 2015).

Para determinar la composición química de la MO presente en los tecnosoles del relave "La Concha", se realizó un análisis de los espectros FTIR de cada muestra del suelo

de las tres zonas representativas (alta, media y baja) y se utilizó como sitio de referencia una muestra de suelo adyacente al río Cacalotenango; el cual, se encuentra próximo al relave y, aparentemente, se encuentra libre de la influencia de los desechos mineros (Figura 12). La asignación de las señales de la composición química del suelo del relave y del suelo del río Cacalotenango se basó en lo reportado en varios artículos de investigación (Tabla 4).

Tabla 4. Posición de las señales en los espectros de FTIR obtenidos del análisis del suelo en las treszonas del relave "La Concha" y sus asignaciones sugeridas.

		Asignosión	
Obtenidas	Literatura	Asignation	
3698.20-3622.82	3698-3622	Alargamiento de enlaces O—H (caolinita) ^{a, b}	
3392.62-3390.25	3600-3400	Alargamiento de enlaces O—H relacionados con agua, carboxilos e hidroxilos ^{a,b}	
3018.8-2852.5	3020-2800 (región A)	Alargamiento simétrico y asimétrico de enlaces C—H asociados a CH ₃ y CH ₂ ^{a.c}	
2007.59, 1887.6- 1868.69, 1799.02- 1798.84	2000, 1880, 1790	Sobretonos de cuarzo y silicato ^{b, c, d}	
1636.70-1613	1650-1580 (región B)	Enlace N—H de aminas primarias ^{a, b, c, d}	
1400.96-1399.25	1420-1330	Vibraciones simétricas de COO ^{a, b, f, g}	
1197.68	1300-1000	Deformación de enlaces C—H de anillos aromáticos. Vibraciones C—O en alcoholes, éteres, fenoles, carboxilos, ácidos, esteres, polisacáridos. Alargamiento de enlace C—N en aminas aromáticas y alifáticas ^{c, e, f, g}	
1089.17-1008.60	1100-1000	Vibraciones asociadas a fosfatos PO ₂ ^{3- c, g}	
1036.5	1035	Alargamiento de enlace de Si—O (caolinita) ^b	
913.64-912.83	915	Vibraciones características de la ilita ^{a,b}	
908.5-694.49	900-675	Deformación de enlaces C—H fuera del plano en anillos aromáticos ^{a, b, c}	
797.17-778.18	800-795/780-775 (región C)	Alargamiento de enlace del cuarzo (Si—O) ^{a, b}	
712.45-712.43	715-712	Vibraciones de calcita (CO ₃ ²⁻) ^{a, b, g}	
478.16	470-420	Caolinita, ilita, esmectita ^{b, e}	

Ubicación de las señales (cm⁻¹)

a) Parolo et al., 2017; b) Tinti et al., 2015; c) Baddi et al., 2004; d) Smidt et al., 2002; e) Gerzaberk et al., 2006; f) Ellerbrock et al., 1999; g) Bernier et al., 2013



Figura 12. Espectros FTIR obtenidos del análisis del suelo en las tres zonas del relave "La Concha" y del suelo en el sitio de referencia del río Cacalotenango. a = parte alta del relave, b = parte media del relave, c = parte baja del relave y, d = suelo de referencia. Región *A* (3020-2800 cm⁻¹) en color amarillo, región *B*

(1740-1600 cm⁻¹) en color azul y, región C (800-795 cm⁻¹) en color morado. En color café y verde se muestran las señales relacionadas con la presencia de nitratos (NO₃⁻) y de fosfatos (PO₄³⁻), respectivamente.

Las principales señales identificadas en los espectros de IR medio de *suelo* del relave "La Concha" y del suelo de referencia fueron las siguientes:

- Señales que corresponden a vibraciones de estiramiento de grupos —OH (3698.22-3622.82 cm⁻¹) en Si—O—H generadas por la estructura mineral de arcillas (como caolinita y gibbsita) y/o por la presencia de óxidos de hierro (Smidt *et al.*, 2002); además, esta señal se puede atribuir a la vibración de estiramiento de grupos OH relacionados con el efecto de hidratación generada por el agua y por la presencia de grupos oxigenados de la MOS carboxilos (COOH⁻⁻) o hidroxilos (R—OH)); los cuales, generan una señal ancha en la región que va de 3600 a 3400 cm⁻¹ (las señales obtenidas en el presente estudio están entre 3392.5 y 3367.6 cm⁻¹, aproximadamente).
- Las señales ubicadas entre 3018.8 y 2852.5 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones generadas por los estiramientos simétricos y asimétricos de enlaces C—H alifáticos enlazados (—CH₂ y —CH₃) que representan la fracción no-polar de la MOS (región A; 3018.8-2852.5 cm⁻¹).
- 3. Las señales de absorción ubicadas entre los 1650-1580 cm⁻¹ están asignadas a los grupos funcionales relativamente polares que contienen átomos de nitrógeno y de oxígeno que definen la abundancia relativa de los componentes hidrofílicos de la MO (región B), tales como C=C aromáticos, H—enlazado a C=O y, de deformación de amidas primarias y secundarias (—NH y —NH₂); en el presente estudio, sólo se obtuvieron señales probablemente relacionadas con la deformación de amidas primarias (1636.7 a 1613.8 cm⁻¹).
- 4. Existen dos áreas que se pueden relacionar con la presencia de fertilizantes: 1384 a 1350 cm⁻¹ para nitratos (NO₃⁻) y 1100 a 1000 cm⁻¹ para fosfatos (PO₄³⁻); aunque sabemos que los desechos mineros carecen de la presencia de nutrientes, es probable que la presencia de estas formas químicas es una consecuencia de la fijación de nitrógeno y su

transformación por la acción de bacterias que participan en el ciclo biogeoquímico de este elemento, las cuales han sido aisladas del suelo del relave que presenta vegetación (Sánchez-López, 2020; servicio social), y por la solubilización de fracciones minerales generada por la formación del DAM (Montero-Sánchez, 2019), respectivamente.

- 5. La señal de alargamiento del enlace de cuarzo (región C) estuvo presente en todos los espectros de IR analizados (797.17 a 778.18 cm⁻¹); este resultado era de esperarse debido a la alta concentración de arenas que fue cuantificado en el análisis de textura.
- 6. Finalmente, se identificaron diversas señales complementarias a las mencionadas anteriormente, como: las vibraciones simétricas del —COO⁻⁻ (1400.96-1399.25 cm⁻¹); las señales ubicadas en ~1197.68 cm⁻¹ que se relacionan con vibraciones en enlaces C—O de alcoholes, éteres, fenoles, polisacáridos, o con el alargamiento de enlaces C—N en aminas aromáticas y alifáticas y, señales relacionadas con la flexión fuera del plano del enlace C—O en anillos aromáticos (908.5-694.49 cm⁻¹). Así como diversas señales relacionadas con el componente mineral de las muestras: la señal 1036.5 cm⁻¹ que corresponde al alargamiento del enlace Si—O en caolinita; la señal ubicada entre 913.64 y 912.83 cm⁻¹ que representa una vibración característica de la *illita* y que solamente aparece en una etapa avanzada de mineralización; la señal de vibración de calcita (~712.45 cm⁻¹) y, señales cercanas a 520 y 470 cm⁻¹ que corresponden a enlaces Si—O—Al y Si—O—Si, respectivamente.

La definición y la intensidad relativa de las señales fue más evidente en la muestra de suelo del sitio de referencia, lo cual puede atribuirse a un mayor tiempo de humificación de la MO (ver Figura 12d). Sin embargo, se observó un incremento gradual en la intensidad relativa de las señales del suelo de la parte alta hacia la parte baja del relave (ver Figura 12a-c); lo cual, puede explicarse por el aumento de la cobertura vegetal que genera los aportes del material primario que da origen a la MOS (ver Figura 9). La intensidad relativa de las señales es una consecuencia de la polaridad de los enlaces; por lo que, el análisis cualitativo realizado en el presente estudio solo refleja los cambios de la absorción de la energía realizada por los grupos funcionales en la mezcla de compuestos químicos presentes en el relave "La Concha" (Günzler y Böck, 1990; Tinti *et al.*, 2015; Parolo *et al.*, 2017). La

intensidad relativa de las señales en un espectro de IR se clasifica como: *fuerte* (%T = 5-30), *media* (%T = 30-70) y *débil* (70-95) (Castillo-Granada *et al.*, 2017).

Al analizar el área de distribución de la región A y B, respectivamente, se pudo observar incrementos en la intensidad relativa y definición de las señales (Tabla 5). En el caso de la región A, la intensidad relativa de las señales presentes en su área de distribución mostró un incremento gradual hasta alcanzar valores similares a los observados en el sitio de referencia; sin embargo, la definición de las señales no fue tan evidente. Este comportamiento es atribuido a la incapacidad de detectar a dicha región en algunas muestras de suelo, por lo que se considera que los grupos C—H alifáticos se encuentran en una baja concentración en la MOS dentro del relave (Bernier *et al.*, 2013).

Tabla 5. Intensidad de las señales presentes en el área de distribución de la región A y B que sonutilizadas para la identificación de la composición de la MOS.

	R	egión A	Región B	
Ubicación	%Т	Intensidad	%T	Intensidad
Parte alta del relave	42.0-28.0	Media a Fuerte	44.5-37.0	Media
Parte media del relave	21.5-12.25	Fuerte	21.5-14.5	Fuerte
Parte baja del relave	10.25-6.25	Fuerte	16.5-10.5	Fuerte
Suelo de referencia	15.0-6.0	Fuerte	19-7.0	Fuerte

La región B tuvo un comportamiento similar al observado con la región A, la intensidad relativa de las señales en su área de distribución mostró un incremento gradual hasta alcanzar valores similares al suelo de referencia; pero con una definición clara y evidente de la señal (Ver Figura 12). Lo que sugiere un enriquecimiento de la concentración de los componentes hidrofílicos en el área del relave con mayor cobertura vegetal (Figura 12c, parte baja del relave); por lo tanto, la MOS de este sitio puede considerarse como de mejor calidad (Bernier *et al.*, 2013; Parolo *et al.*, 2017).

Las sustancias húmicas (SH) son componentes orgánicos de origen natural que se producen por diversas reacciones biológicas y químicas; las cuales, están presentes en el carbón mineral (*lignito*), en sedimentos y en el suelo (Tinti *et al.*, 2015). Las SH representan el ~60% de la MOS y su composición depende de varios factores que, de acuerdo con su nivel de influencia, se pueden mencionar: *uso* (manejo) > clima > biota > topografía = material parental > tiempo (Trevisan *et al.*, 2010; Reddy *et al.*, 2012, 2014; Zalba *et al.*, 2016). Las SH se caracterizan por tener una estructura molecular compleja (100-2000 Da) que es el resultado de la formación de agregados que interaccionan por puentes o enlaces de hidrógeno, interacciones no-polares y por cationes polivalentes (Simpson *et al.*, 2002).

Tabla 6. Posición de las señales y sus asignaciones sugeridas del análisis de las sustancias húmicas con FTIR.

Ubicación de las señales (cm ⁻¹)	Asignación (Gigliotti et al., 1999)		
3700-3500	Alargamiento de enlaces O—H y N—H		
3000-3050	Alargamiento de enlaces C—H aromático		
2930	Alargamiento de enlaces C—H alifático		
1720-1730	Alargamiento de C=O de COOH, de esteres		
1650	Anillo aromático C=C, H- unido a C=O, deformación NH ₂		
1540	Alargamiento de COO ⁻		
1080-1070	Alargamiento de C—O en polisacáridos		
ÁCIDOS HÚMICOS			
Ubicación de las señales (cm ⁻¹)	Asignación (Gerasimowicz et al., 1986)		
	Señales de hidrocarburos		
2964	Alargamiento asimétrico CH ₃		
2879	Alargamiento simétrico CH ₃		
2923	Alargamiento asimétrico CH ₂		
2853	Alargamiento simétrico CH ₂		
1468	Deformación CH ₂		
1456	Deformación asimétrica C—CH ₃		

ÁCIDOS FÚLVICOS

1377	Deformación simétrica C—CH ₃	
1385, 1368	Deformación simétrica C—(CH ₃) ₂	
1172, 1157	Alargamiento en estructura C—(CH ₃) ₂	
721	$-(\mathrm{CH}_2)_n (n \geq 6)$	
	Señales de carbonilo	
1734	Alargamiento C=O (esteres, aldehídos)	
1717	Alargamiento C=O (cetonas)	
	Señales de amidas y proteínas secundarias	
1690-1625	Amida I (alargamiento C=O)	
1560-1520	Amida II (alargamiento C—N, deformación N—H)	
1300-1200	Amida III (alargamiento C—N, deformación N—H)	
800-640	Amida V (deformación fuera del plano N—H)	
1516	Alargamiento anillo de tirosina	

La composición elemental de las SH es 50 a 60% de C, 0.7 a 5.1% de N, 3.5 a 4.8% de H, y 31.6 a 45.5% de O (Nardi *et al.*, 2021). Las SH se dividen en tres fracciones que se diferencian por su solubilidad: *ácidos fúlvicos* (AF), solubles en cualquier pH; *ácidos húmicos* (AH), solubles a un pH alcalino, y las *huminas*, insolubles en cualquier condición de pH (Swift, 1996; Lehmann & Kleber, 2015). La espectroscopia FTIR es la técnica que ha sido ampliamente utilizada para determinar la composición, la estructura y la función de las SH en suelos de diferentes ecosistemas (Reddy *et al.*, 2018). Existen dos trabajos de investigación que, por separado, identificaron las señales de la composición química de las SH (Tabla 6). Sin embargo, algunos autores mencionan que ambas SH tienen la misma composición química; variando sólo en el contenido de los grupos funcionales (intensidad de las señales) y en su peso molecular (Gigliotti *et al.*, 1999; Tinti *et al.*, 2015).

De acuerdo con Gigliotti *et al.*, (1999), los AF se caracterizan por tener un contenido alto de grupos alifáticos y carboxílicos con un nivel bajo de humificación. Además, los AF pueden contener una gran cantidad de hidroxilos (R—OH) y estar formados por moléculas de bajo peso molecular (Lumsdon & Fraser, 2005).

El análisis por espectroscopia FTIR de los AF del suelo del relave "La Concha" y del suelo de referencia mostró que las señales obtenidas son similares a lo observado por Gigliotti *et al.* (1999) (Tabla 7; Figura 13). Sin embargo, se detectó una variación en la señal relacionada con el alargamiento de enlaces O—H y N—H; en este estudio esta señal se ubicó entre 3338.20 a 3133.64 cm⁻¹, similar a lo mencionado por Tinti *et al.*, (2015): 3600 a 3100 cm⁻¹. Además de las señales características de los AF, se observaron dos señales adicionales: una ubicada entre 742.22 y 721.37 cm⁻¹ relacionada con la deformación de enlaces C—H fuera del plano en anillos aromáticos (Bernier *et al.*, 2013; Parolo *et al.*, 2017), y la otra ubicada entre 483.33 y 481.33 cm⁻¹ que puede atribuirse a la alta abundancia de minerales en el relave (Gerzaberk *et al.*, 2006; Tinti *et al.*, 2015).

En relación con los cambios en la intensidad relativa de los grupos funcionales, la parte baja del relave mostró la mayor intensidad en todas las señales identificadas (Figura 13c). Este comportamiento puede atribuirse a que es el área del relave con mayor concentración de MO y, en consecuencia, los AF están formados por partículas grandes que contienen un número alto de grupos funcionales (sitios activos) (Klučáková, 2018). Además, en el espectro de FTIR de esta misma área, mostró una señal fuerte ubicada a ~650 cm⁻¹ (marcada con un asterisco, *); la cual, no es una señal característica de los AF (Gigliotti et al., 1999). Sin embargo, por su ubicación, podría ser considerada como una señal que forma parte de la fracción inorgánica (mineral) del relave. De acuerdo con Tinti et al., (2015), esta señal es por la presencia de *Bentonita* (SiO₃•H₂O) que es una arcilla formada principalmente por Montmorillonita. Por su composición, la Bentonita tiene una estructura laminar que se encuentra cargada negativamente de forma significativa, por lo que, tiene una alta afinidad con el agua (Murray, 2006). Sin embargo, dentro de la composición mineralógica del relave no se encuentra mencionada la presencia de esta arcilla (Talavera-Mendoza et al., 2005). A pesar de esto, la Bentonita tiene una estrecha relación con la actividad minera porque es utilizada para la producción de moldes de fundición para metales (Eisenhour & Brown, 2009), por lo que, podría ser un residuo de la actividad minera que se acumuló en una proporción alta en la parte baja del relave por efecto del transporte eólico e hídrico de los desechos. Actualmente, la Bentonita está siendo utilizada en la eliminación de compuestos

tóxicos presentes en los relaves mineros como el *Xantato*, que es una sustancia sólida utilizada para la flotación de minerales sulfurados y metálicos (Rezaei *et al.*, 2018).

Tabla 7. Posición de las señales en los espectros de FTIR obtenidos del análisis de los AF en las treszonas del relave "La Concha" y sus asignaciones sugeridas.

Ubicación de las señales (cm ⁻¹)		Asignadán	
Obtenidas	Literatura	Asignacion	
3338.20-3133.64	3600-3100	Alargamiento de enlaces O—H y N—H	
3022-2803.6	3020-2800	Alargamiento de enlaces C—H alifático (asociados a CH3 y CH2)	
2852	2925-2855		
1763.09-1722.06	1775-1711	Alargamiento de C=O de COOH	
1654.83-1542	1650-1550	Anillo aromático C=C, H- unido a C=O, deformación NH ₂	
1401.05-1400.50	1420-1330	Alargamiento de COO ⁻	
1107.29-1032.10	1100-1000	Alargamiento de C—O en polisacáridos	
742.22-721.37	900-675	Deformación de enlaces C—H fuera del plano en anillos aromáticos	
483.33-481.74	470-420	Caolinita, ilita, esmectita	



Figura 13. Espectros de FTIR obtenidos del análisis de los AF en las tres zonas del relave "La Concha" y del suelo en el sitio de referencia del río Cacalotenango. a = parte alta del relave, b = parte media del relave, c = parte baja del relave y, d = suelo de referencia. 1 = Alargamiento de enlaces O-H y N-H; 2= Alargamiento de enlaces C—H alifático (área en color morado); 3 = Alargamiento de C=O de COOH; 4 = Anillo aromático C=C, H- unido a C=O, deformación NH₂; 5 = Alargamiento de COO⁻; 6 = Alargamiento de C—O en polisacáridos; 7 = Deformación de enlaces C—H fuera del plano en anillos aromáticos; 8 =

Caolinita, ilita, esmectita.

De acuerdo con Gerasimowicz et al., (1986), las señales de un espectro de FTIR de los AH estarán distribuidas en tres categorías (ver Tabla 6). En estas categorías se pueden observar señales fuertes relacionadas con proteínas en descomposición (1650, 1550 y 1220 cm⁻¹) como la tirosina. Mientras que las señales de intensidad media aparentemente pertenecen a aldehídos, cetonas y esteres (1734 y 1717 cm⁻¹). A lo largo del espectro, se puede observar una predominancia de señales que describen el enlace C-H, por ejemplo: alargamiento simétrico (2872 cm⁻¹) y asimétrico (2963 cm⁻¹) de CH₃. Sin embargo, señales de grupos aromáticos y residuos alifáticos parecen estar representados en menor proporción debido a las débiles señales observadas en el alargamiento C—H (~3000 cm⁻¹) y en la deformación fuera del plano C-H (950 cm⁻¹). A diferencia de los AF, los AH están menos cargados, pero tienen una mayor estructura poliaromática (Lumsdon & Fraser, 2005).

El análisis por espectroscopia FTIR de los AH del suelo del relave "La Concha" y del suelo de referencia mostró que las señales obtenidas son similares a lo observado por Gerasimowicz et al., (1986) (Tabla 8; Figura 14). De las 17 señales reportadas por este autor, en el presente estudio se lograron identificar 10 (~59%).

Tabla 8. Posición de las señales en los espectros de FTIR obtenidos del análisis de los AH en las tres zonas del relave "La Concha" y sus asignaciones al grupo funcional.

		Asignación	
Obtenidas	Literatura		
3465.40-3390.4	3700-3500	Alargamiento de enlaces O—H y N—H	
3138.80-3115.40	3020-2800	Alargamiento de enlaces C—H alifático (asociados a CH ₃ y CH ₂)	
3012.30-2849.30	2964, 2879	Alargamiento asimétrico y simétrico CH ₃	

L'hicación de las señales (cm⁻¹)

2350	2562-2480	Vibraciones de carbonato (calcita y aragonita; overtone/combination band)		
1647.62-1631.78	1690-1625	Amida I (alargamiento C=O) y Amida II (alargamiento C—N, deformación N—H)		
1516	1516	Alargamiento anillo de tirosina		
1470-1460	1468 1456	Deformación CH ₂ Deformación asimétrica C—CH ₃		
1400.66-1400.07	1420-1330	Alargamiento de COO ⁻		
1141-1108.50	1172, 1157	Alargamiento en estructura C—(CH ₃) ₂		
987.30-968.81	1034	Alcohol primario		

En relación con la concentración de los grupos funcionales identificados en los AH, la intensidad de las señales relacionadas con hidrocarburos fue similar en los todos los sitios analizados (Figura 14, cuadros en color verde). En el caso particular de las señales relacionadas con amidas (cuadros en color amarillo), la intensidad del alargamiento C=O de amidas tipo I (señal 3) fue constante a lo largo del relave y en el sitio de referencia; sin embargo, la señal relacionada con el alargamiento C—N/deformación N—H en amidas tipo II fue mayor en la parte alta y baja del relave. Así también, la intensidad relacionada con un alcohol primario (señal 10) fue similar en todos los sitios analizados; pero, de acuerdo con Gerasimowicz *et al.*, (1986), es una región difícil de interpretar porque las señales de éteres, ésteres, alcoholes y hasta amidas III, absorben el mismo intervalo de frecuencia. Además, uno de los datos más importantes fue la identificación de la señal 5 relacionada con el alargamiento del anillo de tirosina, porque representa la presencia de productos proteínicos en descomposición.



Figura 14. Espectros de FTIR obtenidos del análisis de los AH en las tres zonas del relave "La Concha" y del suelo en el sitio de referencia del río Cacalotenango. a = parte alta del relave, b = parte media del relave, c = parte baja del relave y, d = suelo de referencia. En color verde se muestran las señales relacionadas con hidrocarburos, y en color amarillo se muestran las señales relacionadas con el grupo amida. 1 = Alargamiento simétrico de CH₃; 2 = Alargamiento asimétrico de CH₃; 3 = Amida I (alargamiento C=O); 4 = Amida II (alargamiento C=N, deformación N=H); 5 = Alargamiento anillo de tirosina; 6 = Deformación CH₂/deformación asimétrica C=CH₃; 7 = Alargamiento de COO⁻; 8 y 9 = Alargamiento en estructura C=(CH₃)₂; 10 = Alcohol primario en conjunto con la señal ancha arriba de 3000 cm⁻¹.

Finalmente, no se observaron señales que se asignen al >C=O de ácidos carboxílicos y ésteres entre 1720-1735 cm⁻¹ tanto alifáticos como aromáticos, lo cual evidencia que los procesos de humificación son incompletos, posiblemente por el movimiento constante de los materiales o por alteraciones en la composición misma del suelo.

Evaluación del índice de humificación de la materia orgánica presente en los tecnosoles del relave "La Concha"

La humificación es la transformación de la materia orgánica (MO) en sustancias húmicas (SH) a través de procesos geo-microbiológicos; sin embargo, tiene un desarrollo muy heterogéneo debido a la gran variedad de materiales vegetales y de radicales químicos involucrados (Sharma & Vinod, 2018). El índice de humificación (IH) es uno de los diversos parámetros empleados en la evaluación del grado de humificación de la MO (Gigliotti *et al.,* 1999).

Existen diversas formas de calcular el IH, siendo el método de Kononova-Belchikova uno de los más utilizados, el cual, se basa en el grado de condensación de los AH y AF (Cabrera *et al.*, 2002). Para determinar el IH por este método se utiliza la espectroscopia de luz ultravioleta (UV) para leer la absorción o la emisión de radiación electromagnética a una longitud de onda específica de la materia, y la interacción es tan específica que nos permite identificar el tipo y la cantidad de materia que está interactuando (Gómez, 2006). Con el método de Kononova-Belchikova se determina la relación que existe de las absorbancias a dos longitudes de onda: 465nm (E4) y 665nm (E6) (Ruiz *et al.*, 1997). En una muestra de suelo, sí el coeficiente del IH tiene valores altos indican un mayor contenido de cadenas alifáticas y este resultado es inversamente proporcional al grado de condensación de la red aromática de las sustancias; mientras que, un índice bajo, es una consecuencia de un alto grado de aromaticidad (Kononova, 1966). Por lo tanto, una relación alta del coeficiente E4/E6 es característica de un suelo más joven con un proceso de humificación mayor, y una relación menor de este coeficiente pertenece a un suelo de mayor tiempo de formación (Ruíz *et al.*, 1997).

En el presente estudio, debido a la baja concentración de MO, el IH sólo pudo calcularse en los ácidos húmicos (AH). En el caso particular de los AH, el coeficiente E4/E6 varía entre 2.0 y 6.0 (Ruíz et al., 1997; Cabrera et al., 2002): mientras más bajo sea el valor obtenido se considera que los AH tienen un nivel alto de condensación y polimerización, y su masa molar y grado de oxidación es menor, lo cual, es característico de suelos con un proceso de humificación avanzado. De acuerdo con los resultados obtenidos, los coeficientes E4/E6 AH estimados en las tres zonas del relave y en el sitio control se encuentran dentro del rango característico de estas SH (Tabla 9). Pero contrario a lo esperado, se observó un incrementó del coeficiente de la parte alta hacia la parte baja del relave, lo que indica que los AH de la parte alta y media del relave presentan mayor grado humificación. Mientras que el coeficiente E4/E6 de la parte baja fue el más alto, lo que indicaría que los AH de esta zona tienen un contenido mayor de cadenas alifáticas (Datta, et al., 2022). El valor del coeficiente E4/E6 de la parte baja fue similar al obtenido en el sitio control (Ver Tabla 9). La tendencia de estos resultados puede ser una consecuencia de la forma y la pendiente del relave "La Concha", propiciando el arrastre del material vegetal hacia la parte baja del mismo; limitando el proceso de humificación por acumulación del material orgánico. Sin embargo, este índice no indica el tipo de grupos funcionales presentes en la materia orgánica presente.

Sitio	E4/E6 AH		
Parte alta	3.39		
Parte media	3.85		
Parte baja	4.94		
Control	4.181		

Tabla 9. Índice de humificación de los AH en las tres zonas del relave "La Concha".

De acuerdo con Kononova (1966), los suelos tipo *Chernozem* presentan un IH (E4/E6) de 3.0 a 3.5; este tipo de suelo es el que se encuentra en la zona adyacente al relave "La Concha". Cuando el grado de humificación de los AH es similar al que presentan las SH del suelo, se considera que la MOS ha tenido un proceso de humificación eficiente (Ruíz *et al.*, 1997). Por lo que, los valores obtenidos del índice de humificación en los ácidos húmicos del relave "La Concha" podrían ser una evidencia de que este pasivo ambiental tiene la capacidad de realizar procesos similares al suelo aledaño de la zona. Lo cual, puede ser una consecuencia de la actividad metabólica de la diversidad fúngica que habita en el suelo del relave "La Concha". En este relave han sido aislados e identificados diversos hongos saprobios de la rizosfera de *Cupressus* (parte alta; López-Pacheco, 2019) y del área carente vegetación con mayor heterogeneidad en su estado de oxidación (parte media; López-Reyes, tesis en proceso). Por lo que, estos hongos saprobios a través de las enzimas hidrolíticas que producen estarían destruyendo la pared celular de los restos vegetales y participarían en la mineralización de la MOS para generar sustancias asimilables para otros microorganismos y especies vegetales (Crowther *et al.*, 2012).

Conclusiones

- I. La caracterización de las propiedades físicas y químicas del suelo confirmó que las condiciones del relave "La Concha" son similares a lo reportado en otros sitios mineros. Sin embargo, se observaron evidencias de un cambio en las condiciones del suelo en las áreas con presencia de vegetación. Estos organismos vegetales están disminuyendo el efecto de los diversos factores limitantes característicos de un tecnosol y estarían incrementando las condiciones que favorecen un proceso de sucesión ecológica.
- II. La concentración de la materia orgánica del suelo en el relave "La Concha" fue heterogénea y los puntos de mayor concentración se cuantificaron en las zonas con presencia de vegetación. El bajo contenido de materia orgánica está vinculado con el efecto negativo de algunas propiedades que limitan la estructuración del suelo, como una textura gruesa y la disminución de la capacidad de intercambio catiónico, propiciando la pérdida de los nutrientes por procesos de erosión e intemperismo.

- III. A pesar de los factores limitantes del suelo del relave "La Concha", la materia orgánica y las sustancias húmicas tuvieron una composición química similar a la de suelos naturales; con un incremento en la intensidad de las señales de los grupos funcionales de la zona con menor vegetación hacía la zona con mayor presencia de organismos vegetales. En los ácidos húmicos, las señales relacionadas con la presencia de proteínas (residuos de tirosina), así como señales de carbonilo y de alcohol, son una evidencia importante del proceso de transformación de la materia orgánica que se está incorporando en el relave.
- IV. El grado de humificación de los ácidos húmicos obtenidos del suelo del relave "La Concha" demuestra que la materia orgánica presenta un proceso de humificación, sin embargo, la ausencia de las señales entre 1725 y 1730 cm⁻¹ en los espectros en el infrarrojo que se asignan a los carbonilos (>C=O) de ácidos carboxílicos y ésteres que son indicativos de un proceso de humificación completo que permite concluir que la oxidación de los materiales vegetales no está siendo completa hasta llegar a SH.
- V. Se puede considerar que en este relave se están realizando procesos de resiliencia ecológica para tratar de homologar las condiciones presentes en los suelos de las zonas aledañas.

Referencias

- Acosta, E., Mondragon, E., & Cristóbal, D., Rubinos, J. & Robledo, E. (2009). Vegetation, mining tailings and potentially toxic elements of a jal from Pachuca, Hidalgo, México. Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 15, 109-114.
- Aiken, G., McKnight, D., Wershaw, R. & McCarthy, P. (1985). An introduction to humic substances in soil, sediment, and water. Wiley-Interscience (Eds), Geochemestry, isolation and characterization New York.1-9.
- Alberts, J. & Filip, Z. (1998). Metal Binding in Estuarine Humic and Fulvic Acids: FTIR Analysis of Humic Acid-Metal Complexes. Environmental Technology. 19 (9), 923-931.
- Almendros, G., González-Vila, F., González-Pérez, J., Knicker, H., & de la Rosa, J. (2010). Protocolos y técnicas analíticas e instrumentales para evaluar el impacto del fuego sobre la materia orgánica del suelo. Actualización en métodos y técnicas para el estudio de los suelos afectados por incendios forestales. Càtedra Divulgació de la Ciència-FUEGORED. Universidad de València. Valencia. 285-319.
- Amador, H., Izquierdo, F., & Padrón, V. (2018). Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. Cultivos Tropicales, 39(4), 102-109.
- 6. Anzorena M. (1995). El suelo en la agricultura y el medio ambiente. Fertilidad del suelo: acidez y complejo de cambio. Rev. Sustrai. 36(1), 40-44.
- Baddi, G., Hafidi, M., Cegarra, J., Alburquerque, J., Gonzálvez, J., Gilard, V. & Revel, J. (2004). *Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and 13C-NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw*. Bioresource Technology. 93(3), 285-290.
- Benzing, A. (2001). Agricultura orgánica. Fundamentos para la región Andina. Neckar-Verlag, Villingen-Schwenningen, Alemannia. 682.
- Bernier, M., Levy, G., Fine, P & Borisover, M. (2013). Organic matter composition in soils irrigated with treated wastewater: FT-IR spectroscopic analysis of bulk soil samples. Geoderma. 209–210. ISSN 0016-7061, https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.06.017.
- Blanco-Sepúlveda, R. (2009). La relación entre la densidad aparente y la resistencia mecánica como indicadores de la compactación del suelo. Agrociencia. 43(3), 231-239.

- Brady, N.C. & Weil, R.R. (2008). Los suelos que nos rodean. La Naturaleza y Propiedades de los Suelos, 14th Ed. Pearson Prentice Hall, Nueva Jersey y Ohio. 1-31.
- Bradshaw, A., Humphreys, M. & Johnson, M. (1978). *Tolerance in the revegetation of metalliferous mine wastes*. In Environmental Management of Mineral Wastes, G.T. Goodman, and M.J. Chadwick. 311–334.
- 13. Bellamy, L. (2013). The infra-red spectra of complex molecules. Springer Science & Business Media.
- Buffle, J., Greter, F. & Haerdi, W. (1977). Measurement of complexation properties of humic and fulvic acids in natural waters with lead and copper ion-selective electrodes. Anal. Chem. 49(2), 216-222.
- Cabrera, F., Guevara, C., Castillo, J., & Chavarriaga, W. (2002). Estandarización del método kononova-belchikova para la extracción, fraccionamiento, análisis y purificación de las sustancias húmicas en suelos andisoles. Revista de Ciencias Agrícolas. 19(1), 130-139.
- Cabrera, G., Zanazzi, J. F., Zanazzi, J. L., & Boaglio, L. (2017). Comparación de potencias en pruebas estadísticas de normalidad, con datos escasos. Revista De La Facultad De Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales. 4(2), 47-52.
- 17. CAMIMEX. 2020. Importancia de la minería en México. http://www.geomin.com.mx/pdf/panel/litio/ImportanciaMineria_MX_ForoLitio.pdf
- Cantellano, M., & Zetina, L. (2015). La espectroscopia y su tecnología: Un repaso histórico y su importancia para el siglo XXI. Latin-American Journal of Physics Education. 9(4), 13.
- Capriel, P., Beck, T., Borchert, H., Gronholz, J. & Zachmann, G. (1995). *Hydrophobicity of the organic matter in arable soils*. Soil Biol. Biochem. 27(11), 1453-1458. doi.org/10.1016/0038-0717(95)00068-P.
- Caravaca, F., Lax, A., & Albaladejo, J. (1999). Organic matter, nutrient contents, and cation exchange capacity in fine fractions from semiarid calcareous soils. Geoderma. 93, 3–4. ISSN 0016-7061, https://doi.org/10.1016/S0016-7061(99)00045-2.
- 21. Castillo, A, Chavarría, L., Pompa, L., Castillo, I., Cruz, G., & Arteaga, M. (2015). *Captura de carbono en suelo, capa de fermentación y mantilla en Mazatlán Villa de Flores, Oaxaca: Estudio de materia*

orgánica por FT-IR. En: Re-descubriendo el suelo: su importancia ecológica y agrícola, UNAM, FES Zaragoza, México.

- Castillo-Granada, A., Ríos-Calderón, O., Soto-Páez, R., Parra-Cervantes, P., Benítez-Escamilla, T., Robles-López, F. & Méndez-Gutiérrez, A. (2017). Fortalecimiento de la formación profesional en el análisis instrumental. Cómics como medio de aprendizaje de la espectroscopia de infrarrojo. Consultado en línea el 29 de diciembre de 2020, <u>https://papimepe206115feszunam.files.wordpress.com/2018/08/espectroscopia-ir.pdf</u>.
- Chavarría, L. y Pompa, L. (2018). Carbono almacenado en suelo, mantillo y masa forestal en Mazatlán Villa de Flores, Oaxaca. UNAM.
- Celi, L., Schnitzer, M. y Negre, M. (1997). Analysis of carboxyl groups in soil Humic acids by awet chemical method, Fourier-transformation infrared spectrophotometry, and solution-state carbon 13 nuclear magnetic resonance. A comparative study. Soil Science. 162(3), 189-197.
- Coates, J. (2006). Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory and instrumentation. Interpretation of Infrared Spectra: A Practical Approach, Newtown, USA.
- 26. Contreras-López, C., y de Juambelz, R. (2015). Desarrollo de la vegetación en suelos de jales mineros para la recuperación de las áreas verdes en espacios abiertos contaminados. In Proceedings of the II International congress on sustainable construction and eco-efficient solutions: Seville. 946-957.
- Craswell, E. & Lefroy, R. (2001) The role and function of organic matter in tropical soils. In: Martius C., Tiessen H., Vlek P.L.G. (Eds) Managing Organic Matter in Tropical Soils: Scope and Limitations. Developments in Plant and Soil Sciences, 93. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2172-1_2
- Crognale, S., D'annibale, A., Pesciaroli, L., Stazi, S. R., & Petruccioli, M. (2017). Fungal Community Structure and As-Resistant Fungi in a Decommissioned Gold Mine Site. Frontiers in microbiology. 8, 2202,. doi:10.3389/fmicb.2017.02202
- Crowther, T. W., Boddy, L., & Hefin Jones, T. (2012). Functional and ecological consequences of saprotrophic fungus-grazer interactions. The ISME journal, 6(11), 1992–2001. <u>https://doi.org/10.1038/ismej.2012.53</u>

- Cuevas, J., Silva, S., Leon-Lobos, P., & Ginocchio, R. (2013). Nurse effect and herbivory exclusion facilitate plant colonization in abandoned mine tailings storage facilities in northcentral Chile. Revista Chilena de Historia Natural. 86(1), 63-74.
- Datta, A., Choudhury, M., Sharma, P., Jat, H., Jat, M. y Kar, S. (2022). Estabilidad del carbono del ácido húmico bajo prácticas de agricultura de conservación. Investigación de suelos y labranza. 216, 105240.
- Dótor, A., Armienta, M., Árcega, F., & Talavera, O. (2014). Procesos de transporte de arsénico y metales en aguas superficiales del distrito minero de Taxco, México: Aplicación de isótopos estables. Hidrobiológica. 24(3), 245-256.
- Dou, S., Shan, J., Song, X., Cao, R., Wu, M., Li, C. & Guan, S. (2020). Are Humic Substances Soil Microbial Residues or Unique Synthesized Compounds? A Perspective on Their Distinctiveness. Pedosphere 30, 159–167.
- 34. Echevarria, G. & Morel, J. (2015). Technosols of Mining Areas. Tôpicos em Ciência do Solo. 9, 1-20.
- Eisenhour, D. & Brown, R. (2009). *Bentonite and Its Impact on Modern Life*. Elements. 5(2), 83–88.
 doi: <u>https://doi.org/10.2113/gselements.5.2.83</u>
- 36. Ellerbrock, R., Hohn, A. y Gerke, H. (1999). *Characterization of soil organic matter from a Sandy soil in relation to management practice using FT-IR spectroscopy*. Plant and Soil. 213, 55-61.
- Ellerbrock, R. y Gerke, H. (2004). Characterizing organic matter of soil aggregate coatings and biopores by Fourier transform infrared spectroscopy. European Journal of Soil Science. 55, 219–228. https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2004.00593.x
- Espinace, R., Palma, J., Valenzuela, P., Jaramillo, I., Miranda, A., Salinas, R. y Bialostoki, J. (2006) Evaluación del efecto eólico en tranques de relave. Congreso argentino de Mecánica de suelos e Ingeniería Geotécnica.
- Farías, D., Ballesteros, M. y Bendeck, M. (2000). Variación de diferentes parámetros de humificación durante dos tipos de compostaje con residuos lignocelulósicos de rosas. Revista colombiana de química. 29(2), 39-52.
- 40. Gil-Loaiza, J., White, S., Root, R., Solís-Dominguez, F., Hammond, C., Chorover, J., & Maier, R. (2016). *Phytostabilization of mine tailings using compost-assisted direct planting: Translating*

greenhouse results to the field. The Science of the total environment. 565, 451–461. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.168

- Google. (2022.). [Relave "La Concha", Taxco, Guerrero.]. Recuperado el 2 de julio de 2022 de https://goo.gl/maps/yNNPeiP9Hdssm6PM8
- Gómez-Bernal, J., Santana-Carillo, J., Romero-Martin, F., Armienta-Hernández, M., Morton-Bermea,
 O., & Aurora Ruiz-Huerta, E. (2010). *Plantas de sitios contaminados con desechos mineros en Taxco, Guerrero, México*. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 87, 131-133.
- González-Pérez, M., Vidal, P., Colnago, L., Martin-Neto, L., Otero, X., Milori, D. y Haenel, F. (2008).
 13CRMN and FTIR spectroscopy characterization of humic acids in spodsols under tropical rain forest in southeastern Brazil. Geoderma. 144. 425-433.
- Grandy, A. & Neff, J. (2008). Molecular C dynamics downstream: The biochemical decomposition sequence and its impact on soil organic matter structure and function. Science of The Total Environment. 404, 2–3. ISSN 0048-9697, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.11.013.
- 45. Gruba, P. & Socha, J. (2016). Effect of parent material on soil acidity and carbon content in soils under silver fir (Abies alba Mill.) stands in Poland. Catena 140. ISSN 0341-8162, https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.01.020.
- Guerrero-Peña, A., de la Cruz-Pons, A., Velasco-Velasco, J. (2017). Interpretación del análisis de suelos cañeros basado en las relaciones entre propiedades y elementos. Agroproductividad. 10(11), 87-92.
- Hesse, M., Meir, H. & Zeeh, B. (2005). Spektroskopische metrhoden in dr organischen Chemi. Thieme, Stuttgart. 33-69.
- Haberhauer, G., y Gerzabek, M. H. (1999). Drift and transmission FT-IR spectroscopy of forest soils: an approach to determine decomposition processes of forest litter. Vibrational Spectroscopy. 19(2), 413-417.
- Huaynates, J. (2014). Efecto de la materia orgánica en la absorción de Cadmio en el suelo en la localidad de Supte. 10, 28-33

- 50. INAFED. (2019). Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Estado de Guerrero, Taxco de Alarcón. Recuperado de http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM12guerrero/municipios/12055a.html
- 51. International Humic Substances Society (IHSS). 2007. What are humic substances?Recuperado de https://humic-substances.org/what-are-humic-substances-2/
- Jaramillo, D. (2002) Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 619.
- 53. Jokic, A., Wang, M., Liu, C., Frenkel, A. & Huang, P. (2004). Integration of the polyphenol and Maillard reactions into a unified abiotic pathway for humification in nature: the role of δ-MnO₂. Organic Geochemistry. 35(6), 747-762. ISSN 0146-6380, https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2004.01.021.
- 54. Jones, C & Olson-Rutz (2016). Plant Nutrition and Soil Fertility. Nutrient Management Module No.
 2. Montana State University. USA. Última actualización: 09/16
- 55. Julca-Otiniano, A., Meneses-Florián, L., Blas-Sevillano, R., & Bello-Amez, S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. Idesia (Arica). 24(1), 49-61.
- Kay, B., VandenBygaart, A. (2002) Conservation tillage and depth stratification of porosity and soil organic matter. Soil & tillage research. 66, 107-118.
- 57. Keller, T. y Hakansson, I. (2010). Estimation of reference bulk density from soil particle size distribution and soil organic matter content. Geoderma. 154, 398-406.
- 58. Keller, J.K. & Medvedeff, C. (2016). Soil organic matter. In: Vepraskas M. J., Craft C. B. (edts.), Wetland soils: genesis, hydrology, landscapes and classification. 2° edition. CRC Press, Taylor & Francis Group. USA.
- Klučáková, M. (2018) Size and Charge Evaluation of Standard Humic and Fulvic Acids as Crucial Factors to Determine Their Environmental Behavior and Impact. Front. Chem. 6, 235. doi: 10.3389/fchem.2018.00235
- 60. Kononova, M. (1966). Soil organic matter. Pergamon Press, Oxford. 400-404.

- Kossoff, D., Dubbin, W., Alfredsson, M., Edwards, S., Macklin, M. y Hudson-Edwards, K. (2014). *Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts, and remediation.* Geochemistry. 51, 229-245.
- Kweon, G., Lund, E. & Maxton, C. (2013). Soil organic matter and cation-exchange capacity sensing with on-the-go electrical conductivity and optical sensors. Geoderma. 6, 235. ISSN 0016-7061, https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.11.001
- 63. Lehmann, J. & Kleber, M. (2015). *The contentious nature of soil organic matter*. Nature. 528, 60–68. https://doi.org/10.1038/nature16069.
- 64. Lindsay, M., Moncur, M., Bain, J., Jambor, J., Ptacek, C. y Blowes, D. (2015). *Geochemical and mineralogical aspects of sulfide mine tailings*. Geochemistry. 57, 157-177.
- 65. López-Pacheco, V. (2019). Evaluación del efecto del pH en las interacciones inter- e intraespecíficas de micromicetes saprobios asociados a la rizosfera de gimnospermas en un jal minero de Taxco (Tesis de licenciatura; Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM). https://tesiunam.dgb.unam.mx/
- 66. López-Reyes A. (2022). Análisis de la diversidad fúngica saprobia asociada a los desechos mineros en el municipio de Taxco, estado de Guerrero (Tesis de licenciatura no publicada). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- Lumsdon, D. & Fraser, A. (2005). Infrared spectroscopic evidence supporting heterogeneous site binding models for humic substances. Environmental science & technology. 39(17), 6624–6631. https://doi.org/10.1021/es050180i
- Maititi, S. y Ghose, M. (2005). Ecological restoration of acidic coalmine overburden dumps- An Indian case study. Land Contamination and Reclamation. 13, 361-369
- Mancini, M., Weindorf, D., Carvalho, M., Gomes, A., Dos Santos, A., De Lima, W., Dias, F., Branco, T., D'Auria, F., Ribeiro, D., Godinho, S., Charkraborty, S & Curi, N. (2020) From sensor data to Munsell color system: Machine learning algorithm applied to tropical soil color classification via Nix[™] Pro sensor. Geoderma. 375, 114471.
- Margenot, A., Calderon, F., Bowles, T., Parikh, F. & Jackson, L. (2015) Soil Organic matter functional group composition in relation to organic carbon, nitrogen, and phosphorus in organically managed tomato fields. Soil Sci. Soc. Am. J. 79, 772-782. https://doi.org/10.2136/sssaj2015.02.0070
- 71. Martínez, J. S. (2007). Espectroscopía Infrarroja 1-Fundamentos. Recuperado de

http://www.upct.es/~minaeees/espectroscopia_infrarroja.pdf.

- Martínez-Guerra, E. (2017). Cuantificación de sustancias húmicas provenientes de los sedimentos en la Zona Chinampera, Xochimilco, Ciudad de México. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martins, A. (1992). Génese e evolucao de solos derivados de Granitos. Universidade de Tras-Os-Montes e Alto Douro, Portugal.
- Matus, F., Garrido, E., Hidalgo, C., Paz, F., Etchevers, J., Merino, C. & Báez, A. (2016). *Carbon saturation in the silt and clay particles in soils with contrasting mineralogy*. Terra Latinoamericana. 34(3), 311-319.
- 75. Matus, F.J. (2021). Fine silt and clay content is the main factor defining maximal C and N accumulations in soils: a meta-analysis. Sci Rep. 11, 6438 <u>https://doi.org/10.1038/s41598-021-84821-6</u>
- 76. Melato, F., Mokgalaka, N. & McCridle, R. (2016). Adaptation and detoxification mecanisms of Vetiver grass (Chrysopogon zizanoides) growing on gold mine tailings. International Journal of Phytoremediation. 18, 509-520.
- Mohd, R., Nornadiah, & Yap, B. (2011). Power Comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling Tests. Journal of Statiscal Modeling and Analytics. 2 (1), 21-33.
- Montero, R. (2019). Descripción de la dinámica del azufre en el Jal Minero "El Fraile" en Taxco de Alarcón, estado de Guerrero. UNAM.
- Moreno, G., Quinto, H., Porras, V y Cho, J. (2019). Efecto temporal de la minería sobre la respiración y las condiciones fisicoquímicas del suelo. Ciencia e Ingeniería Ambiental Moderna. 837.
- Moreno, M. (2020). Aplicación de Análisis de Componentes Principales y Conglomerados a datos de Fluorescencia de Rayos X (FRX) en suelos. Fundación Universitaria Los Libertadores. 13-25
- Müller, T. & Höper, H. (2004). Soil organic matter turnover as a function of the soil clay content: consequences for model applications. Soil Biology and Biochemistry 36 (6). ISSN 0038-0717. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.12.015.
- Murray, H. (2006). Chapter 6 Bentonite Applications, Editor(s): Haydn H. Murray, Developments in Clay Science, Elsevier. 2, 111-130, ISSN 1572-4352, ISBN 9780444517012. https://doi.org/10.1016/S1572-4352(06)02006-X.

- Nardi, S., Schiavon, M. & Francioso, O. (2021) Chemical Structure and Biological Activity of Humic Substances Define Their Role as Plant Growth Promoters. Molecules. 26, 2256. https://doi.org/10.3390/ molecules26082256
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M. & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. Scientia Agricola.;73(1):18–23.
- 85. Nelson, D. & Sommers, L. (1996). Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter. En: DL Sparks, AL Page, PA Helmke, RH Loeppert, PN Soltanpour, MA Tabatabai, CT Johnston, ME Sumner (Eds), Methods of soil analysis, part 3 Chemical methods. Soil Science Society of America, Inc., USA. 961-1009
- Nguyen, T. T., Janik, L. J., & Raupach, M. (1991). Diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) spectroscopy in soil studies. Soil Research. 29(1), 49-67.
- NOM, N. O. M. (2002). 021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones defertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario oficial de la Federación, Martes, 31.
- Nyenda, T., Jacobs, S., Gwenzi, W. & Muvengwi, J. (2019). Biological crusts enhance fertility and texture of gold mine tailings, Ecological Engineering, Volume 135, 2019, Pages 54-60, ISSN 0925-8574, https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.03.007.
- Ortiz-Calderon, C., Alcaide, O., & Kao, J. L. (2008). Copper distribution in leaves and roots of plants growing on a copper mine-tailing storage facility in northern Chile. Revista Chilena de Historia Natural. 81(4), 489-499.
- Osman, K. (2013). Soil. Principles, Properties and Managament. University of Chittagong. Chittagong, Bangladesh. 1-3.
- Ottenhof, C. J. M., Cano, A. F., Arocena, J. M., Nierop, K. G. J., Verstraten, J. M., & Van Mourik, J. M. (2007). Soil organic matter from pioneer species and its implications to phytostabilization of mined sites in the Sierra de Cartagena (Spain). Chemosphere, 69(9), 1341-1350.
- Painter, P., Starsinic, M. & Coleman, M. (1985). Determination of functional groups in coal by Fourier transform interferometry. En: Ferraro, J., Basile, L., (Eds). Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Academic Press: New York, NY, USA. 169–240

- Parfitt, R., Giltrap, D. & Whitton, J. (1995) Contribution of organic matter and clay minerals to the cation exchange capacity of soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 26:9-10, 1343-1355, DOI: 10.1080/00103629509369376
- Parolo, M., Savini, M. & Loewy, R. (2017). Characterization of soil organic matter by FT-IR spectroscopy and its relationship with chlorpyrifos sorption. Journal of Environmental Management 196. ISSN 0301-4797, <u>https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.03.018</u>.
- Pilatowsky, R. (2015). Composición y variabilidad de la materia orgánica sólida en suelos agrícolas regados con agua residual cruda. UNAM, México.
- Porta, J., Acevedo, M. y Roquero, C. (2003). Edafología para la agricultura y medio ambiente, Mundi-Prensa, Madrid. 45-60.
- 97. Qianjun, L., Xiang, L., Jiepeng, T., Yangmei, Z., Qintie, L., Rongbo, X. y Min, Z. (2019) Characterization of goethite-fulvic acid composites and their impact on the immobility of Pb/Cd in soil. Chemosphere. 222, 556-563.
- Qiu, Y., & Sego, D.C. (2001). Laboratory properties of mine tailings. Canadian Geotechnical Journal. 38(1), 183-190. <u>https://doi.org/10.1139/t00-082</u>
- Quinto-Mosquera, H., Cuesta-Nagles, J., Mosquera-Sánchez, I., Palacios-Hinestroza, L., y Peñaloza-Murillo, H. (2013). *Biomasa vegetal en zonas degradadas por minería en un bosque pluvial tropical del Chocó Biogeográfico*. Revista Biodiversidad Neotropical. 3(1), 53-64. https:// doi: 10.18636/bioneotropical.v3i1.127.
- 100.Ramírez, P., Calderón, F., Fonte, S., Santibáñez, F. & Bonilla, C. (2020). Spectral responses to labile organic carbon fractions as useful soil quality indicators across a climatic gradient. Ecological Indicators 111 (106042). ISSN 1470-160X. <u>https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.106042</u>.
- 101.Ramos-Arroyo, Y. R., & Siebe-Grabach, C. D. (2006). Estrategia para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: estudio de caso en el Distrito de Guanajuato, México. Revista mexicana de ciencias geológicas. 23(1), 54-74.
- 102.Reddy, S., Nagaraja, M., Punith T., Dhumgond, P. & Vignesh, N. (2012). Soil Humic and Fulvic Acid Fractions Under Different Land Use Systems. Madras Agricultural Journal. 99, 507-510.

- 103.Reddy, S., Nagaraja, M., Punith, T., Police-Patil, A. & Prabhudev, D. (2014). Elemental Analysis E4/E6 Ratio and Total Acidity of Soil Humic and Fulvic Acids from Different Land Use Systems. Annals Plant Soil Res. 16 (2), 89-92. https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1206558
- 104.Reddy, S., Nagaraja, M., Kadalli, G. & Champa, B. (2018) Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Soil Humic and Fulvic Acids Extracted from Paddy Land Use System. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 7(5), 834-837. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.102
- 105.Reyes Jaramillo, I. (1996). Fundamentos teórico-prácticos de temas selectos de la ciencia del suelo: Parte I No. 631.4071 R4.
- 106.Rezaei, R., Massinaei, M. & Zeraatkar-Moghaddam, A (2018). Removal of the residual xanthate from flotation plant tailings using modified bentonite. Minerals Engineering. 119, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.mineng.2018.01.012.
- 107.Rojo-Callejas, F. (2009). Tablas de Espectroscopía Infrarroja. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TablasIR_24985.pdf.
- 108.Romero, F. (1989). Familias mineralógicas de los suelos sobre granitos de la provincia de la Coruña. Universidad de Santiago, Chile.
- 109.Ruíz, M., Elizalde, G. y Paolini, J. (1997). Caracterización de las sustancias húmicas presentes en microagregados de suelos de dos toposecuencias. Agronomía tropical. 47(4), 381-395.
- 110. Santillán, M. (2019). Minería en México desde una visión integral. Ciencia UNAM-DGDC. <u>https://ciencia.unam.mx/leer/870/mineria-en-mexico-desde-una-vision-integral</u>
- 111.Salamanca, A., Sadeghian, S. (2006). La densidad aparente y su relación con otras propiedades en suelos de la zona cafetera colombiana. 381-397
- 112.Schulten, R.y Schnitzer, M. (1993). A state of the Art Structural Concept for Humic Substances. Naturwissenschaften. 80, 29-30.
- 113.Senesi, M., D'Orazio, V. y Ricca, G. (2003) *Humic acids in the first generation of EUROSOILS*.Geoderma. 116, 326-344.
- 114.Sharma, K. & Garg, V. (2018). Chapter 17 Solid-State Fermentation for Vermicomposting: A Step Toward Sustainable and Healthy Soil, Editor(s): Ashok Pandey, Christian Larroche, Carlos Ricardo

Soccol, Current Developments in Biotechnology and Bioengineering, Elsevier. 373-413, ISBN 9780444639905, https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63990-5.00017-7.

- 115.Sheoran, V., Sheoran A. y Poonia, P. (2010). *Soil reclamation of abandoned mine land by revegetation: A review.* International Journal of Soil Sediment and Water. 3(2), 13
- 116.Shi, X., Chen, Y., Wang, S., Pan, H., Sun, H., Liu, C., Liu, J., & Jiang, Z. (2016). *Phytoremediation potential of transplanted bare-root seedlings of trees for lead/zinc and copper mine tailings*. International journal of phytoremediation. 18(11), 1155–1163. https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1189399
- 117.Šimonovičová, A., Kraková, L., Pauditšová, E., & Pangallo, D. (2019). Occurrence and diversity of cultivable autochthonous microscopic fungi in substrates of old environmental loads from mining activities in Slovakia. Ecotoxicology and environmental safety. 172, 194–202. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.064
- 118.Singh, E., Raghubanshi, A. y Singh, J. (2004). Comparative performance and restoration potential of two Albizia species planted on mine spoil in a dry tropical region, India. Ecological Engineering. 22(2), 123-140.
- 119.SEGOB. (2021) Inventario Homologado Preliminar de Presas de Jales. Recuperado de <u>https://www.gob.mx/semarnat/prensa/integra-gobierno-de-mexico-inventario-homologadopreliminar-de-presas-de-jales</u>
- 120.Smidt, E., Lechner, P., Schwanninger, M., Haberhauer, G. & Gerzabek, MH (2002). Characterization of waste organic matter by FT-IR spectroscopy: Application in waste science. Applied spectroscopy. 56 (9), 1170-1175.
- 121.Soil Science Society of America. 2008. Glossary of Soil Science Terms. Soil Science Society of America, Inc, Madison, WI.
- 122.Sollins, P., Swanston, C., Kleber, M., Filley, T., Kramer, M., Crow, S., Caldwell, B., Lajtha, K. & Bowden, R. (2006). Organic C and N stabilization in a forest soil: evidence from sequential density fractionation. Soil Biol Biochem. 38, 3313–3324

- 123.Stefanowicz, A., Kapusta, P., Szarek-Łukaszewska, G., Grodzińska, K., Niklińska, M., & Vogt, R. (2012). Soil fertility and plant diversity enhance microbial performance in metal-polluted soils. The Science of the total environment. 439, 211–219. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.09.030
- 124.Stevenson, F. y Butler, J. (1969). Chemistry of humic acids and related pigments. En: Eglinton, G. y Murphy, M., (Eds.) Organic geochemistry. Springer Verlag, New York. 534-557.
- 125. Stevenson, D. (1982). Formation of the giant planets. Planetary and Space Science. 30(8), 755-764.
- 126.Stevenson, F. (1994) Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. J. Wiley and Sons, New York, NY. 1, 35-54
- 127.Sumner, M. & Miller, W. (1996). Cation Exchange Capacity and Exchange Coefficients. En: DL Sparks, AL Page, PA Helmke, RH Loeppert, PN Soltanpour, MA Tabatabai, CT Johnston, ME Sumner (Eds), Methods of soil analysis, part 3 Chemical methods. Soil Science Society of America, Inc., USA. 1201-1229.
- 128.Swift, R. (1996). Organic Matter Characterization. En: DL Sparks, AL Page, PA Helmke, RH Loeppert, PN Soltanpour, MA Tabatabai, CT Johnston, ME Sumner (Eds), Methods of soil analysis, part 3 Chemical methods. Soil Science Society of America, Inc., USA. 475-490
- 129.Tan KH. (1998). Colloidal chemistry of organic soil constituents. In: Tan KH, editor. Principles of Soil Chemistry, Marcel Dekker, New York. Third Edition. Marcel Dekker, New York; 177–258.
- 130. Talavera, O., Yta, M., Moreno, R., Dótor, A., Flores, N. y Duarte, D. (2005). *Mineralogy and geochemistry of sulfide-bearing tailings from silver mines in the Taxco, Mexico area to evaluate their potential environmental impact*. Geofísica Internacional. 1, 49-64.
- 131.Talavera, O., Armienta, M., Abundis, J. y Mundo, N. (2006). Geochemistry of leachates from the El Fraile sulfide tailings piles in Taxco, Guerrero, southern Mexico. Environmental geochemistry and health. 28, 243-55.
- 132. Talavera, O., Ruiz, J., Villaseñor, E., Guzmán, A., Cortés, A., Souto, S., & Bustos, R. (2016). Waterrock-tailings interactions and sources of sulfur and metals in the subtropical mining region of Taxco, Guerrero (southern Mexico): A multi-isotopic approach. Applied geochemistry. 66, 73-81.

- 133.Thomas, G. (1996). Soil pH and Soil Acidity. En: DL Sparks, AL Page, PA Helmke, RH Loeppert, PN Soltanpour, MA Tabatabai, CT Johnston, ME Sumner (Eds), *Methods of soil analysis, part 3 Chemical methods* 475-490. Soil Science Society of America, Inc., USA.
- 134.Tinti, A, Tugnoli, V, Bonora, S & Ornella, F (2015). Recent applications of vibrational mid-Infrared (IR) spectroscopy for studying soil components: a review. Journal of Central European Agriculture.
 16, 1-22. 10.5513/JCEA01/16.1.1535.
- 135. Tonon, G., Sohi, S., Francioso, O., Ferrari, E., Montecchio, D., Gioacchini, P., Ciavatta, C., Panzacchi,
 P., & Powlson, D. (2010). *Effect of soil pH on the chemical composition of organic matter in physically* separated soil fractions in two broadleaf woodland sites at Rothamsted, UK. European Journal of Soil
 Science. 61, 970-979. 10.1111/j.1365-2389.2010.01310.x.
- 136. Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., & Nardi, S. (2010). *Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors.* Plant signaling & behavior. 5(6), 635–643. https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11211
- 137.Trujillo, C. (2016). Caracterización de la materia orgánica en sedimentos de los canales de Xochimilco. UNAM, México.
- 138. Trujillo, C. (2016). Recuperación de suelos de relaves mineros para convertirlos en áreas verdes en la planta piloto metalúrgica de yauris-uncp. Convicciones. 2(1), 36-43.
- 139. Valdez-Hernández, M., Gil-Medina, R., López-Martínez, J., Torrescano-Valle, N., Cabanillas-Terán, N., e Islebe, G. (2018). Sucesión y Relación Vegetación-Suelo en Canteras del Sureste de México.
- 140. Veihmeyer, F. y Hendrickson, A. (1948). Soil density and root penetration. Soil Science. 65, 487– 493.
- 141.Villarroel, L., Álvarez, J., y Maldonado, D. (2003). Aplicación del Análisis de Componentes Principales en el Desarrollo de Productos. ACTA NOVA. 2(3), 399.
- 142.Wang, X., Liu, Y., Zeng, G., Chai, L., Xiao, X., Song, X., & Min, Z. (2008). Pedological characteristics of Mn mine tailings and metal accumulation by native plants. Chemosphere. 72(9), 1260–1266. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.05.001
- 143.Wang, P., Liu, Y., Menzies, N., Wehr, J., de Jonge, M., Howard, D., Kopittke, P. y Huang, L. (2016). *Ferric minerals and organic matter change arsenic speciation in copper mine tailings*. Environmental pollution. 218, 835-843.
- 144.Xu, Z., Jia, Y. & Wang, J. (2012). The Effects of Afforestation on Physical Properties of Iron Tailings.
 2nd International Conference on Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering. 1-5. https://doi: 10.1109/RSETE.2012.6260775.
- 145.Yuhan Ren, Qiang Ren, Xiulan Wu, Jinle Zheng, Ou Hai (2019). Mechanism of low temperature sintered high-strength ferric-rich ceramics using bauxite tailings, Materials Chemistry and Physics. 238, 12-19, ISSN 0254-0584, <u>https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.121929</u>.
- 146.Zalba, P., Amiotti, N., Galantini, J. & Pistola, S. (2016). Soil Humic and Fulvic Acids from Different Land Use Systems Evaluated By E4/E6 Ratios. Communications in Soil Science and Plant Analysis.
 47. 10.1080/00103624.2016.1206558.
- 147.Zapata, R. (2002). Química de los procesos pedogenéticos del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 188-263.

Anexos

Procedimientos de los métodos empleados para la caracterización química de las muestras de suelo colectadas en el relave minero "La Concha"

Anexo A. Color

Método de la Tabla Munsell. La determinación de este parámetro se basa en el igualamiento del color observado en el suelo tanto seco como húmedo con respecto al color registrado en las tarjetas de color, ubicadas en cada una de las páginas de la Tabla Munsell, donde se cotejan los parámetros de matiz (*Hue*), brillo (*Value*) e intensidad (*Chroma*) (NOM, 2002).

Procedimiento

Una pequeña cantidad de suelo se coloca en un fondo blanco. Se realiza una comparación del color de la muestra con los colores de las plantillas de la tabla Munsell y una vez localizado el color se registra el matiz, valor y croma para obtener el nombre de dicho color.

Anexo B. Textura

Método del Hidrómetro de Bouyoucos. Este método se basa en la velocidad de caída de una esfera en un líquido en reposo que dependerá, además del tamaño de las partículas que caen (r), de las densidades de las partículas (d_f) y la del medio acuoso (d_w), de la viscosidad del agua (n) y de la fuerza de la gravedad (g) (Martins, 1992). Estas variables están regidas por la Ley de Stokes:

$$V = [2 x r^{2} x (d_{f} - d_{w}) x g] / (9 x n)$$

El proceso consiste en agitar una determinada cantidad de tierra fina en fase acuosa en una probeta, esperar el tiempo suficiente para que sedimenten las arenas, extraer los limos y las arcillas mediante la succión con una pipeta de una determinada cantidad de la suspensión sobrenadante y una segunda extracción una vez transcurrido el tiempo para la caída del limo; mediante las posteriores pesadas en seco, por simple resta se obtienen los porcentajes en limos y arcillas. Los inconvenientes que presenta la aplicación de la Ley de Stokes es la forma de las partículas del suelo que distan mucho de ser esferas (especialmente las arcillas, que presentan un fuerte hábito laminar) y sus densidades dependen de la mineralogía y por la dificultad de su manejo se simplifica igualándolas a la densidad del cuarzo (Romero, 1989).

En el método se elimina la agregación de la materia orgánica con peróxido de hidrógeno al 8 o al 30% dependiendo del contenido de materia orgánica y la floculación debida a los cationes calcio y magnesio. No se eliminan otros cementantes como carbonatos. La suspensión del suelo se dispersa con oxalato de sodio y hexametafosfato de sodio. En donde el tiempo de lectura es de 40 segundos para la separación de partículas mayores de 0.05 mm (arena) y de 2 horas para partículas de diámetro mayores de 0.002 mm (limo y arena).

Reactivos

- Peróxido de hidrógeno al 8% (H₂O₂)
- Hexametafosfato de sodio ((NaPO₃)₆)
- Oxalato de sodio al 5% ($Na_2C_2O_4$)
- Alcohol amílico

Procedimiento

A 55 g de suelo previamente secado a temperatura ambiente y tamizado (malla de 2mm) se le agregan dos veces 20 ml de H_2O_2 al 8 % en caso de que el suelo no sea rico en materia orgánica o al 30 % en caso contrario y se ponen a secar en baño María.

Se coloca 50 g de suelo seco en el vaso de la batidora, se agregan 10 ml de $(NaPO_3)_6$ y 10 ml de $(Na_2C_2O_4)$. Se adiciona agua destilada hasta la segunda ranura del vaso y se agita durante 10 minutos como mínimo para muestras de textura gruesa y hasta 30 minutos para las de textura fina.

El contenido de la batidora se vacía en una probeta de 1 l y se afora hasta los 1000 ml Con una varilla de agitado se agita enérgicamente durante un minuto para que las partículas queden homogeneizadas.

Una vez mezclada la suspensión se retira la varilla y con el cronómetro se cuentan 40 segundos; mientras tanto se introduce el hidrómetro de Bouyoucos para que este se estabilice. En caso de que la suspensión tenga mucha espuma se le agregan unas gotas de alcohol amílico. Pasados los 40 segundos se mide el primer valor con el hidrómetro.

Se retira el hidrómetro y se repite la operación 2 horas después. Con los valores de las dos densidades se realizan los cálculos para obtener los porcentajes de los separados del suelo y se mide la temperatura de la suspensión en ambas lecturas.

Con los porcentajes obtenidos de arena, limo y arcilla, se determina la clase textural.

<u>Cálculos</u>

%

de limo y arcilla =
$$\frac{\text{densidad de los 40 s.}}{\text{peso de las muestras del suelo}} \times 100$$

% de arcilla = $\frac{\text{densidad de las 2 hrs.}}{\text{peso de las muestras del suelo}} \times 100$

% de arena = 100 - % de limo y arcilla

% de limo = % de limo y arcilla - % de arcilla



Figura B. Triángulo de texturas (U.S.D.A)

Anexo C. Densidad Aparente

Método del cilindro de volumen conocido. En este método se describe la compactación del suelo representando la relación entre los sólidos y el espacio poroso. La densidad aparente varía con la textura del suelo y el contenido de materia orgánica (Blanco–Sepúlveda, 2009).

Procedimiento

Se llena una probeta de 10 ml, hasta su máxima capacidad y el suelo se compacta ligeramente. La probeta se debe pesar antes y después de agregar el suelo. Esta operación se repite tres veces y con los valores obtenidos se calcula la media aritmética.

Anexo D. pH

Método potenciométrico. Este método consiste en la determinación de la actividad del ion H⁺ mediante el uso de un electrodo cuya membrana es sensitiva al H⁺. En el caso de los suelos el pH se mide potenciométricamente en la suspensión sobrenadante de una mezcla de relación suelo: agua 1:2 (NOM-021-RECNAT-2000).

Reactivos

- Agua destilada o desionizada
- Soluciones reguladoras de referencia (buffer), pH 4.00, 7.00 y 10.00 a temperatura ambiente.

Procedimiento

En un vaso de precipitados se realiza una suspensión sobrenadante de una mezcla con relación suelo: agua 1:2 (10 g de suelo y 20 ml de agua destilada). Esta mezcla se agita durante 30 minutos a velocidad constante y se deja reposar durante 15 minutos.

Posteriormente el electrodo se sumerge en la suspensión y registra el valor indicado en el instrumento. Previo a esto, el potenciómetro se calibra con soluciones amortiguadora de referencia con pH: 4.00, 7.00 y 10.00.

Clasificación	рН
Fuertemente ácido	< 5.0
Moderadamente ácido	5.1 - 6.5
Neutro	6.6 - 7.3
Medianamente alcalino	7.4 - 8.5
Fuertemente alcalino	> 8.5

Tabla D. Clasificación del suelo en cuanto a su valor de pH(NOM-021-RECNAT-2000)

Anexo E. Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

Método de Versenato (EDTA). Este método es recomendable para suelo de reacción ácida y neutra. Este método consta de cuatro etapas fundamentales (Reyes-Jaramillo, 1996):

1. El desplazamiento de los cationes totales que se encuentran adsorbidos en el complejo de intercambio, con un exceso del catión desplazante (calcio), el cual se incorpora por medio de una solución de cloruro de calcio 1N.

2.El lavado del exceso de cationes desplazantes (Ca⁺), con una solución no polar como puede ser el alcohol etílico.

3.El desplazamiento del catión adsorbido (Ca⁺) en el complejo de intercambio, por otro ion (Na⁺), mediante una solución de cloruro de sodio 1N.

4.La determinación de la concentración del catión usado como desplazante, es decir, del calcio en el último extracto, cuya media permite calcular la CIC.

Reactivos

- Solución de cloruro de calcio (CaCl₂) 1N pH 7
- Solución de cloruro de calcio 0.02N
- Solución de cloruro de sodio (NaCl) 1N pH
- Alcohol etílico al 96%
- EDTA 0.02N
- Solución buffer pH 10
- Clorhidrato de hidroxilamina (NH₂OH·HCl) al 4.5%
- Cianuro de potasio (KCN) al 2%
- Indicador negro de eriocromo T

Procedimiento

En un tubo Falcon de 15 ml con 1.0 g de suelo, se agregan 10 ml de $CaCl_2$ 1N y se agita para saturar completamente el suelo con el calcio. Esta suspensión se centrifuga durante 5 minutos a 3000 rpm, decantando el sobrenadante al final, esta operación se repite tres veces. De manera similar, se agregan 10 ml de alcohol etílico a cada tubo, se agita, se centrifuga (5 min a 3000 rpm), se desecha el sobrenadante y se repite tres veces.

Para la obtención del extracto para titular con EDTA se agregan 10 ml de NaCl 1N, se agita, se centrifuga (5 minutos a 3000 rpm), la operación se repite tres veces y a diferencia de los pasos anteriores, se conserva el sobrenadante. El sobrenadante se filtra con papel Whatman número 2 y se vacía en un matraz Erlenmeyer de 50 ml.

A cada extracto se le agregan los siguientes reactivos, en dicho orden:

- 1. 10 ml de solución buffer pH 10
- 2. 3 gotas de KCN al 2%
- 3. 3 gotas de NH₂OH[·]HCl
- 4. 3 gotas de eriocromo negro T

Finalmente se llena a su máxima capacidad una bureta de 50 ml con EDTA y se titula cada extracto hasta obtener un cambio de color púrpura al azul. La cantidad de EDTA consumida se anota para cada muestra. Por cada tres muestras se titula un blanco.

*Preparación de solución buffer pH 10 y blanco

- Solución buffer pH 10: Se disuelven 67.5 g de cloruro de amonio (NH₄Cl) en 570 ml de hidróxido de amonio ([NH₄OH]) concentrado, esta mezcla se diluye en 1000 ml de agua destilada y se ajusta a pH 10.
- Blanco: a 10 ml de CaCl₂ 0.02N se le agregan los siguientes reactivos, en dicho orden:
 10 ml de solución buffer pH 10, 3 gotas de KCN al 2%, 3 gotas de NH₂OH.HCl y 3 gotas de eriocromo negro T.

<u>Cálculos</u>

 $CIC = \underline{\qquad ml \ de \ EDTA \ x \ N \ del \ EDTA}_{g \ de \ suelo} x \ 100 = meq/100 \ g = (10) \ mmoles/Kg$

CIC meq/ 100 g	mmoles/ Kg	Interpretación
< 5	< 50	Muy baja
5 - 10	50 - 150	Baja
10 - 25	150 - 200	Media
25 - 40	200 - 400	Alta
> 40	> 400	Muy alta

Tabla E. Interpretación de la CIC (Reyes-Jaramillo, 1996)

Anexo F. Materia orgánica (MO)

Método de Walkley y Black. En este método, el porcentaje de materia orgánica se evalúa a través del contenido de carbono orgánico. Este método se basa en la oxidación del carbono orgánico por medio de una disolución de dicromato de potasio 1N y el calor de reacción que se genera al mezclarlo con ácido sulfúrico concentrado. Después de 10 minutos de espera, la mezcla se diluye en agua destilada, se adicionanácido fosfórico para evitar interferencias de Fe³⁺, se agrega difenilamina y el dicromato de potasio residual es valorado con sulfato ferroso. Por este medio, el 77% del carbón total de la MO es oxidado y se obtiene un aproximado muy aceptable del contenido de MO del suelo (NOM-021-RECNAT-2000; Reyes-Jaramillo, 1996)

$$C_6H_{12}O_6 + K_2Cr_2O_7 \longrightarrow 6CO_2 + Cr_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 6H_2O_2$$

Reactivos

- Solución de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) 1 N
- Solución de sulfato ferroso (FeSO₄) 0.5N
- Ácido sulfúrico concentrado ([H₂SO₄])
- Ácido fosfórico (H₃PO₄) al 85%

• Indicador difenilamina (C₁₁H₁₂N)

Procedimiento

En un matraz Erlenmeyer de 150 ml, se coloca 1.0 g de suelo previamente seco y tamizado (malla de 2mm), 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ 1 N, girando el matraz cuidadosamente para que entre en contacto con todo el suelo. Bajo la campana de extracción de gases, a cada matraz se le agregan 20 ml de [H₂SO₄], se gira el matraz cuidadosamente durante 1 minuto y se deja en reposo 10 minutos. Pasados los 10 minutos, se agregan 100 ml de agua destilada, 10 ml de H₃PO₄ al 85% y 3 gotas de C₁₁H₁₂N, poco antes de iniciar la titulación.

Para titular, se llena una bureta de 25 ml con la solución de FeSO₄ 0.5N. La titulación se inicia con el blanco (se requiere un blanco por cada tres muestras), se mantiene un goteo constante de la solución de FeSO₄, y al mismo tiempo, se agita el contenido del matraz para poder apreciar el cambio de color de la solución de un color verde botella o pardo, e irá cambiando a un color azul, el cual se oscurece poco a poco antes de que se realice el viraje a un color verde esmeralda brillante.

Preparación del blanco

Bajo la campana de extracción de gases, en un matraz Erlenmeyer de 150 ml, se agregan 10 ml de K₂Cr₂O₇ 1 N, 20 ml de [H₂SO₄], se agita y se deja reposar durante 10 minutos, posteriormente se agregan 100 ml de agua destilada, 100 ml de H₃PO₄ al 85% y 3 gotas de C₁₁H₁₂N, poco antes de iniciar la titulación. Cálculos

$$\frac{10(1-\underline{S})}{B}$$
 (K[^]) = % MO

Donde:

- 1. 10: mililitros de $K_2Cr_2O_7$ agregados a cada muestra.
- 2. $S = mililitros de FeSO_4$ consumidos durante la titulación.
- 3. $B = mililitros de FeSO_4$ consumidos en la titulación del blanco.
- 4. K'= factor derivado de:

1N x 0.003 x ($\frac{1.72}{0.77}$ x $\frac{(100)}{0.5g}$) = 1.34

Donde: N: normalidad de la solución de K₂Cr₂O₇.

- 1. 0.003: peso miliequivalente del carbono.
- 2. 1.72: factor de conversión del carbono a MO.
- 3. 0.5 g: peso de la muestra del suelo.

Tabla F. Interpretación del contenido de MO para muestras de suelo (NOM-021-RECNAT-2000)

% de MO para suelos volcánicos	% de MO para suelos volcánicos para suelos no volcánicos	Interpretación
< 4.1	< 0.5	Muy bajo
4.1 - 6.0	0.6 - 1.5	Bajo
6.1 - 10.9	1.6 - 3.5	Medio
11.0 - 16.0	3.6 - 6.0	Alto
> 16.1	> 6.0	Muy Alto

Anexo G. Extracción de ácidos húmicos y fúlvicos (AH y AF)

Método de Celi, *et al.*, 1997 modificado. El principio de este método se basa en la solubilidad de la fracción del humus conocida como sustancias húmicas (SH). Las fracciones que se obtienen de las SH con base en su solubilidad en disoluciones alcalinas o ácidas son: ácidos húmicos (AH) que son solubles en soluciones alcalinas e insolubles en soluciones ácidas, los ácidos fúlvicos (AF) son solubles tanto en soluciones ácidas como en soluciones ácidas y las huminas (Hm) que son insolubles en soluciones alcalinas y ácidas (Martínez-Guerra, 2017)

Reactivos

- Solución de pirofosfato de sodio (Na₄P₂O₇) 0.1 M
- Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1M
- Ácido clorhídrico (HCl) 6 M
- Nitrógeno (N₂)

Procedimiento

Se colocan 1.5 g de suelo seco y tamizado (malla de 2mm) en un tubo Falcon de 15 ml, se le agregan 12.5 ml de una solución alcalina (NaOH 0.1 M y Na₄P₂O₇ 0.1 M relación 1:1), se agita y se deja reposar durante 24 horas bajo atmósfera de N₂ a temperatura ambiente. Pasadas las 24 horas, los tubos se centrifugan durante 30 minutos a 3000 rpm, se conserva el sobrenadante y se desecha el botón. El sobrenadante se acidifica con HCl 6 M hasta pH 1 y se deja reposar durante 12 horas bajo atmósfera de N₂. Posterior a las 12 horas los tubos se centrifugan a 3000 rpm durante 30 minutos, El sobrenadante corresponde a la fracción de AF, este se conserva en recipientes herméticos. El precipitado corresponde a la fracción de AH, los cuales se disuelven en 15 ml de la solución alcalina previamente preparada, se agitan

los tubos y se dejan reposar durante 4 horas bajo atmósfera de N₂. La mezcla se acidifica nuevamente con HCl 6 M hasta pH 1, se esperan un par de minutos hasta que los AH adquieran una consistencia de gel. Se centrifugan las muestras durante 30 minutos a 3000 rpm, el sobrenadante se desecha y el precipitado se lava con agua destilada de 4 a 5 veces, finalmente los AH se dejan suspendidos en agua destilada durante 24 horas. Una vez transcurridas las 24 horas, los AH se colocan en crisoles de porcelana y se secan a baño María a 50 ° C, ya secos se conservan en bolsas de cierre hermético previamente etiquetadas.

Anexo H. Purificación de ácidos fúlvicos (AF)

Método Kononova. Es uno de los métodos más utilizados y consiste en la extracción sucesiva de las fracciones orgánicas del suelo además de que permite extraer y analizar dichas fracciones sin alterar sus características químicas y físicas. Este método depende de los tamaños, pesos moleculares y grado de condensación de los AH y AF (Cabrera *et al.*, 2002).

Reactivos

- Solución de agua destilada-acetona relación 1:1
- Solución HCl-HF-H₂O
- Solución de NH₄OH al 7%
- Carbón activado puro

Procedimiento

Sobre un papel Whatman número 2 se coloca una mezcla espesa de carbón activado y agua destilada de manera que se forme una capa uniforme sin poros. Con ayuda de un embudo buchner y un matraz kitasato, se realiza una filtración a vacío vertiendo los AF resultantes de la extracción sobre el papel Whatman y la mezcla de carbón y agua. Posteriormente se lava la mezcla con agua destilada y con la solución de acetona-agua, esta operación se repitió 3 veces. El papel del embudo se coloca en un recipiente con 100 ml de solución de HCl-HF-H₂O se deja durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se filtra a vacío para eliminar los restos de la solución y el papel se lava varias veces con agua destilada. Para desorber los AF del carbón activado se vierten 150 ml de NH₄OH al 7% en el papel y se filtra a vacío, finalmente esta solución se evapora a temperatura ambiente. Los AF puros y secos se conservan en bolsas de cierre hermético previamente etiquetadas.

Preparación de solución HCl-HF-H₂O

Se mezcla 1 ml [HCl] con 1 ml de [HF] y se afora con agua destilada a 100 ml

Anexo I. Índice de humificación

Método Kononova- Belchikova. Este método se basa en el grado de condensación de los AH y AF (Cabrera *et al.*, 2002), el cual, con ayuda de espectroscopia de luz ultravioleta se lee la absorción o emisión de radiación electromagnética de una longitud de onda especifica de la materia y la interacción es tan específica que nos permite identificar el tipo y la cantidad de materia que esta interactuando (Gómez, 2006).

<u>Reactivos</u>

- Solución de NaOH 0.1 N
- Solución de 500 ppm de NaOH 0.1 N
- Solución de 2000 ppm de NaOH 0.1 N

Procedimiento

Los AH secos se disuelven en soluciones de 500 ppm de NaOH 0.1N. El espectrofotómetro se calibra con un blanco de NaOH 0.1N y se lee a una longitud de onda

de 465 nm y 665 nm. Los datos obtenidos se anotan y con ellos se calcula el coeficiente E_4/E_6 .

Cálculos

Donde:

 $E_4/E_6 = \frac{\lambda a \ 465 \ nm}{\lambda a \ 665 \ nm}$

 λ : longitud de onda

Anexo J. Caracterización de ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF)

Espectroscopia de infrarrojo (IR)

En el espectro electromagnético, la región del infrarrojo (IR) está dividida en tres regiones; cercano (NIR), medio (MIR) y lejano (FIR) (Figura J). Analíticamente, el infrarrojo medio tiene un uso extendido en el análisis de materiales industriales y agrícolas, en el proceso de control de calidad, en la identificación de impurezas y contaminantes orgánicos, entre otros (Martínez, 2007). Su fundamento radica en que los enlaces covalentes de las moléculas orgánicas tienen un movimiento vibracional. La absorción o emisión de la energía en esta zona del infrarrojo (4000-400 cm⁻¹) ocurre cuando la frecuencia de radiación que interactúa con la molécula tiene la misma magnitud que la frecuencia de vibraciones del enlace (Bellamy, 2013).



Figura J. Espectro electromagnético que muestra la sección del infrarrojo cercano (NIR), medio (MIR) y lejano (FIR).

Reactivos

• Bromuro de potasio (KBr).

Procedimiento

Instrumento. Espectrómetro FT-IR Spectrum two Perkin Elmer con cuatro barridos (scans) para la absorción de fondo y para las muestras y un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) con cristal de diamante. Software Spectrum 10.4.4 entre 4000 y 400 cm⁻¹. Resolución: 4 cm⁻¹. Velocidad de escáner: 10kHz.

Pastilla de KBr: Se mezcla aproximadamente 5 mg de muestra con 100 mg de KBr y se tritura en un mortero de ágata hasta obtener un polvo fino, la muestra se coloca en una matriz de acero inoxidable y se comprime en una prensa hidráulica, para obtener una pastilla de KBr, la cual se analiza en un espectrofotómetro IR. Los espectros obtenidos se describen con apoyo de la información contenida en tablas de correlación para espectroscopia de infrarrojo (IR).

Anexo K. Análisis estadístico

Correlación lineal

.

• Pruebas de contraste de normalidad Shapiro-Wilks

Parámetro	p-value
pН	0.005531
МО	0.0003284
CIC	0.0002685

• Matriz de correlación

	pН	МО	CIC	D.A
pН	1.00	0.01	-0.47	-0.03
МО	0.01	1.00	0.35	-0.76
CIC	-0.47	0.35	1.00	-0.47
D.A	-0.03	-0.76	-0.47	1.00

	рН	МО	CIC	D.A
рН	0.00	0.95	0.03	0.91
МО	0.95	0.00	0.11	0.00
CIC	0.03	0.11	0.00	0.03
D.A	0.91	0.00	0.03	0.00

• Significancia. Cuando la significancia es mayor a 0.05 la correlación de las

variables pudo deberse al azar

Análisis de componentes principales

Importancia de los componentes

	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4
Desviación estándar	1.3105	1.2264	0.6690	0.5749
Proporción de la varianza	0.4293	0.3760	0.1119	0.0826
Proporción acumulativa	0.4293	0.8054	0.9173	1.0000



Figura K. Importancia de los componentes principales