

Conference Paper

Application of Sustainable Remediation Techniques for Heavy Metal Reduction in Polluted Rivers in Mining Zones: Study Area Ponce Enriquez

Aplicación de Técnicas Sostenibles de Biorremediación para la Reducción de Metales Pesados en Ríos Contaminados en Zonas Mineras: Área de Estudio Ponce Enríquez.

IX CONGRESO
INTERNACIONAL DE
INVESTIGACIÓN DE LA RED
ECUATORIANA DE
UNIVERSIDADES Y
ESCUELAS POLITÉCNICAS Y
IX CONGRESO
INTERNACIONAL DE
CIENCIA TECNOLOGÍA
EMPRENDIMIENTO E
INNOVACIÓN
SECTEI-ESPOCH 2022

P. Almeida-Guerra^{1*}, J. Pindo², M. Hernandez³, and J. Coronel⁴

¹Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Campus Gustavo Galindo km 30.5 Via Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador

²Facultad de Ingeniería en Ciencias de la Tierra, Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Campus Gustavo Galindo km 30.5 Via Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador

³University of Colorado, Boulder, Estados Unidos

⁴Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Campus Gustavo Galindo km 30.5 Via Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador

ORCID

P. Almeida-Guerra: <https://orcid.org/0000-0003-1507-7011>

Corresponding Author: P.
Almeida-Guerra; email:
palmeida@espol.edu.ec

Published: 9 November 2023

Production and Hosting by
Knowledge E

© P. Almeida-Guerra
et al. This article is distributed
under the terms of the
[Creative Commons
Attribution License](#), which
permits unrestricted use and
redistribution provided that
the original author and
source are credited.

Abstract

Mining activity in Ecuador is primarily artisanal and small-scale. Rivers near the mining county of Camilo Ponce Enriquez have been severely affected by this type of mining. A field study was conducted encompassing 29 sites on the rivers Siete, Fermin, and Pagua during sampling campaigns that took place in both dry (December) and wet seasons (February). Physicochemical parameters and heavy metal concentrations were measured to enable environmental characterization of the rivers. Results revealed that most of the sampled sites had bad water quality and exceeded the environmental limits of heavy metal concentrations set by the Ecuadorian government. A parallel pilot investigation was performed for reducing the heavy metal concentrations in water ecosystems polluted by mining activities using bioremediation techniques. The bioremediation technique applied in the study used bacteria from a wastewater digester and sugarcane bagasse as a carbon source to support the bacterial community. Sulfide was measured to monitor bacterial activity in experimental bioreactors containing local acid mine drainage (AMD). The results obtained were encouraging, as a significant decrease in heavy metal concentration was observed to nearly the level of Ecuadorian environmental regulations for Al, Cd, Cu, Fe, Pb, and Zn concentrations in freshwater in a set of bioreactors.

Keywords: acid drainage, artisanal mining, bioremediation, heavy metals, pollution.

Resumen

La actividad minera en el Ecuador es principalmente artesanal y de pequeña escala. Los ríos cercanos al área minera de Camilo Ponce Enríquez se han visto severamente afectados por este tipo de minería. Se realizó un estudio de campo en 29 sitios sobre los ríos Siete, Fermín y Pagua durante campañas de muestreo que se realizaron tanto en la época seca (diciembre) como en época húmeda (febrero).

 OPEN ACCESS



Se midieron parámetros fisicoquímicos y concentraciones de metales pesados para permitir la caracterización ambiental de los ríos. Los resultados revelaron que la mayoría de los sitios muestreados tienen agua de mala calidad y excedieron los límites ambientales de concentración de metales pesados establecidos por el gobierno ecuatoriano. También se realizó una investigación piloto paralela destinada a reducir las concentraciones de metales pesados en ecosistemas acuáticos contaminados por actividades mineras utilizando técnicas de biorremediación. La técnica de biorremediación aplicada en el estudio utilizó bacterias de un digestor de aguas residuales y bagazo de caña de azúcar como fuente de carbono para apoyar a la comunidad bacteriana. Se midió el sulfuro para controlar la actividad bacteriana en biorreactores experimentales que contenían drenaje ácido minero (AMD) local. Los resultados obtenidos son alentadores ya que en un conjunto de biorreactores se observó una disminución significativa de las concentraciones de algunos metales pesados alcanzando casi en su mayoría el nivel permisible según las regulaciones ambientales ecuatorianas para las concentraciones de Al, Cd, Cu, Fe, Pb y Zn en agua dulce.

Palabras Clave: drenajes ácidos, minería artesanal, biorremediación, metales pesados, contaminación.

1. Introducción

En los últimos años, el Gobierno ecuatoriano ha brindado un importante apoyo al desarrollo minero del país debido a las abundantes reservas de oro, plata y cobre que tiene el Ecuador. El Ministerio de Energía y Minas de Ecuador fue creado en 2015 con el fin de implementar y ejecutar mejor las nuevas políticas mineras que tienen como objetivos principales: incrementar la productividad del sector minero; incrementar la inclusión de actores mineros en el territorio nacional; reducir el impacto ambiental y social en las actividades mineras; y, elevar el nivel de modernización, investigación y desarrollo tecnológico en el sector minero. La Ley de Minería ecuatoriana vigente clasifica la minería en cuatro clases según la producción diaria de la mina: la artesanal o de subsistencia, la pequeña minería, la mediana minería y la minería a gran escala [1]. En la actualidad, la minería en el Ecuador es principalmente Minería Artesanal y de Pequeña Escala (MAPE) siendo el oro el metal más extraído en el país, representando aproximadamente el 85% de la producción nacional total [2,3].

La definición de pequeña minería según la Ley de Minería ecuatoriana es aquella cuya explotación se realiza de forma directa y cuya capacidad de producción para minerales metálicos sea hasta 300 toneladas por día en minería subterránea; hasta 1000 toneladas por día en minería a cielo abierto; y hasta 1500 metros cúbicos por día en minería aluvial y para minerales no metálicos hasta 1000 toneladas por día. [4].

La MAPE ecuatoriana se realiza con una vigilancia técnica o ambiental mínima, lo que ha provocado graves daños ambientales, especialmente en los ecosistemas acuáticos [5,6,7,8]. Los vertederos mineros sin tratamiento, caracterizados por altas concentraciones de metales pesados que se vierten en los ríos cercanos a las zonas



mineras, degradan la calidad del agua en dichos ríos. La degradación del agua es uno de los principales impactos asociados con la MAPE. Según Adler [7], la MAPE reduce la calidad del agua de cuatro maneras principales: 1) contaminación causada por la escorrentía de desechos mineros de pilas de relaves y estanques de relaves, (2) contaminación causada por el vertido ilegal de desechos mineros en los sistemas de agua, (3) contaminación gradual drenaje causado por sitios de manejo de desechos mal sellados, y (4) aumentos en la erosión del suelo asociados con el cambio de uso de la tierra. En la mayoría de las zonas mineras ecuatorianas es común encontrar algunos, si no todos, estos problemas [7].

Históricamente, las altas concentraciones de mercurio en los ríos siempre se han tomado como el indicador ambiental más relevante de la contaminación minera [7,9,10,11,12,13]. Sin embargo, los metales pesados como el arsénico, el cadmio, el cobre, el plomo, el manganeso y el zinc que se encuentran en el agua también están relacionados con la contaminación minera y tienen un impacto significativo en el medio ambiente y la salud humana [5,14]. El presente estudio considera una variedad de contaminantes de metales pesados y tiene como objetivo: 1) determinar la calidad del agua de los ríos más importantes en el área de estudio de Ponce Enríquez al momento del muestreo y 2) aplicar técnicas de biorremediación a escala piloto como un intento de reducir las concentraciones de metales pesados utilizando subproductos industriales locales y asequibles como el bagazo de caña de azúcar, el cual se bastante abundante en la zona debido a los ingenios azucareros que se encuentran en el sector.

Las actividades mineras causan graves daños ambientales a nivel mundial [6]. Uno de los mayores retos de las actividades mineras consiste en tratar los drenajes ácidos mineros [15,16,17], conocidos por sus siglas en Inglés como AMD (Acid Mine Drainage), que se generan debido a la oxidación de los sulfuros minerales comúnmente desechados durante estas actividades y que posteriormente son descargados en las escorrentías.

Los AMD poseen altas concentraciones de metales pesados como aluminio (Al), cadmio (Cd), cobre (Cu), plomo (Pb), zinc (Zn), los cuales se encuentran en un estado altamente soluble, convirtiéndose en grandes contaminantes del agua [15]. Lograr una remediación eficiente de los efluentes mineros, así como garantizar la sostenibilidad del mecanismo empleado ha sido un verdadero desafío, por lo cual esta investigación se basa en el aprovechamiento de subproductos industriales (desechos-residuos), como el bagazo de la caña de azúcar aplicado a técnicas de biorremediación para lograr la inmovilización de los metales pesados y remediación del medio acuático afectado.

Se plantea la aplicación de esta metodología en el área de Ponce Enríquez (Ecuador) caracterizada por actividades de minería artesanal y con graves problemas de contaminación en los ríos cercanos a este sector minero [6,18,19,20,21]. Estudios previos han determinado concentraciones de metales pesados por encima de los límites permisibles tanto nacionales como internacionales no solo en los ríos del sector sino también en muestras de agua potable y en sedimentos [18]. Como parte de este artículo se presentarán los resultados obtenidos en esta investigación en relación a la disminución de las concentraciones de metales pesados como aluminio, cadmio, cobre, plomo y zinc mediante la aplicación de la técnica de biorremediación y uso de subproductos industriales previamente descrita.

2. Materiales y Métodos:

2.1. Área de estudio

La Minería Artesanal de Pequeña Escala (MAPE) en Ecuador se concentra en cuatro provincias: Esmeraldas, Azuay, El Oro y Zamora Chinchipe. El área de estudio de Camilo Ponce Enríquez es un cantón minero ubicado en la provincia del Azuay, en la latitud $3^{\circ}03'S$ y longitud $79^{\circ}44'O$ (Figura 1) con una superficie de $105,94 \text{ km}^2$ y una población aproximadamente de 22000 habitantes. Las actividades mineras comenzaron en Ponce Enríquez en 1983 y desde entonces se han incrementado rápidamente. En la actualidad, un tercio de su territorio se utiliza para la minería y la mayor parte de su población activa trabaja en actividades relacionadas con la minería [22].



Figura 1

Localización de las Provincias Ecuatorianas con Mayor Producción de Minería Artesanal de oro y Ubicación del Área de Estudio Camilo Ponce Enríquez.



El área de Ponce Enríquez está drenada por varios ríos, entre los más importantes están los ríos Siete, Tenguel, Bonito y Pagua, que fluyen de este a oeste (Figura 2). El uso de suelos en el lado este está caracterizado principalmente por actividades de agricultura donde se observan campos agrícolas que contienen banano, cacao y otras frutas tropicales y hacia el mar hacia el oeste se caracteriza principalmente por actividades de cultivo de camarones [6,23]. La geografía y el uso de suelos del área a menudo ha generado conflictos entre los diferentes actores (agricultores, camaroneros y mineros principalmente) que comparten la cuenca hidrográfica debido a la contaminación del agua por las actividades mineras que se llevan a cabo aguas arriba [5,9].

La mayoría de los sitios mineros están ubicados en la cuenca del río Siete y en menor medida en la cuenca del río Tenguel [6] (Figura 2). Estudios previos realizados en Ponce Enríquez muestran un deterioro en la calidad del agua de los ríos locales caracterizado por un pH bajo (condiciones acídicas), altas concentraciones de sólidos disueltos, metales, metaloides y oligoelementos [6,9,18,23]. Resultados de investigaciones más recientes siguen confirmando la mala calidad del agua en los ríos del sector, principalmente debido a las altas concentraciones de metales pesados como arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn), tanto en el agua como en los sedimentos [18,20,21].

2.2. Recolección de muestras

Como parte de esta investigación se llevó a cabo un estudio de campo donde se tomaron muestras de agua en 29 sitios localizados sobre los ríos Siete, Fermín, Villa, Margarita, Pagua y Estero Guanache. Los ríos mencionados drenan el sector minero de Bella Rica ubicado en el área de estudio de Ponce Enríquez (Figura 2). Para el estudio de campo se realizaron dos campañas de muestreo, una durante la estación seca en diciembre de 2015 y la otra durante la estación húmeda en febrero de 2016. Se realizaron mediciones fisicoquímicas, análisis de metales pesados y muestreo de macroinvertebrados para permitir la caracterización ambiental de los ríos muestreados durante estas dos temporadas climáticas. A continuación, se describen los métodos utilizados para realizar los muestreos.

2.3. Caracterización de la Calidad del Agua

Parámetros como temperatura, pH, turbidez, Oxígeno Disuelto (OD) y conductividad se midieron directamente en los 29 sitios seleccionados para los muestreos. Las mediciones se llevaron a cabo utilizando multiparámetros portátiles marca HACH modelo HI

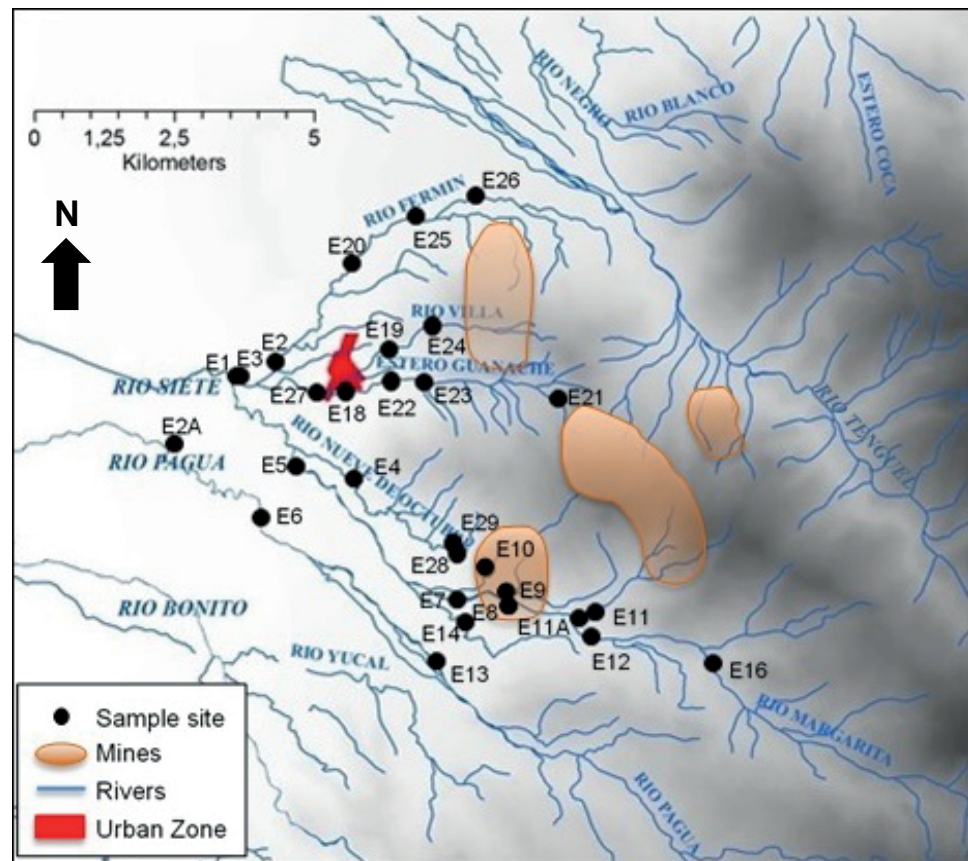


Figura 2

Hidrología de Ponce Enríquez y Localización de los Sitios de Actividades de MAPE y Sitios de Muestreo.

9828 y HANNA modelo HQ 40d. Estos instrumentos permiten determinar rápidamente la calidad del agua en los ríos muestreados mediante las mediciones obtenidas de los parámetros mencionados inicialmente.

Las muestras de agua tomadas en los sitios de muestreos se recolectaron en recipientes plásticos de 100 ml por triplicado. Luego las muestras etiquetadas fueron colocadas en hieleras para garantizar la preservación de estas hasta llevar a cabo los análisis respectivos. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Aguas de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Con estas muestras de agua se determinaron parámetros como Sólidos Suspendidos Totales (SST), nitrógeno total, fósforo total, fosfato, nitratos, nitritos, alcalinidad, amoníaco y Demanda Química de Oxígeno (DQO).

La caracterización de la calidad del agua mediante la aplicación del índice BMWP/Col por sus siglas en inglés Biological Monitoring Working Party es parte de la elaboración de otro artículo científico.



2.4. Análisis de Metales Pesados

Las muestras de agua destinadas para análisis de metales pesados se tomaron en recipientes de plástico de 100 ml por triplicado. Luego en el laboratorio, cada muestra tomada se subdividió en una muestra filtrada de 30 ml y una muestra sin filtrar de 30 ml. Las muestras fueron filtradas en el Laboratorio de Aguas de la Espol usando filtros de jeringa de celulosa MilliporeTM de 0,45 μm . Los dos tipos de muestras fueron luego conservadas mediante la adición de HNO_3 al 2 % v/v para su posterior análisis de metales pesados en el Laboratorio de Geología de la Universidad de Colorado (Boulder). Se analizaron un total de 57 elementos con un espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente Perkin Elmer SCIEX (Elan DRC-e) utilizando Indium como solución estándar. Cuatro soluciones estándares (blanco, 100 ppb, 500 ppb y 1000 ppb) fueron utilizadas para la calibración del instrumento. Se agregaron estándares de concentraciones más altas durante la ejecución para ampliar las calibraciones de elementos seleccionados según fuera necesario. Esta investigación se enfoca principalmente en 6 metales pesados: aluminio (Al), cadmio (Cd), cobre (Cu), hierro (Fe), plomo (Pb) y zinc (Zn) que se encontraron en los ríos muestreados en concentraciones significativamente altas y los cuales excedieron los límites ambientales ecuatorianos para concentraciones de metales pesados en agua dulce según indica la normativa ambiental en el Acuerdo Ministerial No. 028 del Registro Oficial No. 270 (Tabla 3: Criterios de Calidad Admisibles para la Preservación de la Vida Acuática y Silvestre en Aguas Dulces, Marinas y de Estuarios).

2.5. Biorreactores – Estudio piloto

La metodología aplicada para la remoción de los metales pesados en el agua se basa en la aplicación de técnicas de biorremediación [24]. En este caso el proceso de biorremediación se llevó a cabo utilizando bacterias reductoras de sulfato o SRB (por sus siglas en inglés) y subproductos agrícolas, como el bagazo de caña de azúcar. El bagazo de caña de azúcar cumplió dos objetivos en el proceso: 1) como fuente de alimento para la colonia bacteriana que se utilizó para esta investigación y 2) como matriz de retención de los metales pesados. La publicación de [25] muestra resultados satisfactorios de la aplicación de esta técnica para el tratamiento pasivo de los AMD.

El bagazo de caña de azúcar, el cual es un producto de desecho que se obtiene una vez que se extrae la caña de azúcar se lo obtuvo de un ingenio azucarero local cercano al área de estudio. La comunidad bacteriana que se utilizó para llevar a cabo la biorremediación fueron SRB. Este tipo de bacterias se hallan fácilmente en plantas de



tratamiento, en este caso las bacterias se obtuvieron de un digestor anaeróbico de una mina ubicada en el área de estudio. Las SRB y el bagazo de caña de azúcar fueron los elementos principales para la remediación del agua y remoción de metales pesados en el estudio piloto que se llevó a cabo como parte de esta investigación.

El bagazo de caña de azúcar fue cultivado con las SRB para iniciar la actividad bacteriana en los biorreactores. Aproximadamente 500 g de bagazo de caña de azúcar fueron cultivados con las SRB que se encontraron en el agua tomada del digestor de una mina local. El cultivo consistió en impregnar el bagazo de caña de azúcar con el agua del digestor que contiene las SRB y dejar el cultivo a temperatura ambiente (aproximadamente 32 °C) por un lapso de 48 horas. Luego de las 48 horas el bagazo cultivado con las SRB fue dividido en los biorreactores según las características de estos según como se indica en la tabla a continuación (Tabla I).

Las SRB obtienen su energía al oxidar compuestos orgánicos (por ejemplo, bagazo de caña de azúcar) mientras reducen el sulfato (SO_4^{2-}) a sulfuro de hidrógeno (H_2S) [26]. Estos organismos “respiran” sulfato en lugar de oxígeno mediante su proceso de respiración anaeróbica. El mecanismo básico de precipitación de metales pesados se puede simplificar de la siguiente manera:

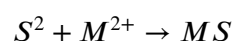
Las SRB producen sulfuro durante su actividad bacteriana como respiración y alimentación.

Los sulfuros se combinan con los metales pesados contenidos en los AMD y que se encuentran en un estado muy soluble

Los metales pesados se transforman en sulfuros metálicos y pasan a un estado insoluble

Se produce la precipitación de sulfuros metálicos y se pueden eliminar los contaminantes.

La siguiente expresión sintetiza de manera muy sencilla la reacción que se describe anteriormente (donde: S^{2-} = sulfuros; M^{2+} = metales pesados en estado soluble altamente contaminantes y MS = sulfuros metálicos estado insolubles y que pueden ser removidos):



En general, los sulfuros metálicos son notablemente insolubles en un rango de pH relativamente amplio y muchos son estables en condiciones ácidas. Estos sulfuros metálicos se forman rápidamente, pero se disuelven lentamente. En este estado, los sulfuros metálicos (sólidos) pueden quedar atrapados fácilmente en la



estructura que proporciona el bagazo de caña de azúcar y de esta manera eliminarse.

Se preparó un conjunto de siete biorreactores diferentes (Tabla I) en el laboratorio para probar la reducción de las concentraciones de metales pesados de los AMD muestreados en una mina local. Los biorreactores incluyeron dos reactores idénticos (AMD + bagazo cultivado con SRB) y tres reactores de control que contuvieron subconjuntos de los materiales de los dos reactores principales. Además, se instalaron dos reactores con características diversas, uno con un biosurfactante, elaborado en los laboratorios de la ESPOL, para comparar su efectividad de remoción de metales pesados y otro reactor donde se utilizó una colonia de bacterias *Bacillus Subtilis* en lugar de las SRBS para cultivar el bagazo que se colocó en dicho reactor. Los biosurfactantes consisten en compuestos tensioactivos creados a base de micro-organismos y que actualmente se utilizan como un mecanismo para la remediación ambiental [27].

Se realizaron mediciones semanales de la concentración de sulfuro producido en los biorreactores como indicador de la actividad bacteriana generada en los mismos, para lo cual se aplicó el método de la Environmental Protection Agency EPA#376.2. También se midió el pH semanalmente para verificar el grado de alcalinidad/acidez de los biorreactores.

Se tomaron muestras de agua de cada biorreactor y se conservaron con ácido nítrico para su posterior procesamiento y determinación de concentraciones de metales pesados.

Tabla 1

Características de los Biorreactores Instalados en el Laboratorio.

Biorreactor	Características
Reactor uno (R1)	AMD + bagazo cultivado con SRB
Reactor dos (R2)	AMD + bagazo cultivado con SRB
Reactor tres (R3)	AMD
Reactor cuatro (R4)	AMD + bagazo no cultivado con SRB
Reactor cinco (R5)	AMD + aguas residuales con SRB del digestor anaeróbico
Reactor seis (R6)	AMD + biosurfactante
Reactor siete (R7)	AMD + bagazo cultivado con bacteria tipo <i>Bacillus Subtilis</i>

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización de la Calidad del Agua en los Sitios Muestreados

Tomando como referencia los estándares ambientales ecuatorianos referidos en el Acuerdo Ministerial No. 028 para pH en agua dulce (6,5 – 9), la mayoría de las estaciones muestreadas durante la época húmeda (febrero) cumplieron con los estándares ambientales, con excepción de las estaciones 13, 14, 15 y 21. Por el contrario, durante la época seca (diciembre) la mayoría de las estaciones muestreadas mostraron condiciones acídicas con valores por debajo de 6.5 y no cumplieron con los estándares ambientales que figuran en el acuerdo mencionado (Figura 3). Esta diferencia en los valores muestreados durante las dos estaciones climáticas donde se observaron mejores condiciones ambientales y mayor cumplimiento de la normativa ambiental en la época húmeda podría deberse a la dilución que se produce en el agua de los ríos durante la estación húmeda debido a las lluvias y al aumento del caudal de los ríos. Se utilizó como referencia del cumplimiento de los límites admisibles los que se mencionan en el Acuerdo Ministerial No. 028 del Registro Oficial No. 270 que aparecen en la tabla 3 para Criterios de Calidad Admisibles para la Preservación de la Vida Acuática y Silvestre en Aguas Dulces, Marinas y de Estuarios.

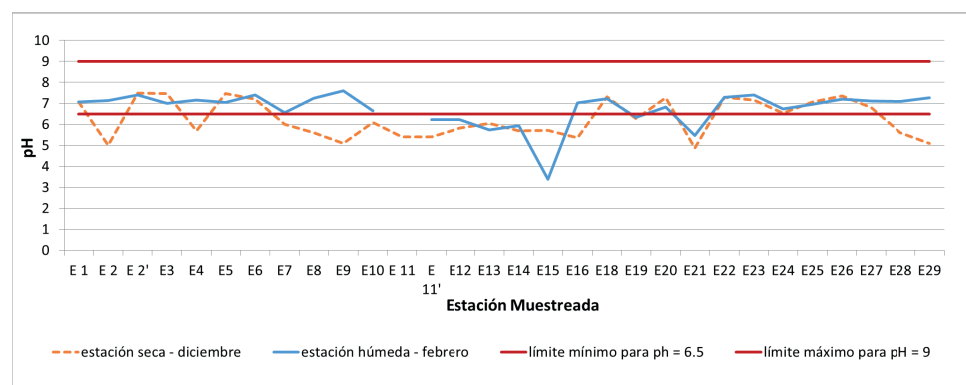


Figura 3

Mediciones de pH realizadas en las Estaciones Muestreadas Durante la Época Húmeda en el mes de Febrero y la Época Seca en el mes de Diciembre.

El Oxígeno Disuelto (OD) medido en todas las estaciones muestreadas cumplió con los estándares ambientales de un mínimo de 5 mg/L (Figura 4) tanto durante la estación seca y la estación húmeda. Es posible decir que los niveles de OD que se encontraron a lo largo de los ríos locales fueron aceptables y adecuados para sustentar la vida acuática a pesar de sus condiciones acídicas presentes en especial durante la estación seca. Se

utilizó como referencia del cumplimiento de los límites admisibles los que se mencionan en el Acuerdo Ministerial No. 028 del Registro Oficial No. 270 que aparecen en la tabla 3 para Criterios de Calidad Admisibles para la Preservación de la Vida Acuática y Silvestre en Aguas Dulces, Marinas y de Estuarios.

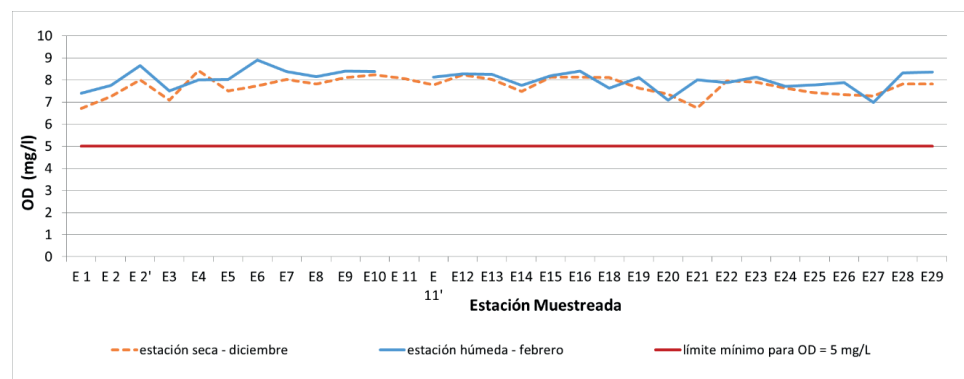


Figura 4

Oxígeno Disuelto Medido en las Estaciones Muestreadas Durante la Época Seca y Época Húmeda.

Se analizaron muestras de agua recolectadas en las estaciones seleccionadas para determinar las concentraciones de metales pesados tanto en la época seca como la época húmeda. Los resultados revelaron que las concentraciones en todos los sitios muestreados excedían los límites permisibles en agua dulce para metales pesados como el Al, Cu, Fe y Pb que se mencionan en el Acuerdo Ministerial No. 028 según como se observa en la (Figura 5). Las concentraciones de Cd y Zn estuvieron por debajo de los estándares ambientales ecuatorianos en la mayoría de los sitios muestreados, excepto en los sitios 11, 15, 21, 23 para el Cd y los sitios 11, 15 y 29 para el Zn especialmente durante la época húmeda. Los límites admisibles de referencia se basan en el Acuerdo Ministerial No. 028 del Registro Oficial No. 270 que aparecen en la tabla 3 sobre Criterios de Calidad Admisibles para la Preservación de la Vida Acuática y Silvestre en Aguas Dulces, Marinas y de Estuarios.

Una vez que se llevó a cabo la caracterización ambiental del área de estudio se determinó que no se cumplieron los estándares ambientales que establece la normativa ecuatoriana en cuanto a la calidad del agua dulce para preservación de la vida acuática y silvestre en la mayoría de las estaciones muestreadas en lo que se refiere a pH ya que se registraron condiciones ácidas en los ríos especialmente durante la época seca. Las concentraciones de metales pesados como Al, Cu, Fe, Pb exceden los límites permisibles en todas las estaciones muestreadas tanto para la época seca y húmeda; los metales pesados como el Cd y Zn también exceden los límites permisibles en algunas de las estaciones muestreadas en especial en aquellas más cercanas a las

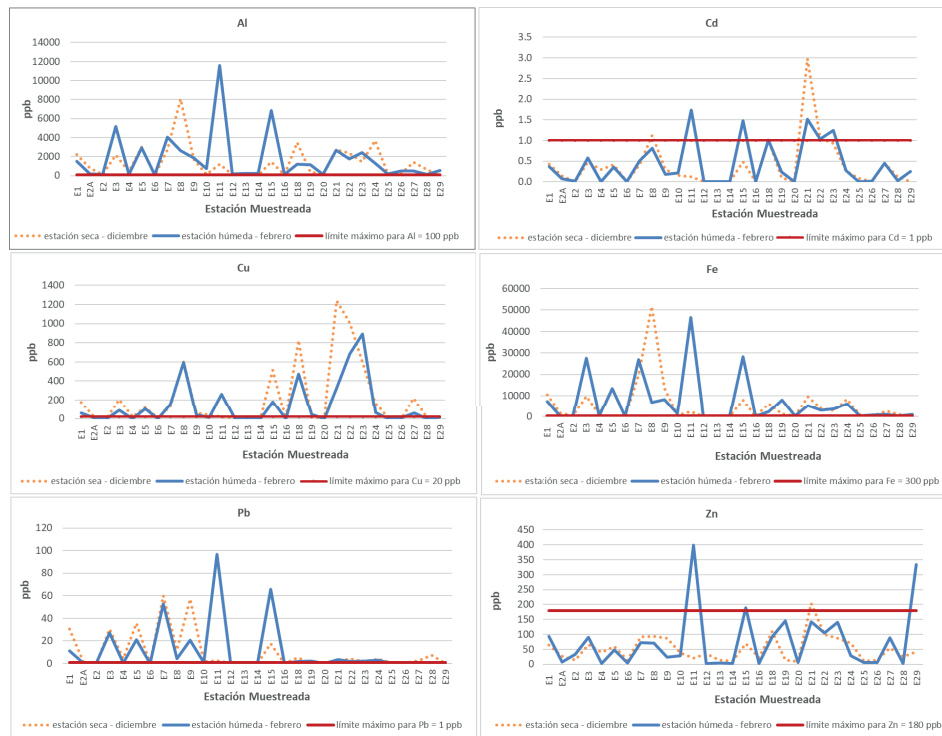


Figura 5

Concentraciones de Metales Pesados Medidos en las Estaciones Muestreadas en el Área de Estudio de Ponce Enríquez para la Época Seca y Época Húmeda.

minas observándose valores por encima de los límites permisibles particularmente durante la época húmeda.

3.2. Experimentos de Laboratorio para Reducción de Metales Pesados - Biorreactores

Se instalaron siete biorreactores en el Laboratorio de Aguas de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) para realizar las pruebas correspondientes de biorremediación. Las características de los siete biorreactores se pueden observar en la (Tabla I). Se realizaron mediciones semanales de la producción de sulfuro y niveles de pH en los biorreactores, y también se tomaron muestras de agua para análisis de metales pesados en los mismos.

Todos los biorreactores fueron monitoreados continuamente por un período de 10 meses (febrero – noviembre de 2016). Este período de monitoreamiento reveló tendencias en el comportamiento de los reactores que se detallan a continuación.



3.2.1. pH

Los valores de pH aumentaron de tres a más de siete en los reactores uno, dos y cuatro que contenían bagazo, cambiando así de condiciones ácidas a alcalinas, lo cual es crítico para la remediación de aguas contaminadas con AMD (Figura 6). Los otros biorreactores no mostraron un cambio significativo en los niveles de pH registrados inicialmente conservando por ende sus condiciones acídicas originales con valores menores a cuatro.

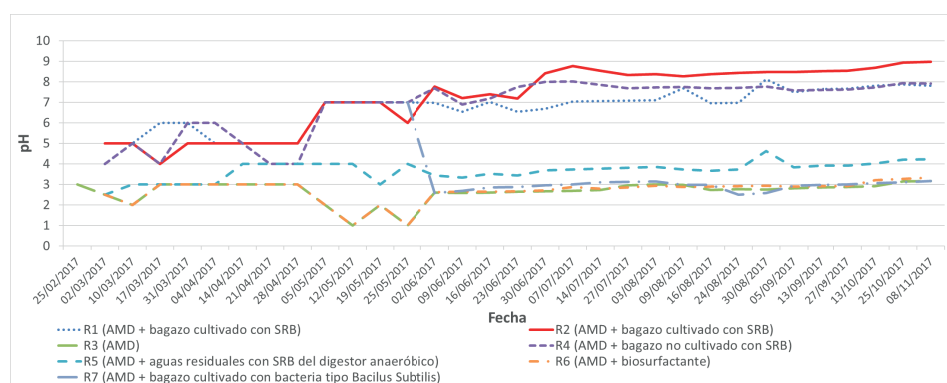


Figura 6

Mediciones de pH en los Biorreactores Durante el Período de Febrero a Noviembre.

3.2.2. Sulfuro

Las mediciones de producción de sulfuro en los biorreactores comenzaron en el mes de mayo (2017) y se observó un aumento significativo en la producción de sulfuro durante los meses de junio y julio en los reactores uno, dos y cuatro (Figura 7). Después de un poco más de dos meses de alta producción de sulfuro en los reactores mencionados anteriormente donde se alcanzaron valores hasta de 65 mg/LS^{-2} en el reactor 4; los niveles de sulfuro se estabilizaron mostrando una baja de producción de sulfuro con un máximo de producción de 10 mg/LS^{-2} . Luego de alcanzar esta estabilización en la producción de sulfuro estos valores se mantuvieron hasta el final de los experimentos (noviembre 2017). La producción constante y continua de sulfuro en los reactores confirmó la presencia de actividad bacteriana en los mismos, la cual es clave para que se lleve a cabo la biorremediación y lograr la precipitación y reducción de los metales pesados en los biorreactores, lo cual se menciona a continuación.

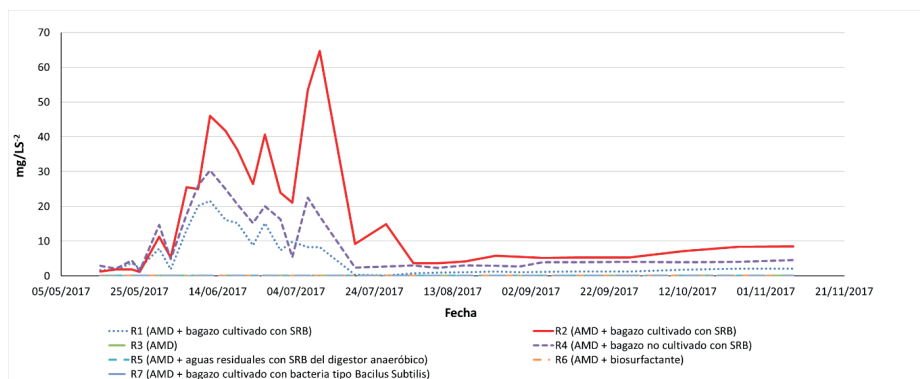


Figura 7

Mediciones de Sulfuro en los Biorreactores para el Período de Mayo a Noviembre.

3.2.3. Metales pesados

Los reactores uno, dos (AMD + bagazo cultivado con SRB) y el reactor cinco (AMD + aguas residuales con SRB) lograron una reducción considerable en las concentraciones de Al, Cu, Cd, Fe, Pb y Zn. Los reactores uno y dos fueron los más efectivos en la reducción de metales pesados. El reactor cinco no tuvo un efecto duradero en la reducción de metales pesados debido a la falta de sustrato (bagazo), elemento indispensable para sostener la actividad bacteriana. Los reactores restantes no fueron efectivos en la reducción de metales pesados. El reactor siete a pesar de contar con bagazo cultivado por bacterias de tipo *Bacillus Subtilis* no resultó efectivo en la reducción de concentraciones de metales pesados indicando esto que este tipo de bacterias no son las indicadas para llevar a cabo el proceso de biorremediación como lo son las SRB.

Las concentraciones iniciales de metales pesados en el afluente (AMD) contenido en el reactor tres excedieron los límites ambientales permitidos en la legislación ecuatoriana para la concentración de metales pesados como Al, Cd, Cu, Cd, Fe Pb y Zn en agua dulce (Figura 8) teniendo como referencia lo que se indica en el Acuerdo Ministerial No. 028 del Registro Oficial No. 270 en la tabla 3 para Criterios de Calidad Admisibles para la Preservación de la Vida Acuática y Silvestre en Aguas Dulces, Marinas y de Estuarios. Los resultados de los análisis de metales pesados que se realizaron en los reactores uno, dos y cinco mostró una reducción considerable de las concentraciones iniciales de metales pesados antes mencionados llegando en la mayoría de los casos a cumplir con los estándares ambientales que indica la legislación ecuatoriana en el acuerdo ministerial

indicado anteriormente.



En la (Tabla II) se puede apreciar el porcentaje de efectividad de la remoción de metales pesados en los biorreactores uno, dos y cinco. Se tomó como referencia la concentración final registrada al término de la fase experimental (noviembre del 2017) en los biorreactores indicados y su relación con la concentración final registrada en el reactor tres, considerado como el afluente con contenido únicamente del AMD extraído de la mina. Se procedió de esta manera para controlar cualquier variabilidad natural de la concentración de metales pesados en los biorreactores a lo largo del tiempo.

En la primera parte de la tabla se observan los valores finales de las concentraciones de metales pesados expresados en ppb al término de los experimentos. La segunda parte de la tabla indica el porcentaje removido de los metales pesados en los reactores uno, dos y cinco considerando la técnica seleccionada en cada uno de ellos, la adición del bagazo cultivado con SRB (reactores uno y dos) o la adición del agua residual con SRB para el reactor cinco como se indicó previamente en la (Tabla I). Los otros reactores no se incluyeron en los análisis debido al bajo porcentaje de remoción que se observó en los mismos.

Los porcentajes de efectividad en la remoción de metales pesados varía de acuerdo al metal, en los reactores uno y dos se evidenció el siguiente orden Cd>Cu>Al>Pb>> Fe>Zn mientras que para el reactor cinco Fe>Pb>Cu>Al>Cd>Zn. Siendo el Zn el metal con menor efectividad de remoción en todos los casos descritos.

Tabla 2

Porcentaje de Efectividad de Remoción de Metales Pesados en los Biorreactores.

Metales Pesados	Al	Cd	Cu	Fe	Pb	Zn
Límites permisible (ppb)	100	1	20	300	1	180
Valores finales de concentraciones de metales pesados en ppb (11/08/17)						
Reactor 3 (AMD)	64157.29	24.44	7797.11	149029.1	4.48	1677.11
Reactor 1 (AMD+bagazo cultivado)	379.00	0.01	9.31	4818.05	0.05	83.86
Reactor 2 (AMD+bagazo cultivado)	397.51	0.01	11.56	2397.76	0.05	70.94
Reactor 5 (AMD + agua residual)	23691.40	13.54	2824.59	3613.32	1.05	1517.72
Porcentaje removido de metales pesados en los reactores debido a la adición de bagazo cultivado o agua residual						
Reactor 1 (AMD+bagazo cultivado)	99.41%	99.95%	99.88%	96.77%	98.81%	95.00%
Reactor 2 (AMD+bagazo cultivado)	99.38%	99.95%	99.85%	98.39%	98.81%	95.77%
Reactor 5 (AMD + agua residual)	63.07%	44.59%	63.77%	97.58%	76.61%	9.50%

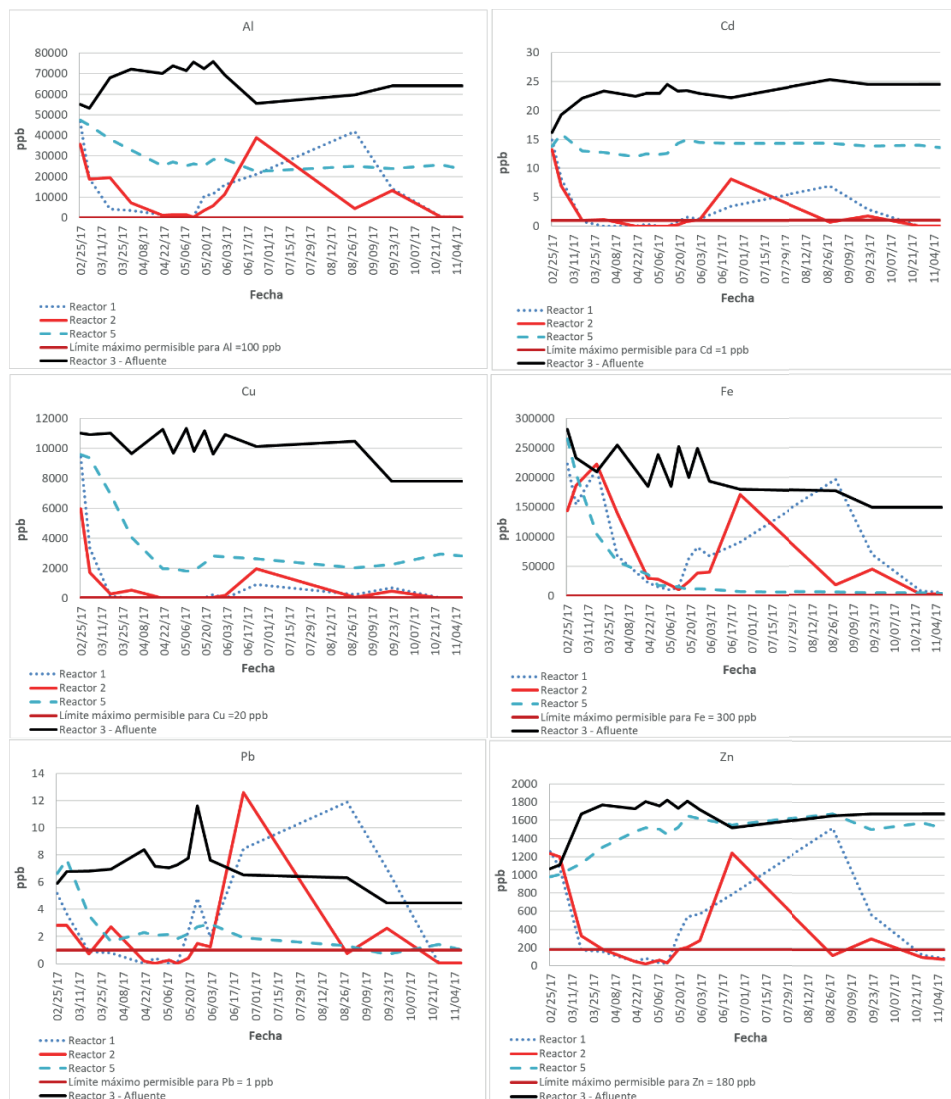


Figura 8

Concentraciones de Metales Pesados Medidos en los Biorreactores Durante el Período de Febrero a Noviembre.

Los otros reactores cuatro, seis y siete no se incluyeron en los análisis debido a bajo porcentaje de remoción que se observó en los mismos lo cual nos indica que el mecanismo que se utilizó no fue efectivo para lograr la remoción de metales pesados.

4. Conclusiones

Este estudio confirmó el deterioro de la calidad del agua en los ríos que irrigan el área de estudio de Camilo Ponce Enríquez en especial en los ríos: Siete, Fermín, Villa, Margarita y Estero Guanache. Se evidenciaron concentraciones de metales pesados



que sobrepasan significativamente los límites permisibles enunciados por la normativa ambiental ecuatoriana para agua dulce en prácticamente todos los sitios muestreados.

Los experimentos realizados en el laboratorio revelaron que la combinación de bagazo de caña de azúcar y SRB fue efectiva, logrando una reducción significativa en las concentraciones de metales pesados alcanzando entre el 95% y 99% de efectividad en la remoción de los mismos en los reactores uno y dos. Las concentraciones iniciales de metales como el Al, Cd, Cu, Fe, Pb y Zn que se encontraban en el AMD recolectado en la mina prácticamente alcanzaron los estándares ecuatorianos para dichos metales como se observó en los reactores 1 y 2. El reactor 5 también evidenció una reducción en las concentraciones de metales como Fe y Pb que alcanzaron los límites permisibles y para los otros metales como Al, Cu, Cd y Zn la reducción de concentración estuvo muy cerca de los límites permisibles, sin embargo se observó un porcentaje de efectividad menor que en los reactores uno y dos entre 9.50% - 63%. El uso de bacterias reductoras de sulfato (SRB) en combinación con bagazo de caña de azúcar se muestra como una técnica efectiva en la remediación del drenaje ácido de minas en comparación a la utilización de otro tipo de bacterias en combinación con el bagazo de caña de azúcar o considerando únicamente a las bacterias SRB como mecanismo de remediación.

La degradación de la calidad del agua debido a la contaminación por metales pesados en el área de estudio debe ser considerada una prioridad para las autoridades ambientales locales. Los ríos del área de estudio se utilizan para una serie de actividades locales, como el riego de cultivos, la recreación y el consumo. Por lo tanto, es urgente una mejora significativa en las técnicas de control con respecto a la descarga de los drenajes ácidos provenientes de las minas del sector. Este control y la aplicación de técnicas sostenibles para el tratamiento de los drenajes ácidos es necesario para preservar las condiciones ambientales y preservar la calidad del agua en los ríos del sector.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Escuela Superior Politécnica del Litoral a través de fondos otorgados por la Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT). Nuestro agradecimiento a la mina Somilor por las facilidades brindadas en la recolección de muestras al interno de sus instalaciones. Un agradecimiento especial a los profesores y estudiantes que colaboraron con las campañas de muestreo que se llevaron a cabo para la recolección de datos y muestras en el área de estudio.



Conflicto de intereses

Se declara por parte del autor que no existe ningún conflicto de intereses como parte de este artículo y su contenido.

References

- [1] Banco Central del Ecuador (BCE). 2016. Reporte de Minería: 4-5. Disponible en: <https://contenido.bce.fin.ec/documentos/Estadisticas/Hidrocarburos/ReporteMinero072016.pdf>
- [2] Education for the Transformation of Artisanal to Small-scale Mining, Ecuador (TransMAPE) [Internet]. Canada: Canadian International Resources and Development Institute (CIRDI); 2018 [actualizada en diciembre de 2022; acceso 20 marzo 2023]. [approx.. 5 pantallas]. Disponible en: <https://web.archive.org/web/20220715171813/https://cirdi.ca/project/transmape/>
- [3] Banco Central del Ecuador (BCE). 2018. Reporte de Minería: 6-7. Disponible en: <https://contenido.bce.fin.ec/documentos/Estadisticas/Hidrocarburos/ReporteMinero012018.pdf>
- [4] Ley de Minería. Registro Oficial Suplemento 517 de enero 29 de 2009. Artículo 138: 50-51. Disponible en: https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2020-12/Documento_Ley-de-Miner%C3%ADa.pdf
- [5] Betancourt Ó, Barriga R, Guimarães JR, Cueva E, Betancourt S. Impacts on environmental health of small-scale gold mining in Ecuador. En: Charron D. (eds). Ecohealth research in Practice. Vol 1. New York, NY: Springer; 2012. p. 119-130.
- [6] Carling G, Diaz X, Ponce M, Perez L, Nasimba L, Pazmino E, et al. Particulate and dissolved trace element concentrations in three Southern Ecuador Rivers impacted by artisanal gold mining. *Water, Air, and Soil Pollution*. [Internet]. 2013 [citado 2 mayo 2022];224(415):1-16. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-012-1415-y>
- [7] Adler R, Bergquist B, Adler S, Guimarães JR, Lees P, Niquen W, et al. Challenges to measuring, monitoring, and addressing the cumulative impacts of artisanal and small-scale gold mining in Ecuador. *Resources Policy*. [Internet]. 2013 [citado 3 mayo 2022];38:713-722. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301420713000202>.
- [8] Banco Central del Ecuador (BCE). 2017. Reporte de Minería: 15-18. Disponible en: <https://contenido.bce.fin.ec/documentos/Estadisticas/Hidrocarburos/>



ReporteMinero012017.pdf

- [9] Appleton J, Williams T, Orbea H, Carrasco M. Fluvial contamination associated with artisanal gold mining in the Ponce Enríquez, Portovelo-Zaruma and Nambija Areas, Ecuador. *Water, Air, and Soil Pollution* [Internet]. 2001 [citado 14 enero 2022];131:19-39. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1011965430757>
- [10] Cordy P, Veiga M, Salih I, Al-Saadi S, Console S, Garcia O, et al. Mercury contamination from artisanal gold mining in Antioquia, Colombia: The world's highest per capita mercury pollution. *Science of the Total Environment*. 2011; 410-411:154-160.
- [11] Velásquez-López P, Veiga M, Klein B, Shandro J, Hall K. 2011 Cyanidation of mercury-rich tailings in artisanal and small-scale gold mining: Identifying strategies to manage environmental risks in Southern Ecuador. *Journal of Cleaner Production*. 2011;19:1125-1133.
- [12] Cordy P, Veiga M, Crawford B, Garcia O, Gonzalez V, Moraga D, et al. Characterization, mapping, and mitigation of mercury vapour emissions from artisanal mining gold shops. *Environmental Research*. 2013;125:82-91.
- [13] Veiga M, Angeloci-Sanos G, Meech J. Review of barriers to reduce mercury use in artisanal gold mining. *The Extractive Industries and Society*. 2014;1:351-361.
- [14] Hrubá F, Strömberg U, Černá M, Chen C, Harari F, Harari R, et al. Blood cadmium, mercury, and lead in children: An international comparison of cities in six European countries, and China, Ecuador, and Morocco. *Environmental International*. 2012;41:29-34.
- [15] Akcil A, Koldas S. Acid mine drainage (AMD): Causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production* [Internet]. 2006 [citado 20 marzo 2023]; 14: 1139-1145. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652605000600>
- [16] Neculita C, Zagury G, Bussiére B. Effectiveness of sulfate-reducing passive bioreactors for treating highly contaminated acid mine drainage: I. Effect of hydraulic retention time. *Applied Geochemistry* [Internet]. 2008 [citado 20 marzo 2023];3:3442-3451. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0883292708002862>
- [17] Jamil N, Clarke W. Bioremediation for acid mine drainage: organic solid waste as carbon sources for sulfate-reducing bacteria: a review. *Journal of Mechanical Engineering and Sciences* [Internet]. 2013 [citado 22 marzo 2023];5:569-581. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/273050475_Bioremediation_for_Acid_Mine_Drainage_Organic_Solid_Waste_as_Carbon_Sources_For_Sulfate-Reducing_Bacteria_A_Review



- [18] Jiménez-Oyola S, García-Martínez M, Ortega M, Chavez E, Romero P, García-Garizabal I, et al. Ecological and probabilistic human health risk assessment of heavy meta(loids) in river sediments affected by mining activities in Ecuador. *Environmental Geochemical Health* [Internet]. 2021 [citado 15 junio 2022];43:4459-4474. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10653-021-00935-w>
- [19] Jiménez-Oyola S, Chavez E, García-Martínez M., Ortega M, Bolonio D, Guzmán-Martínez F, et al. Probabilistic multi-pathway human health risk assessment due to heavy metal(loids)s in a traditional gold mining area in Ecuador. *Ecotoxicology and Environment Safety* [Internet]. 2021 [citado 15 junio 2022];224:112629. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651321007417>
- [20] Rivera J, Beate B, Diaz X, Ochoa M. Artisanal and small gold mining and petroleum production as potential sources of heavy metal contamination in Ecuador: A call to action. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [Internet]. 2021. [citado 20 junio 2022];18(6):2794. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-4601/18/6/2794>
- [21] Aguilar A, Peña E, Vitvar T, Lopez M, Menéndez-Aguado J. A multi-index analysis approach to heavy metal pollution assessment in river sediments in the Ponce Enríquez Area, Ecuador. *Water* [Internet]. 2019. [citado 20 junio 2022]; 11(3): 590. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2073-4441/11/3/590>
- [22] Rhon J. Plan integral de gestión de riesgos para las áreas mineras “Bella Rica”, código 15 y “Guanache Tres de Mayo”, código 150. [Internet]. Camilo Ponce Enriquez. 2014. [citado 15 julio 2022]. Disponible en: https://www.academia.edu/10883561/COOPERATIVA_DE_PRODUCCI%C3%93N_MINERA_AUR%C3%8DFERA_BELLA_RICA_ECUADOR_PLAN_INTEGRAL_DE_GESTI%C3%93N_DE_RIESGOS_PARA_LAS_%C3%81REAS_MINERAS_BELLA_RICA_c%C3%B3digo_15_y_GUANACHE_TRES_DE_MAYO_c%C3%B3digo_150_RESUMEN_EJECUTIVO
- [23] Tarras-Wahlberg H, Flachier A, Fredriksson G, Lane S, Lundberg B., Sangfors O. Environmental impact of small-scale and artisanal gold mining in southern Ecuador. *AMBIO A Journal of the Human Environment* [Internet]. 2000. [citado 2 julio 2022];29(8):484-491. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/232669664_Environmental_Impact_of_Small-scale_and_Artisanal_Gold_Mining_in_Southern_Ecuador
- [24] Elliott P, Ragusa S, Catcheside D. Growth of sulfate-reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a treatment system for acid mine drainage. *Water Research* [Internet]. 1998. [citado 3 marzo 2023];32(12):3724-3730. Disponible en:



<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135498001444>

- [25] Grubb D, Landers D, Almeida Guerra P, Miller B, Bilgin A, Hernandez M. Sugarcane bagasse as a microbial host media for the passive treatment of acid mine drainage. *Journal of Environmental Engineering* [Internet]. 2018. [citado 14 julio 2022];144(10):04018108. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/327993473_Sugarcane_Bagasse_as_a_Microbial_Host_Media_for_the_Passive_Treatment_of_Acid_Mine_Drainage
- [26] Tripathi AK, Thakur P, Saxena P, Rauniyar S, Gopalakrishnan V, Singh RN, et al. Gene sets and Mechanisms of sulfate-reducing bacteria biofilm formation and quorum sensing with impact on corrosion. *Front. Microbiol.* [Internet]. 2021. [citado 1 marzo 2023];12:754140. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.754140/full>
- [27] Muñoz E, Farré A, Sánchez A, Font X, Gea T. Microbial biosufactants: a review of recent environmental applications. *Bioengineered* [Internet]. 2022. [citado 1 marzo 2023];13(5):12365-12391. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9275870/>