

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Capacidad degradadora de cianuro por consorcios  
bacterianos aislados de agua residual tratada.**

**Ayacucho 2018.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGA, EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

**Presentado por la:**

**Bach. CONISLLA QUISPE, Luz Mary**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2020**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. Luz Mary Conislla Quispe**  
**R.D. Nº 067-2020-UNSCH-FCB-D**

A los once días del mes de septiembre del año dos mil veinte, siendo las cinco de la tarde, se reunieron a través de la plataforma virtual Google Meet, los docentes miembros del jurado calificador conformado por: Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista (Presidente); MS. Elmer Alcides Avalos Pérez (Miembro jurado); Dr. Víctor Luis Cárdenas López (Miembro jurado); Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez (Miembro asesor), Mg. Sonia Haydeé Palomino Felices (miembro 4to jurado), actuando como secretario docente el Mg. Walter Wilfredo Ochoa Yupanqui, para recepcionar la sustentación de tesis titulada: **“Capacidad degradadora de cianuro de consorcios bacterianos aislados de agua residual tratada, Ayacucho-2018”**, presentada por la Bach. Luz Mary Conislla Quispe; previa verificación de la documentación exigida, el Presidente autorizó el inicio del acto académico precisando que la sustentante dispone de cuarenticinco minutos conforme lo establece el reglamento de grados y títulos de la Facultad de Ciencias Biológicas. Finalizada la sustentación, el presidente invitó a los miembros del jurado a participar con observaciones, aclaraciones y/o preguntas relacionadas al tema; el asesor se comprometió cumplir con las correcciones y sugerencias realizadas. Concluida esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y a los asistentes abandonar la sala virtual a fin de proceder a la deliberación y calificación correspondiente, alcanzando los siguientes resultados:

<b>MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR</b>	<b>EXPOSICIÓN</b>	<b>RESPUESTA A PREGUNTAS</b>	<b>PROMEDIO</b>
MS. Elmer Alcides Avalos Pérez	17	14	16
Dr. Víctor Luis Cárdenas López	18	16	17
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez	17	16	17
Mg. Sonia Haydeé Palomino Felices	17	17	17
		<b>PROMEDIO</b>	<b>17</b>

La sustentante alcanzó el promedio de 17 (diecisiete) aprobatorio. Acto seguido, el presidente invitó a la sustentante y publico reingresar a la sala virtual para dar a conocer el resultado de la evaluación; finalizando el presente acto académico siendo las siete de la noche, firmando al pie del presente en señal de conformidad.



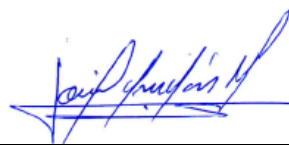
Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista  
Presidente



MS. Elmer Alcides Avalos Pérez  
Miembro – Jurado



Dr. Víctor Luis Cárdenas López  
Miembro - Jurado



Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
Miembro - Asesor



Mg. Sonia Haydeé Palomino Felices  
Miembro – Cuarto jurado



Mg. Walter Wilfredo Ochoa Yupanqui  
Secretario - Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

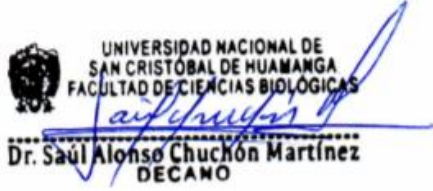
DECANATURA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS N° 008-  
2021-FCB-D

Yo, SAÚL ALONSO CHUCHÓN MARTÍNEZ, Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **“Capacidad degradadora de cianuro por consorcios bacterianos aislados de agua residual tratada. Ayacucho 2018”**, presentado por la Bach. LUZ MARY CONISLLA QUISPE; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 25%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-C.

En tal sentido, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 23 de junio de 2021.

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
DECANO

# Capacidad degradadora de cianuro por consorcios bacterianos aislados de agua residual tratada. Ayacucho 2018

*por Luz Mary Conislla Quispe*

**Fecha de entrega:** 24-jun-2021 10:37a.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 1611612439

**Nombre del archivo:** 1A\_Conislla\_Quispe\_Luz\_Mary\_Pregrado\_2021\_TURNITIN.docx (198.54K)

**Total de palabras:** 13081

**Total de caracteres:** 71018

---

# Capacidad degradadora de cianuro por consorcios bacterianos aislados de agua residual tratada. Ayacucho 2018

## INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

24%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

8%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://revistas.unitru.edu.pe">revistas.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	3%
2	<a href="http://repository.eafit.edu.co">repository.eafit.edu.co</a> Fuente de Internet	3%
3	<a href="http://ciencia.lasalle.edu.co">ciencia.lasalle.edu.co</a> Fuente de Internet	2%
4	<a href="http://cybertesis.unmsm.edu.pe">cybertesis.unmsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
5	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	2%
6	<a href="http://www.bdigital.unal.edu.co">www.bdigital.unal.edu.co</a> Fuente de Internet	2%
7	<a href="http://doaj.org">doaj.org</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="http://repository.icesi.edu.co">repository.icesi.edu.co</a> Fuente de Internet	1%
9	<a href="http://repositorio.unap.edu.pe">repositorio.unap.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%

10	<a href="http://www.bolivianchemistryjournal.org">www.bolivianchemistryjournal.org</a> Fuente de Internet	1 %
11	<a href="http://tesis.ipn.mx">tesis.ipn.mx</a> Fuente de Internet	1 %
12	Carmen Ventura, Carlos I. Briones-Roblero, Emilio Hernández, Flor N. Rivera-Orduña, Gerardo Zúñiga. "Comparative Analysis of the Gut Bacterial Community of Four Anastrepha Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) Based on Pyrosequencing", Current Microbiology, 2018 Publicación	1 %
13	<a href="http://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	1 %
14	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	1 %
15	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	1 %
16	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	1 %
17	<a href="http://www.atsdr.cdc.gov">www.atsdr.cdc.gov</a> Fuente de Internet	1 %
18	<a href="http://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
19	<a href="http://pesquisa.bvsalud.org">pesquisa.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	<1 %

20 [bdigital.unal.edu.co](http://bdigital.unal.edu.co) <1 %  
Fuente de Internet

---

21 [prezi.com](http://prezi.com) <1 %  
Fuente de Internet

---

22 [tesis.unjbg.edu.pe](http://tesis.unjbg.edu.pe) <1 %  
Fuente de Internet

---

23 [www.researchgate.net](http://www.researchgate.net) <1 %  
Fuente de Internet

---

24 [www.ukas.org](http://www.ukas.org) <1 %  
Fuente de Internet

---

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 30 words

A mis padres, a mis amados hijos, a mi amado esposo, a mis hermanos, a Dios, por la vida y por poner en mi camino a todas estas personas maravillosas.



## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *alma mater* donde logré adquirir conocimientos académicos que me permitirán seguir desarrollándome profesionalmente a futuro.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas y en especial a los docentes de la Especialidad de Microbiología por su paciencia y sobre todo por la transmisión de sus conocimientos, así mismo por las facilidades para el logro y materialización de mis estudios que hacen de mí, una nueva profesional.

A mi asesor, Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez, docente del Área Académica de Microbiología de la Escuela Profesional de Biología, por su orientación y sabios consejos, que han permitido la elaboración y finalización de mi tesis.

Al Blgo. Reynán Cóndor Alarcón, por haberme apoyado en la sistematización e interpretación de la información.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN	xxi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	5
2.2.1. El cianuro	5
2.2.2. Clasificación del cianuro	5
2.2.3. Localización del cianuro	6
2.2.4. Utilización del cianuro	6
2.2.5. Exposición de los seres humanos al cianuro	6
2.2.6. Alternativas de degradación del cianuro	7
2.2.7. Alternativas biológicas de degradación de cianuro	7
2.2.8. Bacterias degradadoras de cianuro	8
2.2.9. Consorcios microbianos	9
2.2.10. Rutas metabólicas del cianuro	10
2.3. Bases legales	11
2.3.1. Límites permisibles de cianuro libre en aguas según la legislación peruana	11
2.4. Determinación de la concentración del cianuro mediante el método colorimétrico	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Tipo y nivel de investigación	13
3.2. Ubicación de la PTAR “La Totorá”	13
3.3. Ubicación del laboratorio	13
3.4. Procedencias de la muestra de agua	13
3.5. Muestreo	14
3.6. Transporte de muestras	14

3.7.	Metodología y recolección de datos	14
3.7.1.	Aislamiento, adaptación y obtención de cepas bacterianas degradadoras de cianuro	14
3.7.2.	Adaptación de cepas bacterianas a la degradación de cianuro	14
3.7.3.	Evaluación de la capacidad degradadora de cianuro por cepas bacterianas	15
3.7.4.	Medición de cianuro	16
3.7.5.	Medición de cianuro residual en los ensayos	16
3.7.6.	Identificación de cepa bacteriana	16
3.8.	Combinación de cepas bacterianas	16
3.9.	Análisis estadístico	17
IV.	RESULTADOS	19
V.	DISCUSIÓN	45
VI.	CONCLUSIONES	63
VII.	RECOMENDACIONES	65
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
	ANEXOS	71

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Cepas de bacterias degradadoras de cianuro aisladas de la laguna de maduración II de la planta de tratamiento de aguas residual “La Totora”. Ayacucho 2018.	22
Tabla 2. Conformación de consorcios bacterianos con cepas aisladas de la laguna de maduración II de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” utilizados en las pruebas de degradación con dos concentraciones iniciales de cianuro de sodio. Ayacucho 2018.	23

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Curva patrón de cianuro con el método colorimétrico a una absorbancia 580 nm con espectrofotómetro UV – visible thermo Scientific GENESYS 10, en el laboratorio de microbiología ambiental. Ayacucho Perú 2018.	21
Figura 2. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	24
Figura 3. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por dos cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	25
Figura 4. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por tres cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	26
Figura 5. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cuatro cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	27
Figura 6. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cinco cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	28
Figura 7. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	29
Figura 8. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por dos cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	30
Figura 9. Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el	31

	proceso degradativo por consorcio conformado por tres cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora”. Ayacucho 2018.	
Figura 10.	Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cuatro cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora”. Ayacucho 2018.	32
Figura 11.	Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cinco cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora”. Ayacucho 2018.	33
Figura 12.	Remoción de NaCN* por cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	34
Figura 13.	Remoción de NaCN* conformada por dos cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	35
Figura 14.	Remoción de NaCN* conformada por tres cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	36
Figura 15.	Remoción de NaCN* conformada por cuatro cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	37
Figura 16.	Remoción de NaCN* conformada por cinco cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	38
Figura 17.	Remoción de NaCN* por cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	39
Figura 18.	Remoción de NaCN* conformada por dos cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR	40

	“La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	
Figura 19.	Remoción de NaCN* conformada por tres cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	41
Figura 20.	Remoción de NaCN* conformada por cuatro cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	42
Figura 21.	Remoción de NaCN* conformada por cinco cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.	43

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Vista panorámica de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora”.	73
Anexo 2. Pruebas bioquímicas realizadas para la Identificación de cepas bacterianas, degradadoras de NaCN, aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora”. Ayacucho 2018.	74
Anexo 3. Registro de datos (tratamientos, en el proceso experimental) a una concentración de 200mg/L de cianuro de sodio lecturas de absorbancia a una longitud de onda de 580 nm. Laboratorio de microbiología de la UNSCH. Ayacucho 2018.	75
Anexo 4. Registro de datos (tratamientos, en el proceso experimental) a una concentración de 250mg/L de cianuro de sodio lecturas de absorbancia a una longitud de onda de 580 nm de luz. Laboratorio de microbiología de la UNSCH. Ayacucho 2018.	76
Anexo 5. Norma legal límites máximos permisibles para descarga de efluentes líquidos de actividades minero metalúrgicas (Decreto supremo N° 010- 2010 – MINAM.	77
Anexo 6. Composición y preparación de soluciones para la determinación de cianuro libre según el código (06606).	78
Anexo 7. Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 200 mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con una cepa aislada de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.	79
Anexo 8. Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con dos cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.	80
Anexo 9. Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con tres cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.	81
Anexo 10. Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de	82



	cianuro a una concentración inicial aproximada de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cuatro cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.	
Anexo 11.	Valores de la prueba t de Student de la biodegradación de cianuro a una concentración de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cinco cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora”. Ayacucho 2018.	83
Anexo 12.	Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con una cepa aislada de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora”. Ayacucho 2018.	84
Anexo 13.	Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con dos cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.	85
Anexo 14.	Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con tres cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.	86
Anexo 15.	Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250 mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cuatro cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.	87
Anexo 16.	Valores de la prueba t de Student de la biodegradación de cianuro a una concentración de 250 mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cinco cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora”. Ayacucho 2018.	88
Anexo 17.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias	89

	aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para cepas individuales a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.	
Anexo 18.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con dos cepas bacterianas a una concentración de 200 mg/L. Ayacucho 2018.	90
Anexo 19.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con tres cepas bacterianas a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.	91
Anexo 20.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cuatro cepas bacterianas a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.	92
Anexo 21.	Prueba t de Student de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cinco cepas bacterianas a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.	93
Anexo 22.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para cepas bacterianas individuales a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.	94
Anexo 23.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La	95

	Totora” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con dos cepas bacterianas a una concentración de 250 mg/L. Ayacucho 2018.	
Anexo 24.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con tres cepas bacterianas a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.	96
Anexo 25.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cuatro cepas bacterianas a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.	97
Anexo 26.	Prueba t de Student de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cinco cepas bacterianas a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.	98
Anexo 27.	Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) para cada tratamiento evaluado a una concentración de 200 mg/L de NaCN. Ayacucho 2018.	99
Anexo 28.	Homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) de los tratamientos evaluados en la concentración de 200 mg/L de NaCN. Ayacucho 2018.	100
Anexo 29.	Homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) de los tratamientos evaluados en las concentraciones de 250 mg/L NaCN. Ayacucho 2018.	101
Anexo 30.	Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para cada tratamiento evaluado a una concentración de 250 mg/L de NaCN. Ayacucho 2018.	102
Anexo 31.	Obtención y siembra de la muestra a partir de la laguna de maduración N° II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.	103
Anexo 32.	Flujograma del aislamiento y adaptación de las cepas degradadoras de cianuro. Ayacucho 2018.	104

Anexo 33.	Observaciones macroscópicas de las cepas bacterianas. Ayacucho 2018.	105
Anexo 34.	Observación microscópica de la coloración GRAM a 100 X.	106
Anexo 35.	Flujograma de la identificación de las cepas bacterianas. Ayacucho 2018.	107
Anexo 36.	Adaptación de cepas bacterianas a la degradación de cianuro. Ayacucho 2018.	108
Anexo 37.	Flujograma de la evaluación de la capacidad degradadora de cianuro por cepas bacterianas. Ayacucho 2018.	109
Anexo 38.	Flujograma de la medición de cianuro. Ayacucho 2018.	110
Anexo 39.	Flujograma de la medición de cianuro residual en los ensayos. Ayacucho 2018.	111
Anexo 40.	Rutas metabólicas de asimilación de cianuro. Las reacciones enumeradas en la figura están catalizadas por las siguientes enzimas: 1, cianidasa; 2, cianuro hidratasa; 3, formamidasa; 4, cianuro dioxigenasa; 5, nitrogenasa; 6, Reductivas 35 Introducción rodanasa; 7, tiocianato hidrolasa; 8, 3-cianoalanina sintasa; 9, nitrilasa o nitrilo hidratasa/amidasa.	112
Anexo 41.	Matriz de consistencia	113

## RESUMEN

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la UNSCH, entre los meses de julio a setiembre de 2018, teniendo como objetivo general evaluar la capacidad degradativa de cianuro por consorcios bacterianos aislados de la PTAR “La Totorá” obteniéndose cinco cepas BN (*Pseudomonas* sp.), EM (*Klebsiella* sp.), BH1 (*Escherichia* sp.), BH2 (*Pseudomonas* sp.), BH3 (*Citrobacter* sp.) aisladas en agar nutritivo, agar extracto de malta y medio Busnell Hass, todos los medios suplementados con NaCN; las cepas fueron asociadas en grupos obteniéndose consorcios conformados por dos, tres, cuatro y cinco cepas; los medios de ensayo fueron suplementadas con NaCN a 200 mg/L y 250 mg/L aproximadamente. La variación de la concentración de NaCN y el porcentaje de remoción del mismo fueron medidos cada 12 horas la evaluación se realizó por 96 horas. La medición de la concentración de NaCN se hizo mediante el protocolo de la técnica colorimétrica descrita en el Manual de procedimientos analíticos para aguas y efluentes del Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. Los valores de degradación obtenidos con las cepas en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias estadísticas significativas, los valores del porcentaje de remoción de NaCN, a las 96 horas a temperatura ambiente, por cinco cepas bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” variaron en un rango de 94 al 98%, en comparación al control que mostró una reducción del 66% del contaminante; la capacidad de remoción de NaCN por consorcios de 2, 3, 4 y 5 cepas alcanzaron valores de hasta un 97% en comparación al control que mostró una reducción del 66% del contaminante; el consorcio bacteriano conformado por 2 y 4 cepas *Escherichia* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH1-BH2), *Escherichia* sp. + *Citrobacter* sp. (BH1-BH3), *Escherichia* sp. + *Klebsiella* sp. (BH1-EM), *Escherichia* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH1-BN), *Pseudomonas* sp. + *Citrobacter* sp. (BH2-BH3), *Pseudomonas* sp. + *Klebsiella* sp. (BH2-EM), *Pseudomonas* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH2-BN), *Citrobacter* sp. + *Klebsiella* sp. (BH3-EM), *Citrobacter* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH3-BN), *Klebsiella* sp. + *Pseudomonas* sp. (EM-BN) y *Escherichia* sp. + *Pseudomonas* sp. + *Citrobacter* sp. + *Klebsiella* sp. (BH1-BH2-BH3-EM), *Escherichia* sp. + *Pseudomonas* sp. + *Citrobacter* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH1-BH2-BH3-BN), *Escherichia* sp. + *Pseudomonas* sp. + *Klebsiella* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH1-BH2-EM-BN), *Escherichia* sp. + *Citrobacter* sp. + *Klebsiella* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH1-BH3-EM-BN), *Pseudomonas* sp. + *Citrobacter* sp. + *Klebsiella* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH2-BH3-EM-BN) mostraron los valores más altos de capacidad de remoción, 97%. Los resultados obtenidos se evaluaron mediante un análisis de varianza multifactorial y la prueba de Tukey.

**Palabras clave:** Cianuro de sodio, consorcio bacteriano, degradación, remoción.

## I. INTRODUCCIÓN

El cianuro es una sustancia química que se utiliza en el ámbito industrial y minero a nivel mundial, no obstante, también es considerado un tóxico potencialmente letal.<sup>1</sup> Es un potente inhibidor del metabolismo celular y uno de los gases que contamina el ambiente atmosférico. La mayoría de tratamientos fisicoquímicos empleados para mitigar los efluentes cianurados son caros y/o insuficientes, por esta razón la utilización de microorganismos capaces de biodegradar cianuro es una buena alternativa por los bajos costos operativos y alta eficiencia.<sup>2</sup>

El cianuro puede ser metabolizado por organismos tales como, hongos y bacterias, que lo emplean como fuente de carbono y nitrógeno. Por ejemplo, las bacterias del género *Bacillus* transforma cianuro de potasio en ácido aspártico, asparagina y el dióxido de carbono libre o unido al cianuro en carbonato y amoníaco, sin embargo, en los mamíferos es un inhibidor enzimático que bloquea la producción de ATP induciendo a la hipoxia celular. La ingestión de 200 mg de cianuro de potasio o de sodio puede ser letal y su acción es rápida.<sup>3</sup>

En Perú el 20 % de la producción minera aurífera es informal, lo cual hace que la problemática de la contaminación por cianuro, mercurio y otros desechos tóxicos se agudice aún más, debido al poco control del cumplimiento de las normas que regulan sus usos y emisiones al ambiente, contaminando el suelo, aire y agua. Entre los departamentos más afectados tenemos Madre de Dios, La Libertad y Cajamarca, siendo Madre de Dios donde se centra el 96% de la minería informal.<sup>4</sup>

Existen métodos biológicos para la degradación de cianuro, utilizando algunas especies de hongos tales como *Fusarium oxyporum*, *Fusarium solani*, *Gliocladium virens* y *Trichoderma koningii*; sin embargo las bacterias también son buenos degradadores de cianuro y dentro de ellos tenemos algunas especies del género *Bacillus* y *Pseudomonas* este último género es considerado

entre los mejores para la degradación de cianuro debido a su versatilidad metabólica, debido a que tiene una amplia capacidad oxidativa y adaptativa para utilizar una gran variedad de sustancias químicas como fuente de carbono y nitrógeno, también es muy tolerante a ambientes alcalinos con poca cantidad de nutrientes.<sup>4</sup>

A través del presente trabajo se hizo una propuesta metodológica para la biodegradación de cianuro a partir de consorcios bacterianos conformado por bacterias aisladas con capacidad de degradar cianuro para lo cual se hicieron combinaciones para así poder ver la capacidad degradativa de las bacterias en conjunto e individualmente.

En comparación con los aislados de una sola cepa, las ventajas de la alianza se atribuyen a las características de comunicación y cooperación que pueden darse entre los miembros de la alianza, lo que les permite soportar las fluctuaciones ambientales y dividir el trabajo para aprovechar las diferentes ventajas. que presentan La capacidad metabólica conferida.<sup>5</sup>

El trabajo pretende brindar fundamentos prácticos para futuros estudios, debido a que representa un gran aporte para las investigaciones relacionadas con la degradación bacteriana de cianuro y consecuentemente para el mejoramiento de la calidad ambiental.

### **Objetivo general**

Determinar la capacidad degradadora del cianuro por consorcios bacterianos, aislados de agua residual tratada “La Totorá”.

### **Objetivos específicos**

1. Aislar consorcios bacterianos degradadores de cianuro a partir de muestras de la PTAR “La Totorá”.
2. Determinar el porcentaje de remoción de cianuro por consorcios bacterianos degradadores de cianuro aislados a partir de la PTAR “La Totorá” a nivel de laboratorio.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Hernández L.,<sup>6</sup> (2010) con su trabajo, Evaluación de la capacidad de un aislado bacteriano nativo de *Pseudomonas sp.* como potencial degradador de compuestos cianurados, en el que logró evaluar varianza multifactorial mediante un estudio de efectos fijos, y determinar los factores de temperatura, pH, concentración de cianuro y tiempo de incubación, para la degradación del cianuro de sodio (NaCN), por parte de la cepa nativa, aislada, *Pseudomonas sp.* los cambios se siguieron evaluando las ppm de NaCN biodegradado y la concentración de amonio resultante muestra una biodegradación promedio de 515 ppm de NaCN, en un período de 48 horas, de 1000 ppm, pH 9.6 y un inóculo de  $4.89 \times 10^{11}$  UFC / mL. de bacterias, generando concentraciones de amonio de hasta 2.05 ppm como producto de proceso. Se considera un microorganismo prometedor en el campo de la biotecnología ambiental, en particular en la biorremediación de ambientes con compuestos de cianuro en altas concentraciones y a pH alcalino.<sup>6</sup>

Hurtado J. y col.,<sup>7</sup> (2012) con su trabajo “Optimización de la biorremediación en relaves de cianuración adicionando nutrientes y microorganismos”, aislaron bacterias sulfato reductoras (BSR) de relave usando un inóculo aislado de bacterias capaces de degradar cianuro (BC). Se realizó una prueba de adaptación a relave y una prueba en columnas para probar el efecto del empleo de 1 y 10 mL de lactato para incrementar la actividad de BSR; y adición de 0,1 y 1 mL. de acetato de sodio y ácido fosfórico para mejorar la actividad de BC. Con las mejores condiciones encontradas se realizó una prueba a nivel de columnas donde se adicionó un cultivo mixto (BSR-BC) y una mezcla de lactato y acetato en concentraciones de 1 mL y 10 mL. Se encontró que los nutrientes incrementaban la reducción de sulfatos un 48% en promedio y la adición de inóculo un 42%. La biorremediación de cianuro se mantuvo en 12% sin efecto



con la adición de nutrientes e inóculo, también se probó en dos relaves adicionales, a los cuales se añadió lactato de sodio 1 Mm, permitiendo la inducción de BSR en 8 días en uno de ellos.<sup>7</sup>

Tuya J.,<sup>8</sup> (2014), con su trabajo titulado “Evaluación de la capacidad degradativa de cianuro por bacterias alcalófilas aisladas de los relaves de la planta concentradora de metales Mesapata Cátac – Ancash”, logró aislar 25 cepas de las cuales tres (P-CIAN 2, P-NUT 1 y P-KING 2), obtuvo los mejores rendimientos en las pruebas de selección, tolerando concentraciones de hasta 100 mg/L de CN a pH 11,0. Las cepas P-CIAN 2, P-NUT 1 y P-KING 2 obtuvieron velocidades de crecimiento de 0,063 h<sup>-1</sup>; 0,039 h<sup>-1</sup> y 0,082 h<sup>-1</sup>; y las tasas de biodegradación fueron: 0,472 mg/L .h, 0,688 mg/L .h y 0,875 mg/L .h, respectivamente. Las cepas P-CIAN 2, P-NUT 1 y P-KING 2 fueron capaces de biodegradar una concentración de 100 mg/L de CN hasta en 77,85 y 91%, respectivamente. Solo las cepas P-NUT 1 y P-KING 2 pudieron ser identificadas como *Pseudomonas*, *Pseudoalcaligenes* y *Chromobacterium violaceum*, respectivamente.<sup>8</sup>

Rodallega, S.,<sup>9</sup> (2015), en su trabajo “Aislamiento y caracterización de bacterias capaces de degradar cianuro presente en tanques de almacenamiento de cianuro en una mina de oro del municipio de Buenos Aires Cauca” determino que la bacteria tiene mayor capacidad de degradar el cianuro y sobrevivencia a una concentración de 50 ppm, también determino que a una concentración máxima de cianuro corresponde a 100 ppm, mientras que a 250 y 500 ppm no hubo crecimiento. Es de vital importancia establecer condiciones para poder realizar la cuantificación para poder estimar la degradación bacteriana.<sup>9</sup>

Morillo, J y col.,<sup>10</sup> (2015), en su trabajo “Degradación de cianuro de sodio por *Pseudomonas sp.* a dos temperaturas y tres pH” determinaron que existe una relación entre la temperatura y el pH sobre la degradación del cianuro de sodio por *Pseudomonas sp.* Ejemplo 32°C – pH 9.5 y 36°C – pH 10.5, siendo las combinaciones de 32 y 36°C con el pH 9,5 las que favorecen este proceso.<sup>10</sup>

Cardona, E.,<sup>11</sup>(2015), en su trabajo “Microorganismos potenciales degradadores de cianuro en residuos de minería de oro” las bacterias de este estudio toleran concentraciones de CN hasta 400 ppm, considerado como la mejor fuente de nitrógeno para el crecimiento de microorganismos a temperaturas de incubación en condiciones asépticas. Encontrando bacterias que son tolerantes degradando porcentajes de cianuro de 100 a 400 ppm. Existen un par de bacterias productos

de la degradación de cianuro más puros a condiciones *in vitro*. Los resultados de la bioremediación no demostraron que la degradación bacteriana y de plantas no es significativa a pruebas *in vitro*.<sup>11</sup>

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. El cianuro**

Cianuro es un término general que se aplica a un grupo de sustancias químicas que contienen carbono y nitrógeno. Los compuestos de cianuro contienen sustancias químicas (antropogénicas) que se encuentran en la naturaleza o que han sido producidas por el hombre. Existen más de 2 000 fuentes naturales de cianuro, entre ellos, distintas especies de artrópodos, insectos, bacterias, algas, hongos y plantas superiores. Las principales formas de cianuro producidas por el hombre son el cianuro de hidrógeno gaseoso y el cianuro de sodio y de potasio sólido. Debido a sus propiedades únicas, el cianuro se utiliza en la fabricación de partes metálicas y en numerosos productos orgánicos comunes como los plásticos, las telas sintéticas, los fertilizantes, los herbicidas, los tintes y los productos farmacéuticos.

Existe una justificable preocupación pública por el uso del cianuro en ambientes industriales. El cianuro es una sustancia tóxica que puede ser letal si se ingiere o se inhala en cantidades suficientes. En la industria minera el cianuro es utilizado en cantidades significativas, aproximadamente un 20% de la producción total. "Desde 1887, las soluciones de cianuro se han utilizado principalmente para extraer oro y plata de material mineral, que de otro modo no podrían extraerse eficazmente. Además, el cianuro se utiliza en concentraciones bajas como un reactivo de flotación para ayudar a recuperar metales base como el plomo, el cobre y el zinc".<sup>1</sup>

### **2.2.2. Clasificación del cianuro**

El cianuro puede aparecer en agua o en aguas residuales se clasifica en tres categorías en función de la fuerza de su enlace:

- a. Cianuro libre (CN<sup>-</sup>).
- b. Cianuro fácilmente dissociable (incluye al cianuro libre y cianuros que pueden formar complejos de débiles a moderadamente fuertes con metales como el cobre, níquel y plata).
- c. Cianuros totales (se refiere a todas las categorías mencionadas anteriormente y a los complejos ferro- y ferricianuro). Esta división corresponde a los parámetros de análisis que son medidos por los métodos DIN. Los datos

obtenidos mediante este sistema se consideran método-dependientes, debido a que no es posible clasificar los tipos de cianuro por sí mismos ya que, rara vez habrá solo una especie. Normalmente nos encontraremos con una mezcla de cianuros en diversos complejos metálicos.

### **2.2.3. Localización del cianuro**

Las bacterias, hongos, algas y las plantas cianogénicas son productoras de cianuro, quienes liberan cierta cantidad de cianuro en el período de post cosecha. Al menos 1000 especies de plantas y microorganismos de 90 familias, se ha demostrado que contienen de uno a más de 20 compuestos capaces de producir cianuro. Cerca de 800 especies de plantas superiores de 70 a 80 familias, incluyendo importantes especies como lino, sorgo, alfalfa, bambú, durazno, pera, cereza, ciruela, maíz, papa, algodón, almendra, y frijoles son cianogénicos.<sup>12</sup>

### **2.2.4. Utilización del cianuro**

En la industria química el compuesto básico de mayor uso es el cianuro. Producido en mayor cantidad (aproximadamente 1,4 millones de tn/año) para la elaboración de muchos productos químicos industriales tales como el nailon y el acrílico. Es la sustancia química de mayor uso para la extracción de oro. A nivel mundial se utiliza el 18% para el uso de ese proceso. También es usado para múltiples procesos industriales como la síntesis orgánica, el procesamiento del carbón, lixiviación de minerales y para las placas de metal utilizan cantidades representativas de cianuro. La tecnología más usada a escala industrial es la cianuración mineral oxidado para recuperar oro y plata de minerales oxidados concentrados y minerales de sulfuro. De las 875 empresas de oro y plata a nivel mundial solo 460 usan el cianuro (90% de la producción de oro de todo el mundo). Este compuesto se ha utilizado desde los años 1889 para la extracción de metales y hoy por hoy es de uso exclusivo en la minería a nivel mundial. Rara vez se utilizan en la minería artesanal. En estos procesos mineros usan concentraciones de cianuro de Na muy diluidas entre 100 y 500 ppm.<sup>10</sup>

### **2.2.5. Exposición de los seres humanos al cianuro**

El cianuro es producido por el cuerpo humano y exhalado en pequeñas concentraciones con cada respiración. Concentraciones relativamente bajas de esta sustancia pueden ser tóxicas para los seres humanos, la flora y la fauna.<sup>12</sup> La exposición a cantidades pequeñas de cianuro puede ser fatal, la gravedad de los efectos depende de la estructura del cianuro, la exposición a niveles altos de

cianuro durante un período breve daña el cerebro y el corazón, produciendo un estado de coma o la muerte. El cianuro produce efectos tóxicos a Las personas que ingieren niveles de 0,05 miligramos de cianuro por decilitro de sangre (mg/dL), y casos fatales han ocurrido a niveles de 0,3 mg/dL. La inhalación de cianuro a una concentración de 546 ppm tuvieron un desenlace final al cabo de 10 min y a una concentración de 110 ppm las consecuencias fueron letales al cabo de una hora, pequeñas cantidades de compuestos de cianuro en un tiempo breve pueden morir a menos que reciban tratamiento médico rápidamente.

Unas de las primeras indicaciones de intoxicación con cianuro son la respiración rápida y profunda y la falta de aliento, seguido de convulsiones y pérdida del conocimiento. Estos síntomas pueden manifestarse rápidamente, dependiendo de la cantidad de cianuro ingerida. La entrada de cianuro al cuerpo a través de la piel es más lenta, el contacto de la piel con el cianuro de hidrógeno o con sales de cianuro puede producir irritación y llagas. Algunos trabajadores que respiraron cantidades de cianuro de hidrógeno tan bajas como 6 a 10 ppm durante años sufrieron dificultades para respirar, dolor del pecho, vómitos, alteraciones de la sangre, dolores de cabeza y dilatación de la glándula tiroides.<sup>12</sup>

#### **2.2.6. Alternativas de degradación del cianuro**

Existen algunos procesos de recuperación o destrucción para tratar soluciones y llevarlas a bajos niveles de cianuro. Los tratamientos para remover el cianuro pueden ser de destrucción, que incluyen reacciones químicas o biológicas que son empleadas para convertir el cianuro en compuestos menos tóxicos o procesos físicos como la adsorción con carbón activado.

Los tratamientos biológicos son alternativas factibles, puesto que un amplio rango de microorganismos puede metabolizar estos químicos.<sup>12</sup>

#### **2.2.7. Alternativas biológicas de degradación de cianuro**

Las bacterias convierten los cianuros libres o complejos a dióxido de carbono y amoníaco, mientras que los metales liberados son adsorbidos por la biopelícula o precipitados de la solución. En la primera etapa del tratamiento biológico ocurre la oxidación del cianuro, tiocianato con la subsiguiente adsorción y precipitación de metales libres dentro de la biopelícula. El cianuro y tiocianato son degradados a dióxido de carbono, amoníaco y sulfato. En una segunda etapa el amoníaco se convierte a nitrato, teniendo como intermediario al nitrito. Varias especies de *Pseudomonas* son responsables de la oxidación completa de cianuro, tiocianato y amoníaco. Normalmente, una población de bacterias es expuesta a

condiciones aeróbicas para la nitrificación y a condiciones anóxicas para la desnitrificación. Durante la nitrificación el amoníaco es oxidado a nitrito como intermediario y posteriormente a nitrato. Durante la desnitrificación el nitrato es reducido a gas nitrógeno causando la completa remoción del nitrógeno. El tratamiento biológico es más conveniente puesto que los procesos que involucran peróxido de hidrogeno y dióxido de sulfuro no remueven el tiocianato, amoníaco y nitrato. Aunque la cloración alcalina remueve estos constituyentes. Se identificaron microorganismos potencialmente degradables a contaminantes en el tratamiento biológico de la degradación de cianuro, tales como: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, y *Alcaligenes*. Las *Pseudomonas* son los microorganismos comúnmente reportados como degradadores de cianuro, debido a que pueden convertir a amoníaco y fumarato bajo condiciones aerobias y anaerobias. Usualmente crecen en el suelo o en superficies de aguas. La *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas fluorescens* pueden emplear el cianuro como fuente de nitrógeno y metabolizarlo hasta amoníaco. Así mismo la *Pseudomonas aeruginosa* también lo hace con niveles adecuados de aireación, igualmente la *Pseudomonas paucimobilis* utiliza complejos metálicos altos en cianuro, como el tetracianoniquelato de potasio [K, Ni(CN)], aparte de las *Pseudomonas*, existen otras bacterias que producen enzimas de conversión de cianuros como *Chromobacterium violaceum* que puede crecer y degradar en presencia de este. Además, algunas cepas de *Klebsiella oxytoca* fueron aisladas de efluentes industriales con altas concentraciones de cianuro y crecieron empleándolo como fuente de nitrógeno. La *Burkholderia cepacia* es capaz de usar el cianuro como fuente de nitrógeno. Esta bacteria puede emplear alta concentración del contaminante para su crecimiento, es una de las más prometedoras para el biotratamiento de efluentes con altas concentraciones de cianuro. Otras especies previamente identificadas por su capacidad para degradar cianuro son *Citrobacter freundii*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacter*, y *Enterobacter* spp. Algunas cepas de *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes*, juegan un papel muy importante en la desintoxicación del cianuro.<sup>13</sup>

#### **2.2.8. Bacterias degradadoras de cianuro**

Varios microorganismos tienen la facilidad de asimilar el mineral y eliminar el cianuro o convertirlo a amoníaco, fumarato y otros compuestos peligrosamente bajos para el medio ambiente, como *Ferrobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooanodas* 100 y

120 rpm. *Pseudomonas paucimobilis* utiliza complejos metálicos de cianuro moderadamente fuertes como [K, Ni (CN)] para convertir esta sustancia química en sustancias menos contaminantes, la mayoría de los microorganismos de origen minero fueron estudiados y aislados entre los más resaltantes son *Exiguobacterium*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia* y *Acinetobacter* que demostraron tener la capacidad de reducir el arseniato a condiciones anaeróbicas. Para un tratamiento de biodegradación con cianuro, se han identificado microorganismos con un alto potencial de degradación del contaminante con hasta un 96% de remoción, tales como: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, y *Alcaligenes*. Los géneros productoras de enzimas de conversión de cianuro, que desechan o degradan este compuesto son *Chromobacterium violaceum*, *Klebsiella oxytoca*; *Burkholderia cepacia*. Otras especies identificadas tienen la capacidad de degradar cianuro entre ellas tenemos a: *Citrobacter freundii*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacter freundii* y *Enterobacter*. Existen información de cepas de *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes*, que tienen la capacidad de desintoxicar el cianuro procedentes de la minería.<sup>13</sup>

#### **2.2.9. Consorcios microbianos**

Es un grupo de diferentes tipos de microorganismos que interactúan en una comunidad para beneficio mutuo. Utilizando sus diferentes capacidades metabólicas, la reserva microbiana degrada los desechos orgánicos complejos de manera más efectiva que las cepas individuales. En el caso de una mezcla de cepas microbianas, la interacción presentada no puede mantener la estabilidad de la comunidad ante condiciones ambientales desfavorables.<sup>11</sup>

En una misma alianza microbiana, debido a la existencia de múltiples microorganismos, es posible encontrar diferentes funciones y capacidades metabólicas, lo que permite degradar diferentes compuestos juntos. Las alianzas microbianas tienen la capacidad de degradar múltiples compuestos, también son más resistentes a factores ambientales desfavorables que los microorganismos individuales y tienen mejor competitividad.<sup>11</sup>

Esto se debe a que la cooperación en poblaciones microbianas actúa como mecanismo protector frente a factores ambientales hostiles, como ocurre en poblaciones formadoras de biopelículas, en comparación con las suspensiones celulares de estos mismos organismos. Los agentes antibacterianos son más resistentes. En términos generales, sabemos que una alta densidad de

probablemente actúa como un escudo protector para algunos miembros, el crecimiento de la población. La organización de los consorcios tiene dos características principales que les permiten resistir las fluctuaciones del entorno y realizar cosas complicadas que los individuos no pueden cumplir. Primero, los miembros de un consorcio pueden comunicar entre sí la transferencia de metabolitos o mediante el intercambio de señales que cada población o individuo detecta y responde a los miembros del consorcio. Esta comunicación permite la existencia de la segunda característica, que en una división del trabajo, ya que la producción general de la asociación se basa en una combinación de funciones ejercidas por individuos o subpoblaciones constituyentes.<sup>14</sup>

Las funciones que realizan las poblaciones mixtas son difíciles o incluso imposibles para diferentes cepas. Por ejemplo, es difícil que las células tengan vías metabólicas independientes y eficaces que les impidan consumir de 5 a 6 átomos de carbono. Sin embargo, en un consorcio, estas funciones se pueden dividir en otras funciones para optimizar la población por separado porque tienen la capacidad de realizar funciones que requieren varios pasos, lo cual es posible cuando estas funciones han sido completadas por diferentes tipos de células. En comparación con la agricultura única, las comunidades de consorcios pueden superar más fácilmente los períodos de nutrientes limitados debido a la diversidad de vías metabólicas disponibles para la mezcla de especies y su capacidad para compartir metabolitos dentro de la comunidad. Cuando los nutrientes están restringidos, las especies más comunes en la comunidad no siempre tienen la actividad metabólica más activa. Por lo tanto, si los grupos minoritarios tienen actividades metabólicas que dependen de la supervivencia de todo el consorcio, las minorías pueden convertirse en las más importantes en la restricción de nutrientes. Población.<sup>13</sup>

#### **2.2.10. Rutas metabólicas del cianuro**

Si bien en algunos casos se han desarrollado tratamientos de eliminación de cianuro basados en la fitorremediación, la mayoría de los procesos de biodegradación emplean microorganismos que tienen la capacidad de utilizar el cianuro como fuente de nitrógeno (Luque-Almagro, 2005a). Hasta el momento se han descrito cuatro tipos de rutas por las que el cianuro es asimilado: hidrolíticas, oxidativas, reductivas y de transferencia/sustitución<sup>16</sup>.

## **2.3. Bases legales**

### **2.3.1. Límites permisibles de cianuro libre en aguas según la legislación peruana**

Según el decreto supremo N° 010- 2010 - MINAM por medio de la cual aprueban límites máximos permisibles para la descarga de efluentes líquidos de actividades minero - metalúrgicas. decreta en el artículo 3° en el párrafo 3.4 que dice límite máximo permisible (LMP), de la medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan al efluente líquido de actividades minero metalúrgicas, y que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el ministerio del ambiente y los organismos que conforman el sistema de gestión ambiental. Ver (Anexo 4).

### **2.4. Determinación de la concentración del cianuro mediante el método colorimétrico**

Es una técnica utilizada para la determinación de cianuro libre en aguas y efluentes en concentraciones mayores a 0,01mg/L.

Mediante el espectrofotómetro se midió la absorbancia a 580 nm mediante la cual el ión cianuro es convertido a cloruro de cianógeno y este compuesto en presencia de reactivo ácido barbitúrico – piridina desarrolla un color rosado la cual es determinada espectrofotométría.<sup>16</sup>



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Tipo y nivel de investigación**

El tipo de investigación realizada fue aplicada – experimental. Se consideró aplicada, ya que la principal contribución fue la de generar conocimientos con aplicación directa a los problemas de la sociedad o el sector productivo en la degradación de cianuro de sodio, utilizando a las bacterias degradadoras de cianuro de sodio. Y se considera investigación del tipo experimental. Se manipuló la variable independiente (consorcios microbianos) para ver su capacidad degradativa del cianuro sobre la variable dependiente (actividad de las bacterias degradadoras de NaCN).

#### **3.2. Ubicación de la PTAR “La Totorá”**

La planta de tratamiento de aguas residuales “La Totorá” se encuentra ubicada al noreste de la ciudad de Ayacucho; distrito de Jesús Nazareno, provincia de Huamanga, región Ayacucho; a una altitud de 2 624 msnm, zona de vida estepa espinosa- montano bajo sub tropical (ee-MBS), con coordenadas geográficas latitud sur 13°8'28.5245", latitud oeste 74°12'23.970" y coordenadas proyectadas (UTM): este 0624044, Norte 8616591.

#### **3.3. Ubicación del laboratorio**

El laboratorio de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga se encuentra ubicada en la ciudad universitaria “Los Módulos” en la ciudad de Ayacucho distrito del mismo nombre provincia de Huamanga región de Ayacucho; a una altitud de 2 750 msnm.

#### **3.4. Procedencias de la muestra de agua**

Las muestras de agua para el aislamiento de microorganismos degradadores de cianuro, fueron obtenidas a partir de las lagunas de maduración II de la planta de tratamiento de agua residuales “La Totorá”.

### **3.5. Muestreo**

Previamente al muestreo, se prepararon los materiales correspondientes como frascos de boca ancha con tapa hermética, estéril; el personal con la indumentaria de bioseguridad.

Una vez en el lugar los frascos fueron rotulados con los datos necesarios y con los cuidados respectivos, los frascos fueron llenados con el bastón de recojo el cual fue sumergido en la laguna de maduración II a una profundidad de 15 a 20 cm y con un movimiento ligero se logró llenar los frascos rotulados con agua residual tratada; seguidamente fue cerrada herméticamente. Se obtuvieron 2 frascos cada uno con 1 000 ml de muestra aproximadamente.

### **3.6. Transporte de muestras**

Los frascos conteniendo la muestra de agua residual tratada fueron acondicionados en una caja de *tecnoport* y trasladados inmediatamente al laboratorio de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

### **3.7. Metodología y recolección de datos**

#### **3.7.1. Aislamiento, adaptación y obtención de cepas bacterianas degradadoras de cianuro**

Las muestras contenidas en los frascos fueron colocadas en una superficie plana y dejadas en reposo por 48 horas para su sedimentación ; transcurrido el tiempo se decantaron los sobrenadantes hasta obtener un sedimento de unos 15 a 20 mL aproximadamente ; cada sedimento, con la ayuda de un asa de kolle, fue sembrado por la técnica de agotamiento de superficie en tres placas de Petri conteniendo agar nutritivo, agar extracto de malta y medio sólido Bussnell Hass, respectivamente, cada uno suplementado con cianuro de sodio a una concentración de 10 mg/L.

Las placas de Petri fueron incubadas a 30° por 48 horas, transcurrido el tiempo revisadas y las colonias bacterianas que crecieron fueron repicadas en viales, conteniendo los mismos medios usados para su aislamiento, obteniéndose así el primer cepario.

#### **3.7.2. Adaptación de cepas bacterianas a la degradación de cianuro**

Se prepararon medios de cultivo (agar nutritivo, extracto de malta y medio sólido Bussnell Hass) cada uno suplementado con concentraciones ascendentes de cianuro de sodio: 20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L, 100 mg/L, 120 mg/L, 140 mg/L, 160 mg/L, 180 mg/L 200 mg/L, 300 mg/L incubadas en las mismas

condiciones anteriores y hasta los 500 mg/L, los cultivos del primer cepario fueron cultivados por la técnica de agotamiento en superficie en los medios correspondientes iniciándose con la concentración más baja , incubándose a 30°C por 48 horas y las colonias resultantes repicadas en medios con la concentración siguiente , y así sucesivamente hasta la concentración más alta. Las colonias bacterianas obtenidas con el medio de cultivo de alta concentración de cianuro de sodio (500 mg/L), fueron repicadas en viales conteniendo los mismos medios utilizados para el aislamiento suplementados con cianuro de sodio, obteniéndose, de esta manera, el segundo cepario.

### **3.7.3. Evaluación de la capacidad degradadora de cianuro por cepas bacterianas**

- Cada cepa bacteriana (segundo cepario) fue sometida a evaluaciones para determinar la capacidad degradadora de cianuro a una concentración aproximada de 200 y 250 mg/L de NaCN, de forma aislada y en todas las combinaciones posibles (consorcios); para lo cual se procedió del siguiente modo:
- cada cepa bacteriana fue rejuvenecida a través de un repique en 10 mL de caldo nutritivo e incubado a 30°C por 24 horas y este a su vez inóculado a otro frasco conteniendo 500 mL de caldo nutritivo e incubado a 30°C hasta obtener un crecimiento equivalente, en turbidez, al tubo N°. 5 de la escala de Mac Farland ( $1,5 \times 10^9$  cel/mL).
- 15 ml de cepa rejuvenecida fue inóculado a un frasco conteniendo 235 ml de medio Bussnell Hass suplementado con cianuro de sodio a una concentración de 200 mg/L. paralelamente se procedió de la misma manera, inóculando 15 ml de la cepa rejuvenecida a otro frasco conteniendo el mismo medio suplementado con cianuro de sodio a una concentración de 250 mg/L.
- Cada cepa bacteriana y los consorcios bacterianos fueron cultivados en las mismas condiciones descritas en el ítem anterior.
- Los frascos fueron incubados a 30°C por cinco días, estos fueron agitados manualmente cada 12 horas, para homogenización y aireación.
- Desde la hora cero (0), cada 12 horas, por un lapso 120 horas, se evaluaron la variación y el porcentaje de degradación de la concentración de cianuro residual.
- En el experimento también fueron evaluados los frascos considerados como blanco, conteniendo el medio Bussnell Hass suplementado con 200 y 250

mgL de cianuro de sodio, a los cuales no se les inoculó ninguna cepa bacteriana.

#### **3.7.4. Medición de cianuro**

##### **Elaboración de la curva patrón**

- En cinco fiolas de 50 mL se agregaron 30 µl, 75 µl, 100 µl, 250 µl, 500 µl de la solución estándar de cianuro de sodio respectivamente; además se consideró una fiola de 50 mL sin NaCN para el blanco. (Anexo 5).
- A cada fiola se agregó 20 mL de hidróxido de sodio 0,04 M. se añadió 4 mL de buffer fosfato (Anexo 5), se mezcló por agitación y se procedió a medir el pH que debió estar entre 5 a 6.
- Se agregó 2 mL de cloramina -T (Anexo 5), se mezcló por agitación y se dejó en reposo por 1 minuto.
- Se agregó 5 mL de ácido barbitúrico-pyridina (Anexo 5), se aforó con agua destilada hasta enrazar 50 mL.
- Luego de 10 - 12 minutos se transfirió a una cubeta del espectrofotómetro 1 mL y se hizo la lectura de la absorbancia a 580 nm; con los resultados obtenidos se construyó la curva patrón.<sup>16</sup>

##### **3.7.5. Medición de cianuro residual en los ensayos**

- De los frascos con cultivos con cepas individuales y los consorcios en medios suplementados con cianuro de sodio a 200 y 250 mg/L, fueron separados, cada 12 horas un mL y vertidas en fiolas de 50 mL de capacidad.
- Cada alícuota fue sometida al mismo procedimiento para elaborar la curva patrón.

##### **3.7.6. Identificación de cepa bacteriana**

Cada cepa bacteriana, a partir de un cultivo joven, fue sometida a la coloración de Gram y sembradas, en una primera instancia en agar nutritivo, agar sangre y agar Mac Conkey y sometidas a las siguientes pruebas bioquímicas: prueba TSI, prueba LIA, citrato de simons, prueba MIO, prueba roja de metilo, prueba Vogest Prostkaer, prueba citrato (Anexo 2).

#### **3.8. Combinación de cepas bacterianas**

A partir de las 5 cepas bacterianas obtenidas se realizaron combinaciones siguiendo la siguiente formula:

$$\binom{n}{k} = \frac{n!}{k!(n-k)!}$$

**Dónde:**

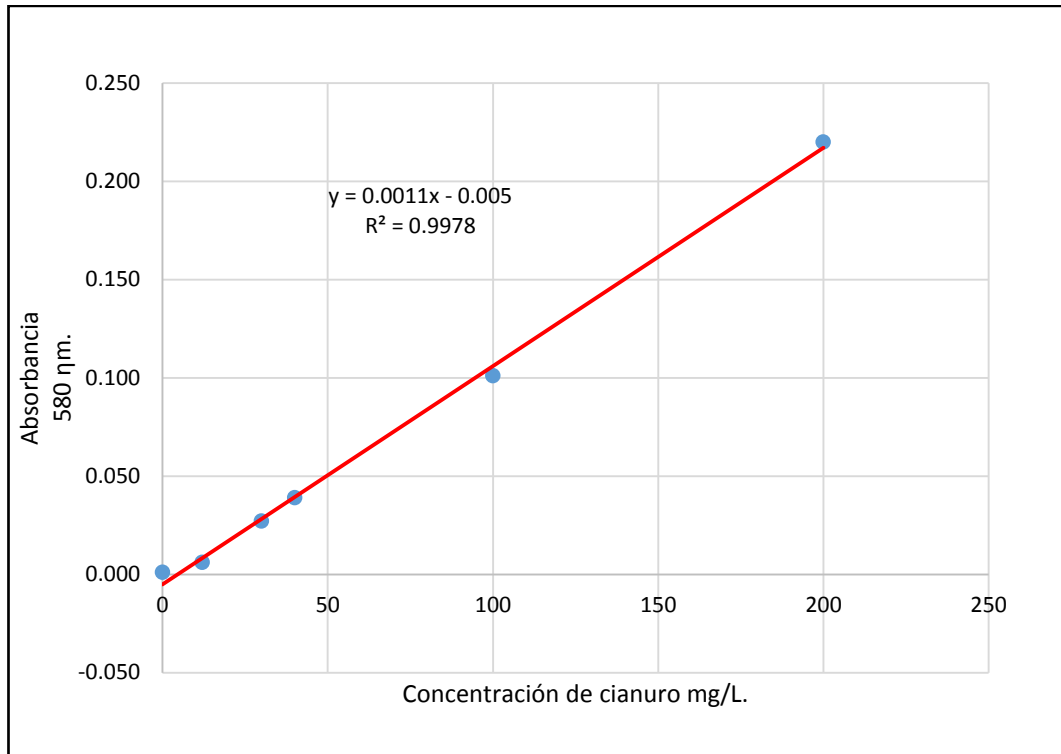
n= Número de cepas bacterianas.

k= Número de cepas a combinar (31 combinaciones)

**3.9. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos fueron utilizados para la construcción de una matriz de datos en el software Excel, para luego ser exportados a INFOSTAT y MINITAB 16, a partir de los cuales se crearon tablas y figuras en los que se presentan estadísticos de tendencia central y de dispersión. Con la finalidad de comparar las concentraciones de cianuro de sodio degradadas en los tratamientos más un testigo, se empleó el análisis de ANOVA, debido a que los datos mostraron distribución normal habiéndose comprobado la distribución normal demostrada mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Para la estimación de la concentración de cianuro, se empleó la metodología de Probit para el cual se empleó el software MINITAB 16 para realizar los análisis estadísticos señalados.

#### **IV. RESULTADOS**



**Figura 1.** Curva patrón de cianuro con el método colorimétrico a una absorbancia 580 nm con espectrofotómetro UV – visible thermo Scientific GENESYS 10, en el laboratorio de microbiología ambiental. Ayacucho Perú 2018.

**Tabla 1.** Cepas de bacterias degradadoras de cianuro aisladas de la laguna de maduración II de la planta de tratamiento de aguas residual “La Totorá”. Ayacucho 2018.

<b>Bacteria</b>	<b>Código</b>	<b>Número de cepas</b>
<i>Pseudomona sp.</i>	BN	1
<i>Klebsiella sp.</i>	EM	1
<i>Escherichia sp.</i>	BH1	1
<i>Pseudomona sp.</i>	BH2	1
<i>Citrobacter sp.</i>	BH3	1
<b>TOTAL</b>		<b>5</b>



**Tabla 2.** Conformación de consorcios bacterianos con cepas aisladas de la laguna de maduración II de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” utilizados en las pruebas de degradación con dos concentraciones iniciales de cianuro de sodio. Ayacucho 2018.

Combinaciones	Número de cepas				
	1	2	3	4	5
1	BN	BH1-BH2	BH1-BH2-BH3	BH1-BH2-BH3-EM	BH1-BH2-BH3-EM-BN
2	EM	BH1-BH3	BH1-BH2-EM	BH1-BH2-BH3-BN	
3	BH1	BH1-EM	BH1-BH2-BN	BH1-BH2-EM-BN	
4	BH2	BH1-BN	BH1-BH3-EM	BH1-BH3-EM-BN	
5	BH3	BH2-BH3	BH1-BH3-BN	BH2-BH3-EM-BN	
6		BH2-EM	BH1-EM-BN		
7		BH2-BN	BH2-BH3-EM		
8		BH3-EM	BH2-BH3-BN		
9		BH3-BN	BH2-EM-BN		
10		EM-BN	BH3-EM-BN		

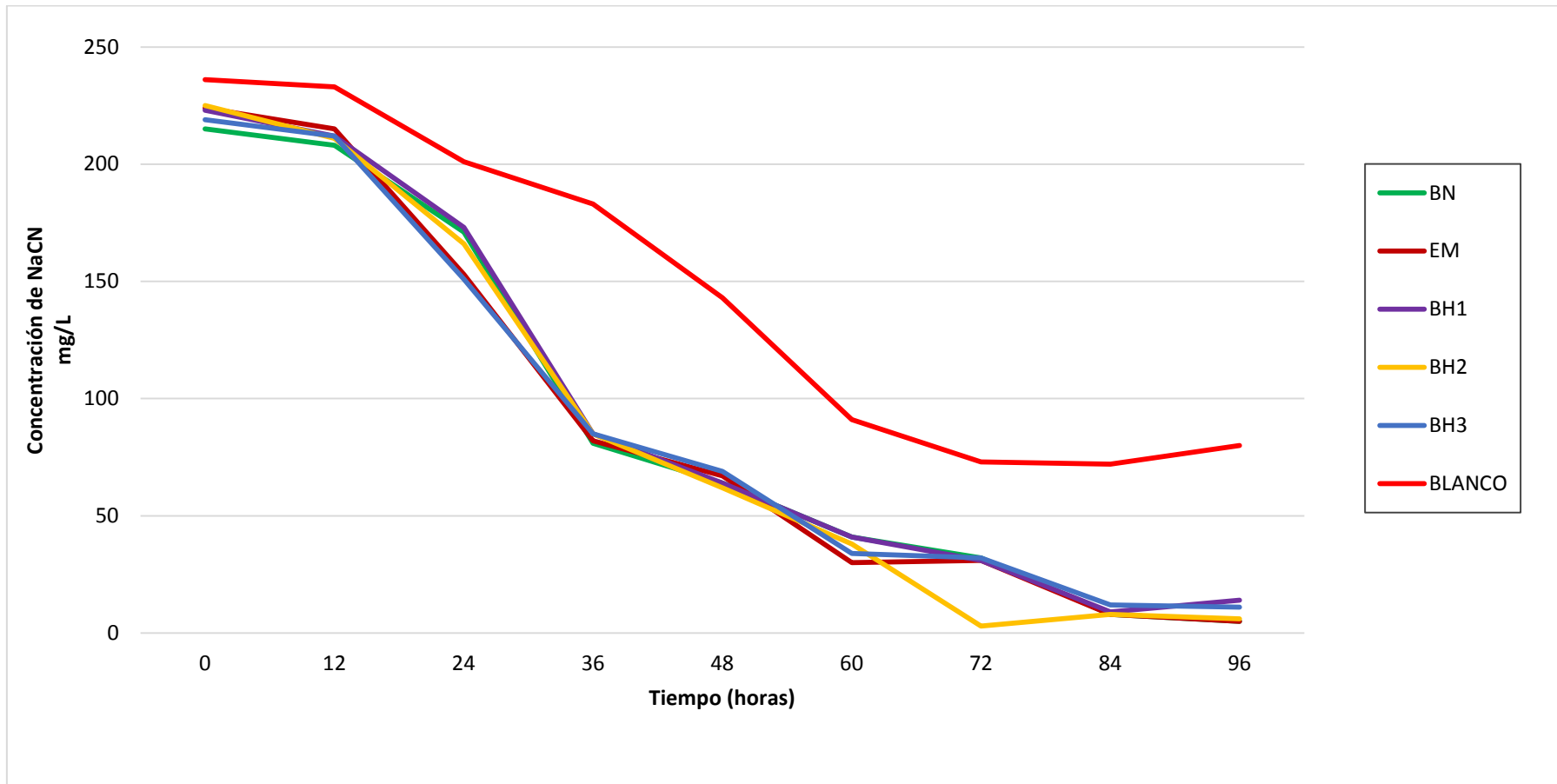
BN: *Pseudomona sp.*

EM: *Klebsiella sp.*

BH1: *Escherichia sp.*

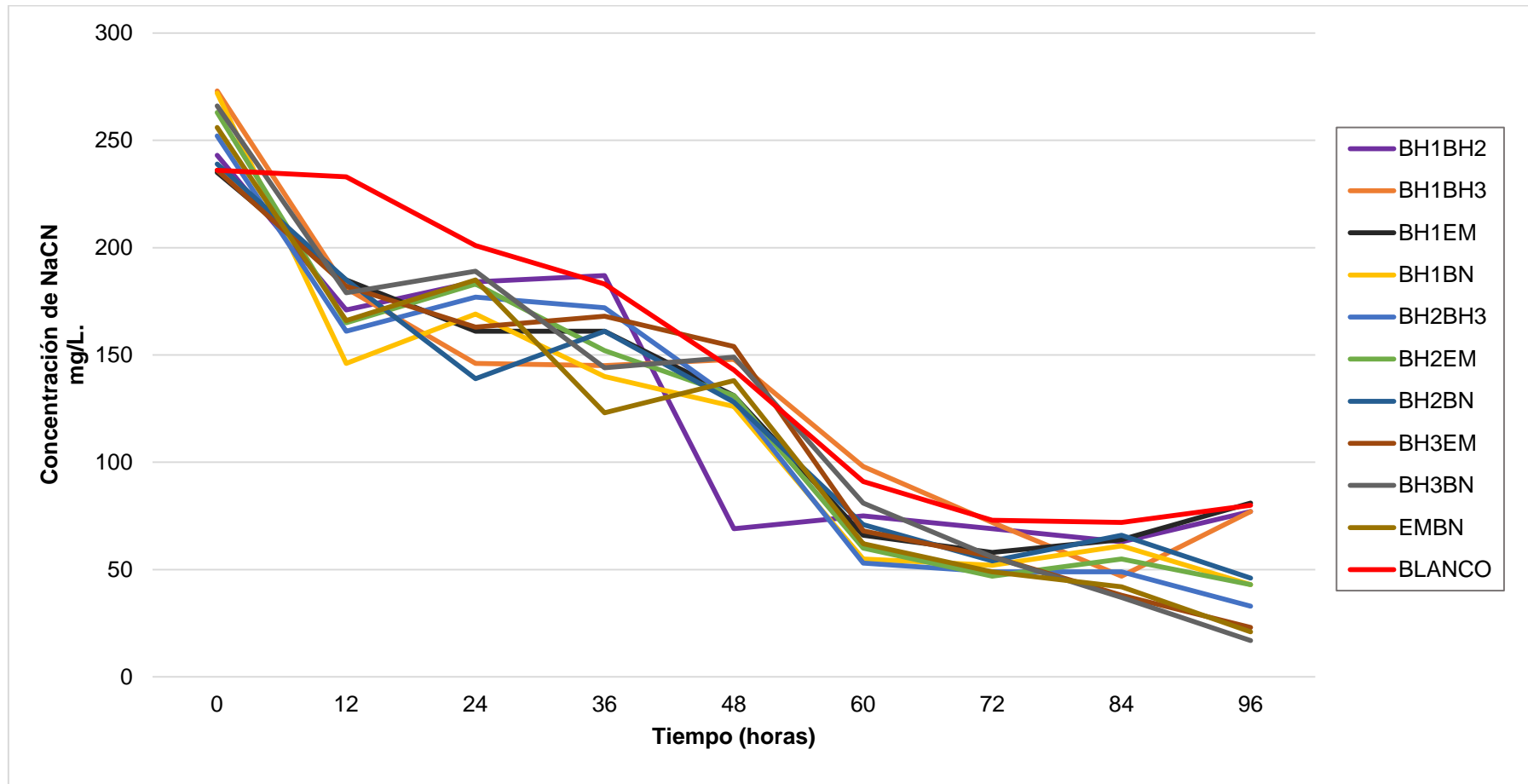
BH2: *Pseudomona sp.*

BH3: *Citrobacter sp.*



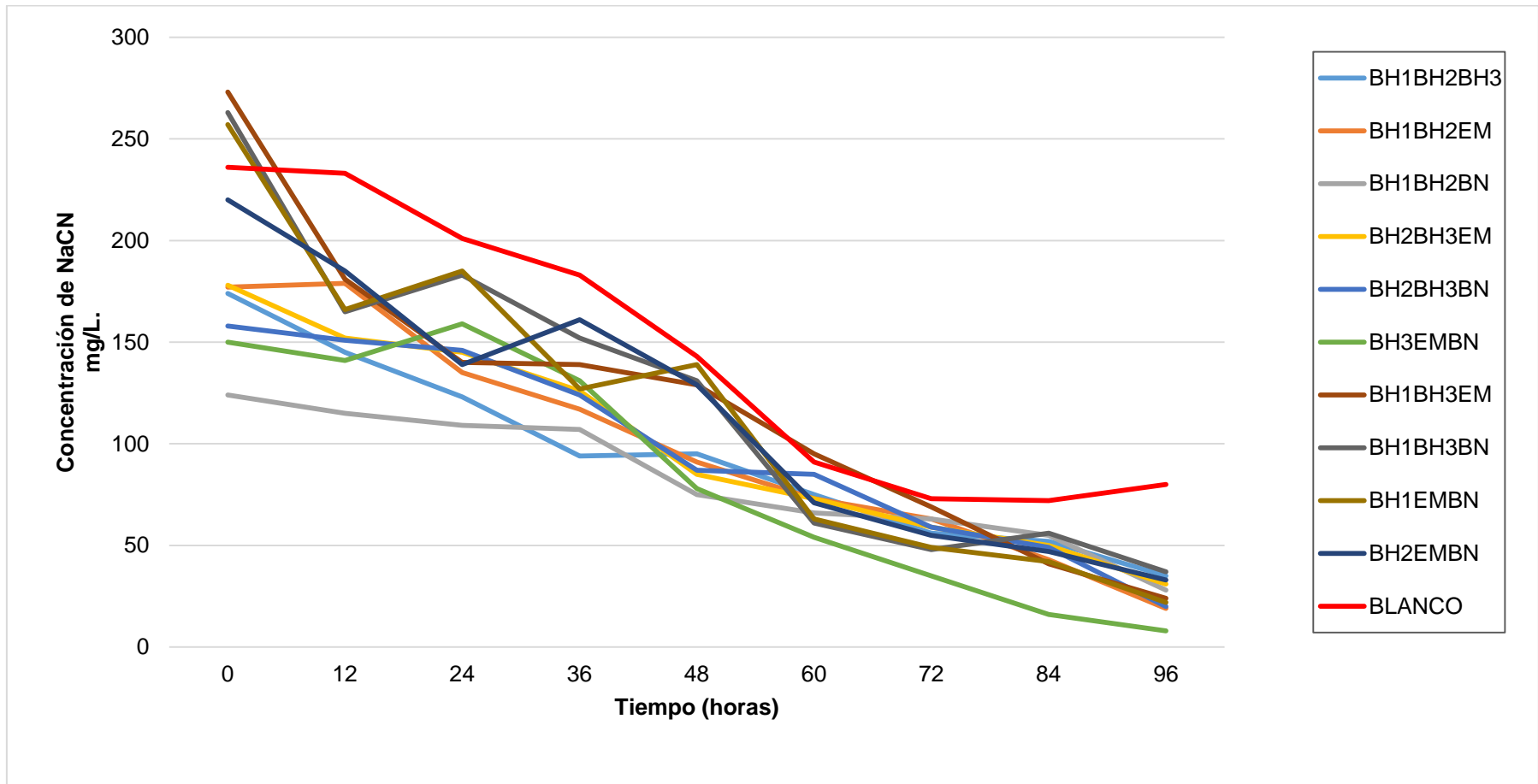
p= 0,000

**Figura 2.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



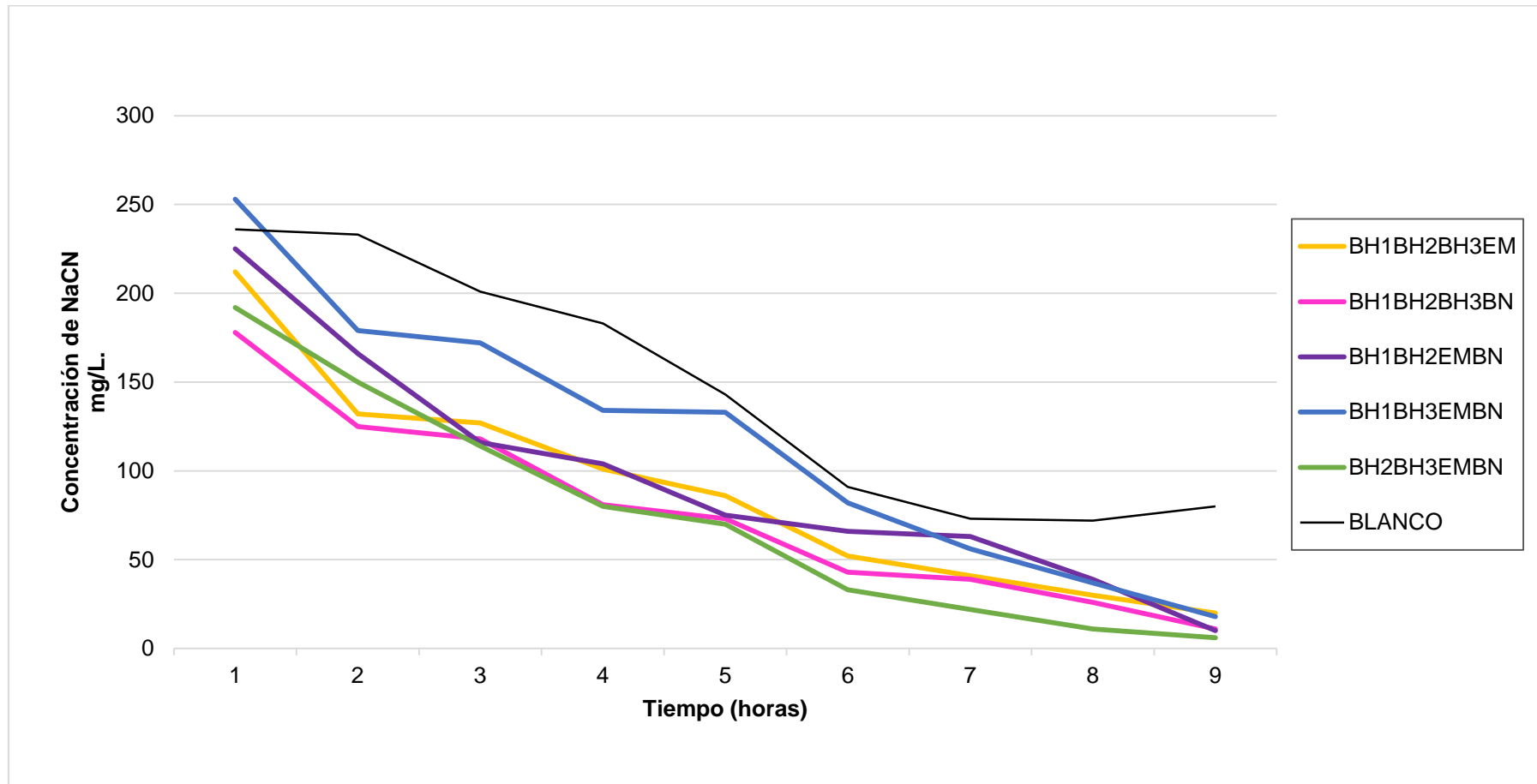
p= 0,000

**Figura 3.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por dos cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



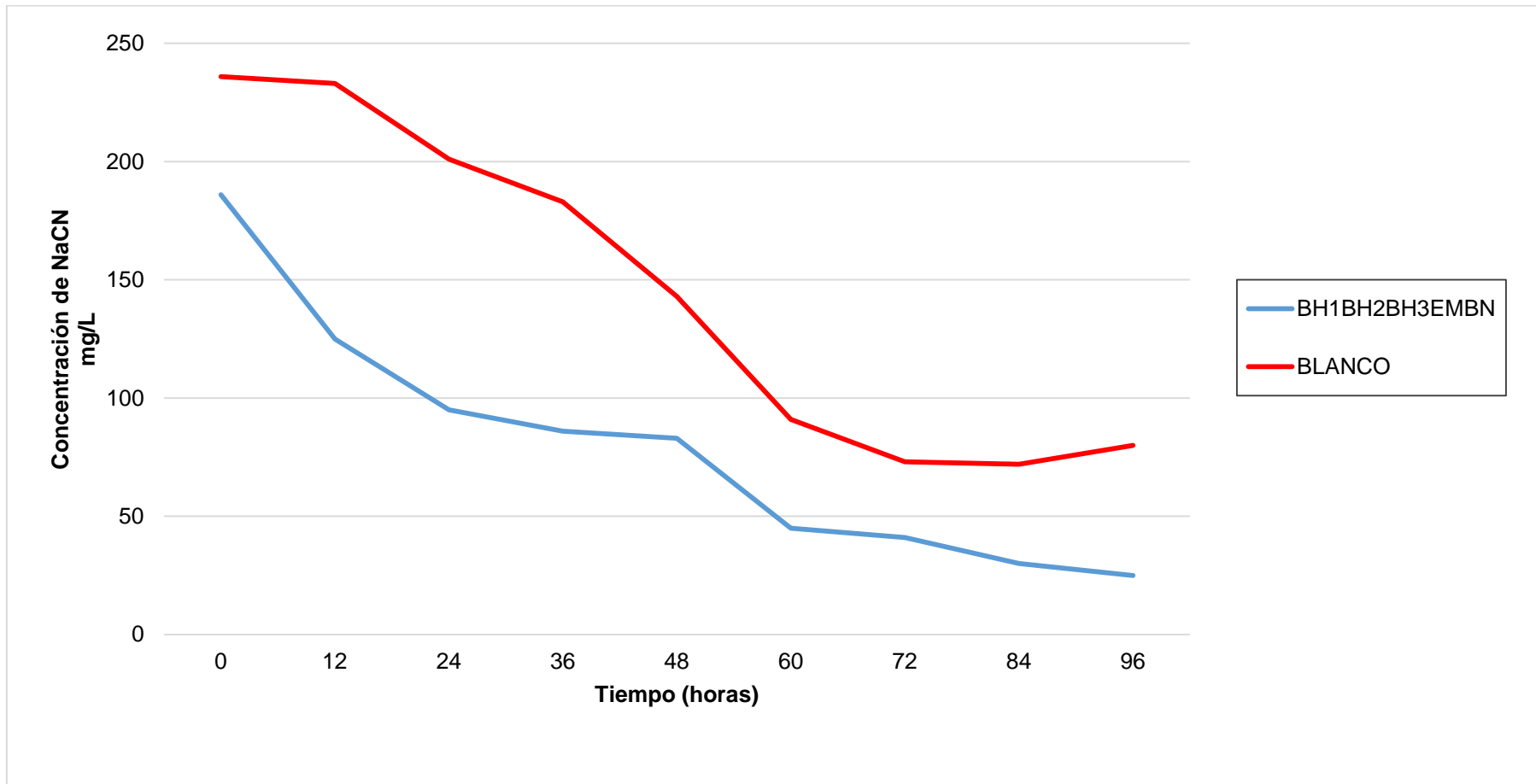
p= 0,000

**Figura 4.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por tres cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



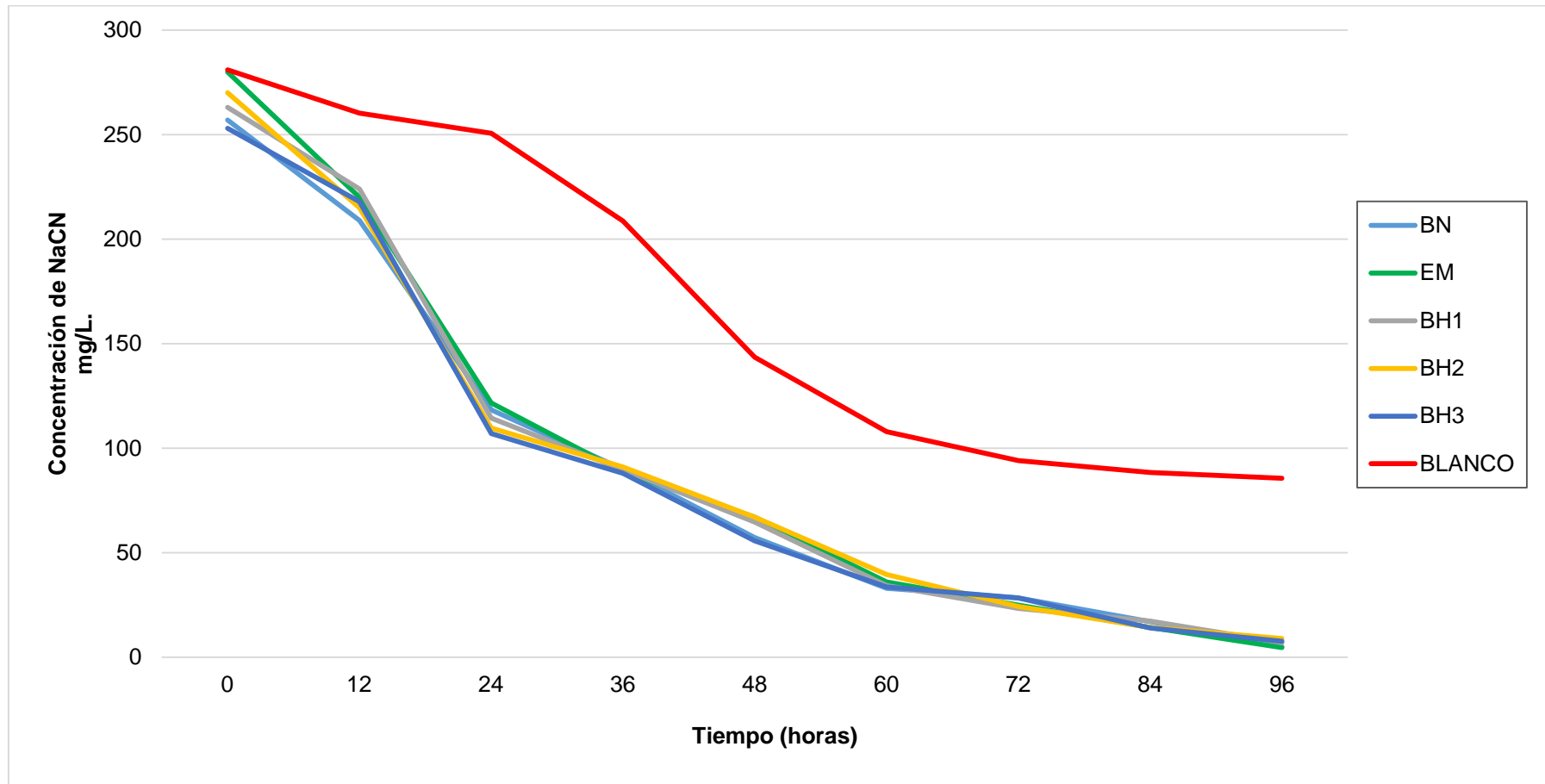
p= 0,000

**Figura 5.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cuatro cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



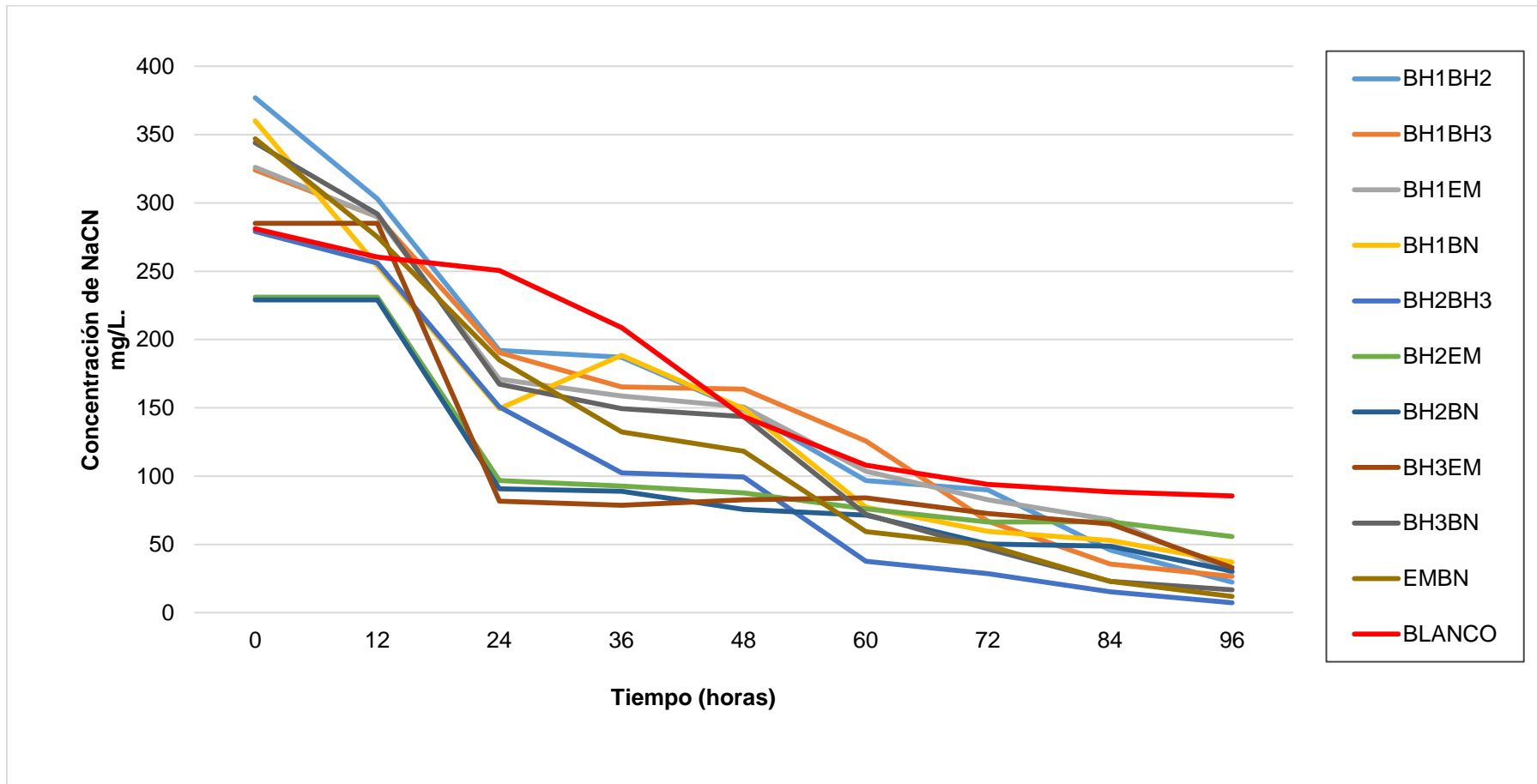
p= 0,002

**Figura 6.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cinco cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



p= 0,000

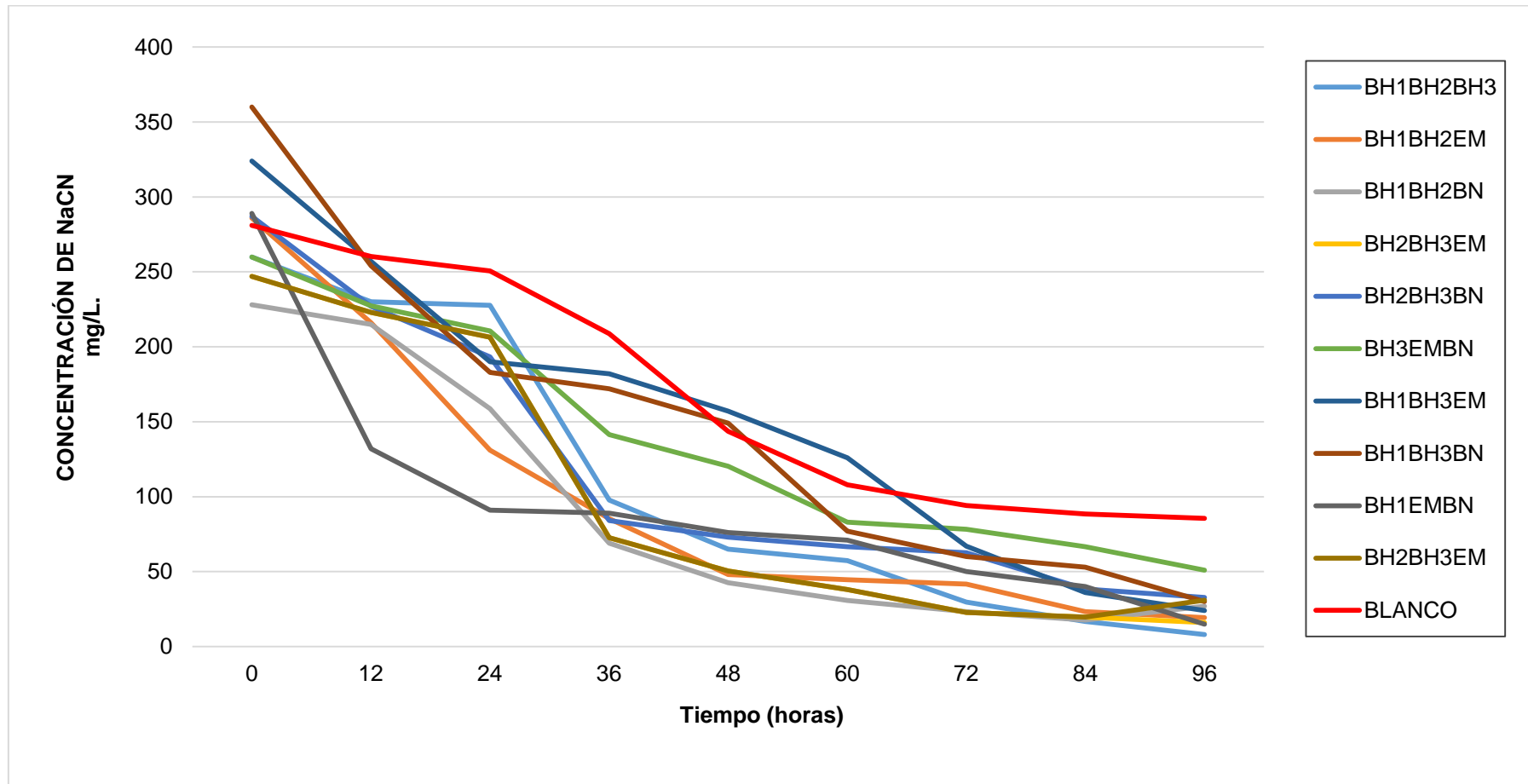
**Figura 7.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



p= 0,000

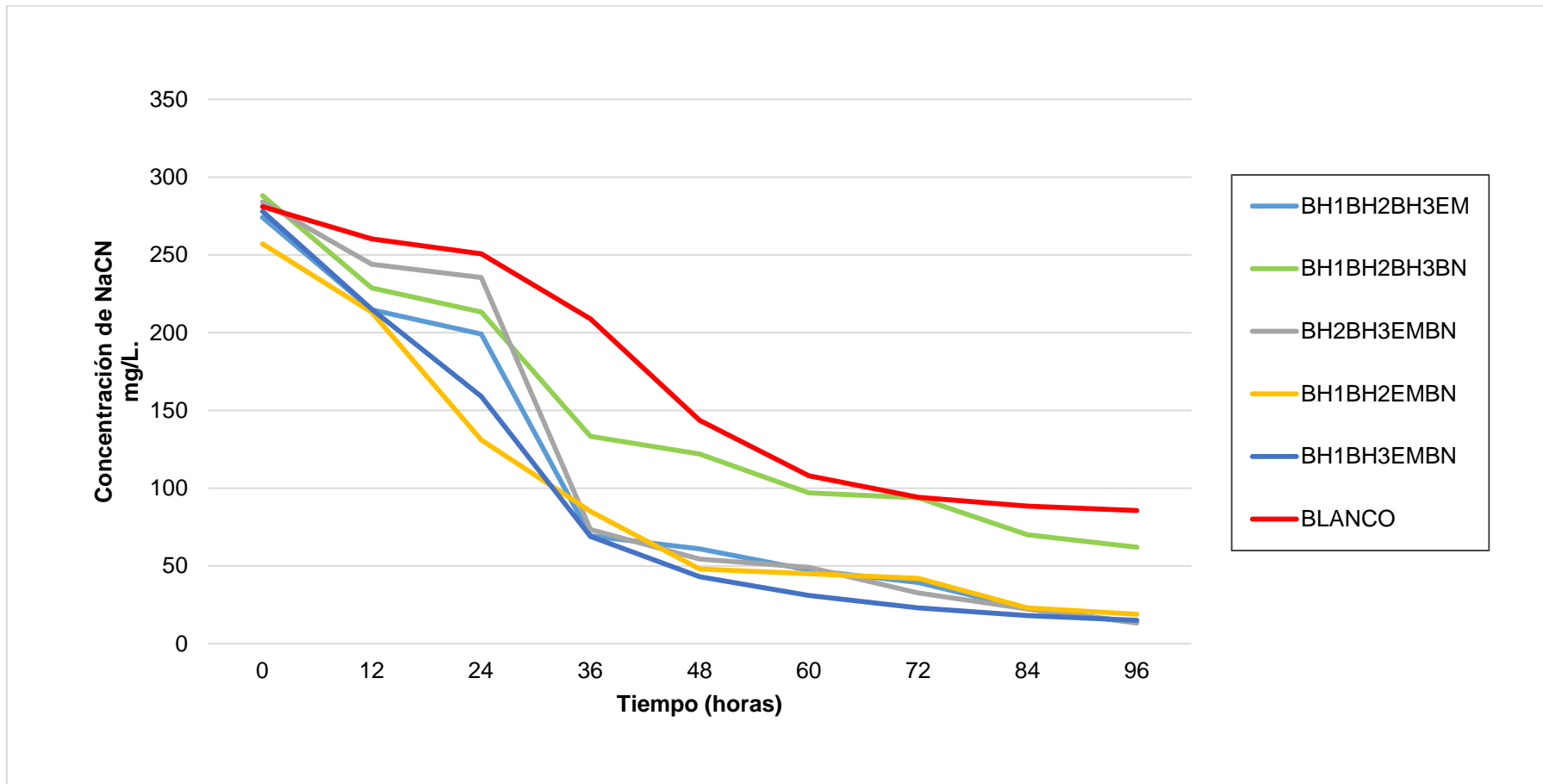
**Figura 8.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por dos cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.





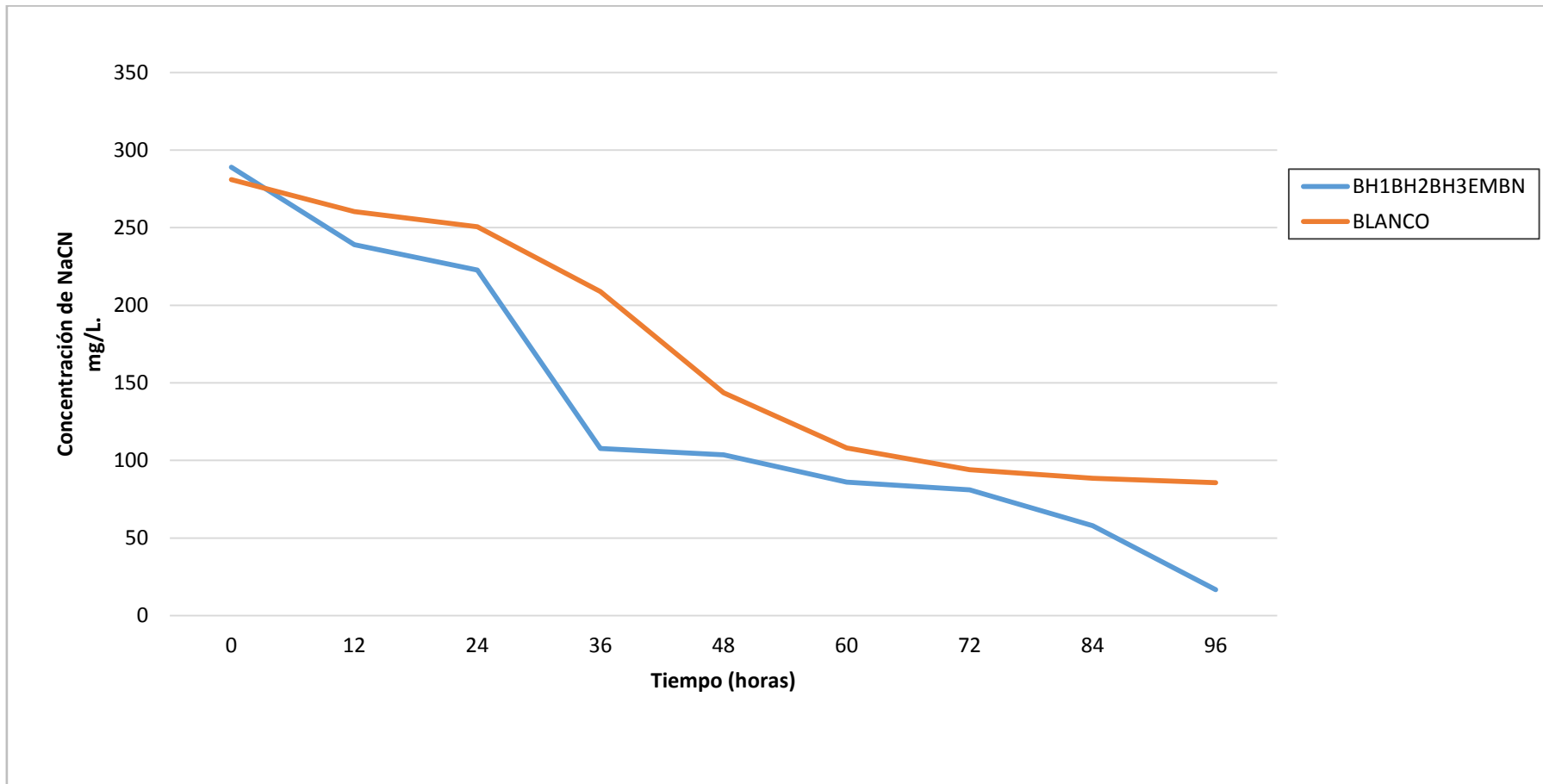
p= 0,000

**Figura 9.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por tres cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



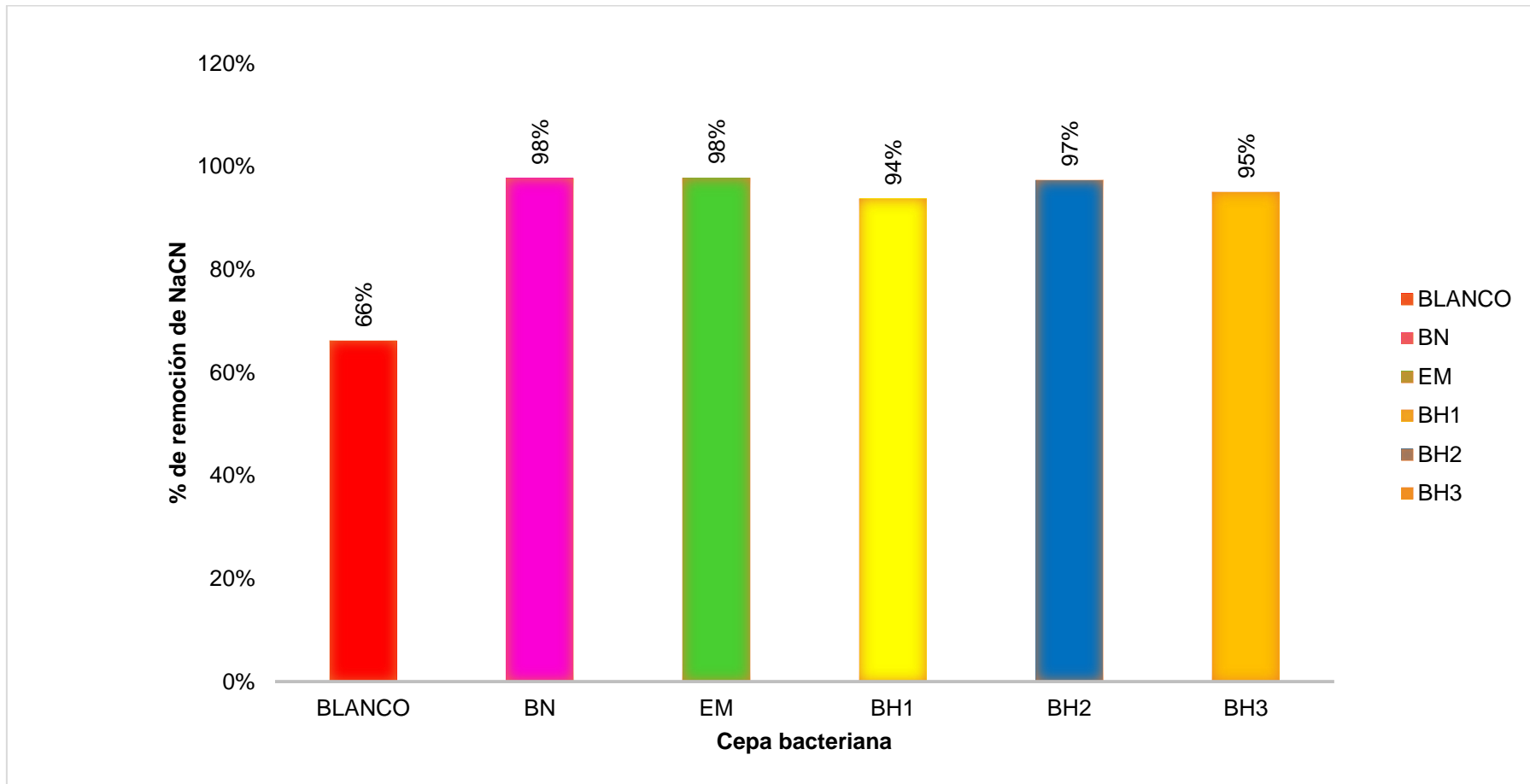
p= 0,000

**Figura10.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cuatro cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



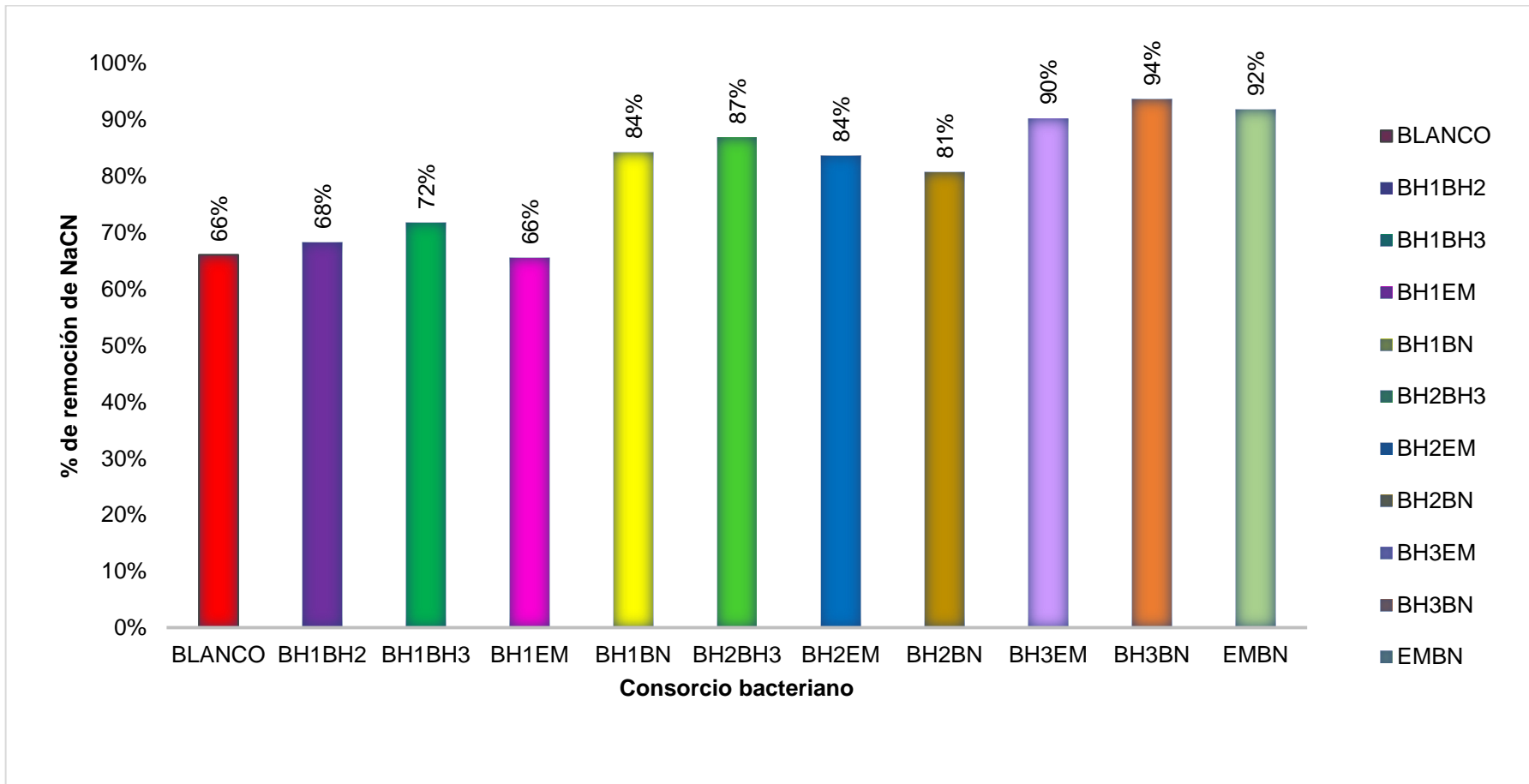
p= 0,000

**Figura 11.** Concentración de NaCN según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por consorcio conformado por cinco cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”. Ayacucho 2018.



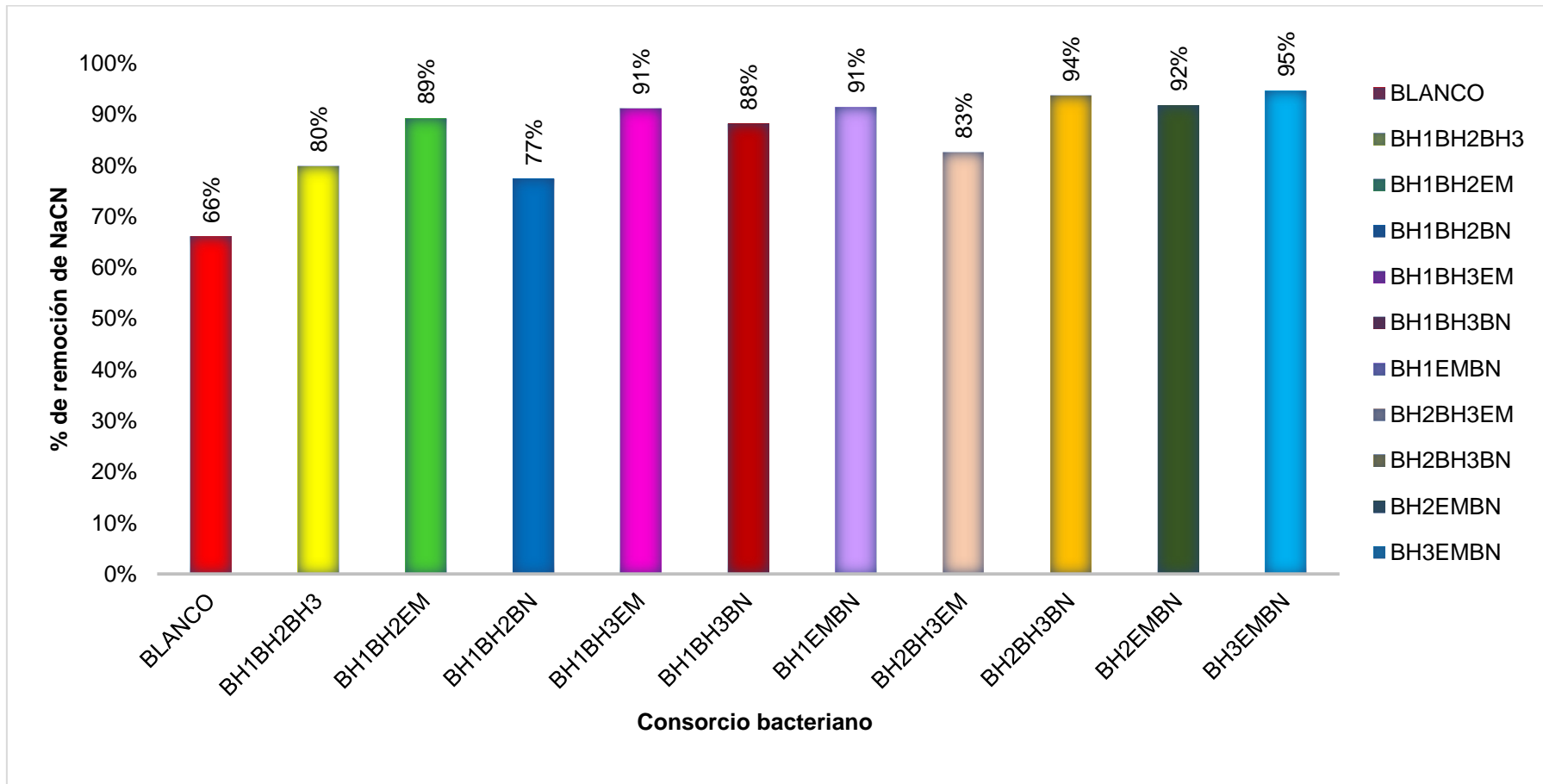
\*Concentración inicial 200 mg/L aproximadamente.

**Figura 12.** Remoción de NaCN\* por cepas de bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



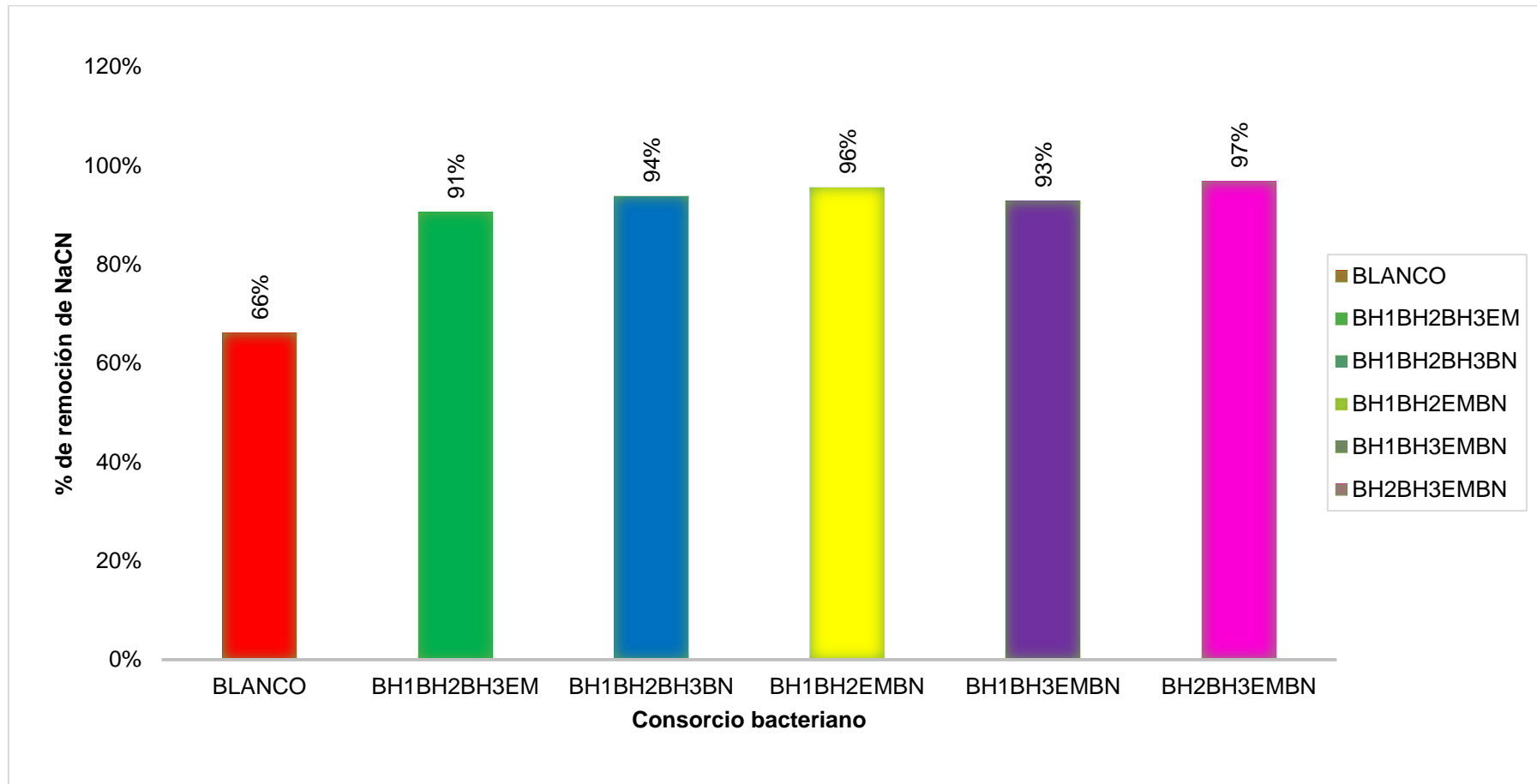
\*Concentración inicial 200 mg/L aproximadamente.

**Figura 13.** Remoción de NaCN\*conformada por dos cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



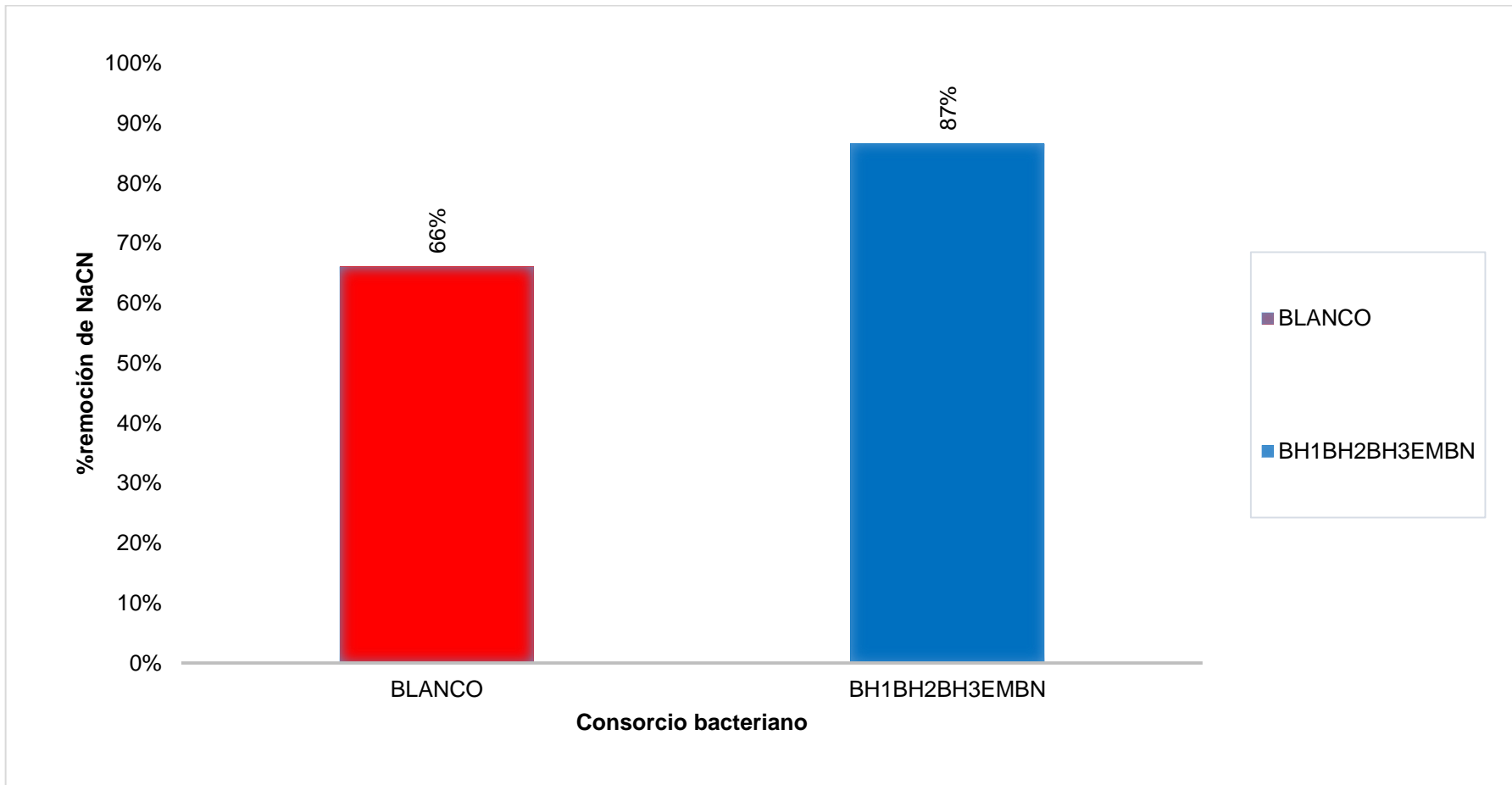
\*Concentración inicial 200 mg/L aproximadamente.

**Figura 14.** Remoción de NaCN\* conformada por tres cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



\*Concentración inicial 200 mg/L aproximadamente.

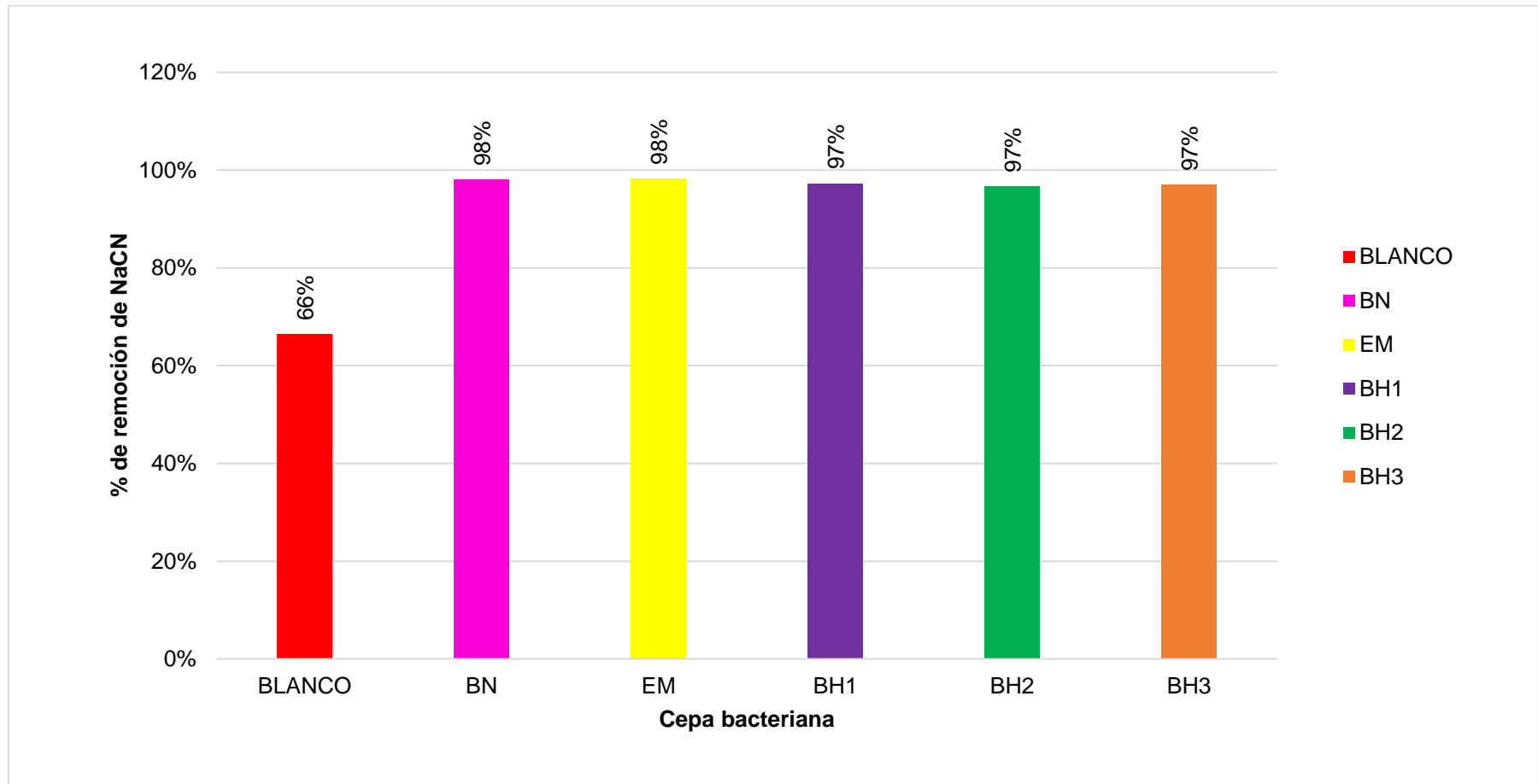
**Figura 15.** Remoción de NaCN\* conformada por cuatro cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



\*Concentración inicial 200 mg/L aproximadamente.

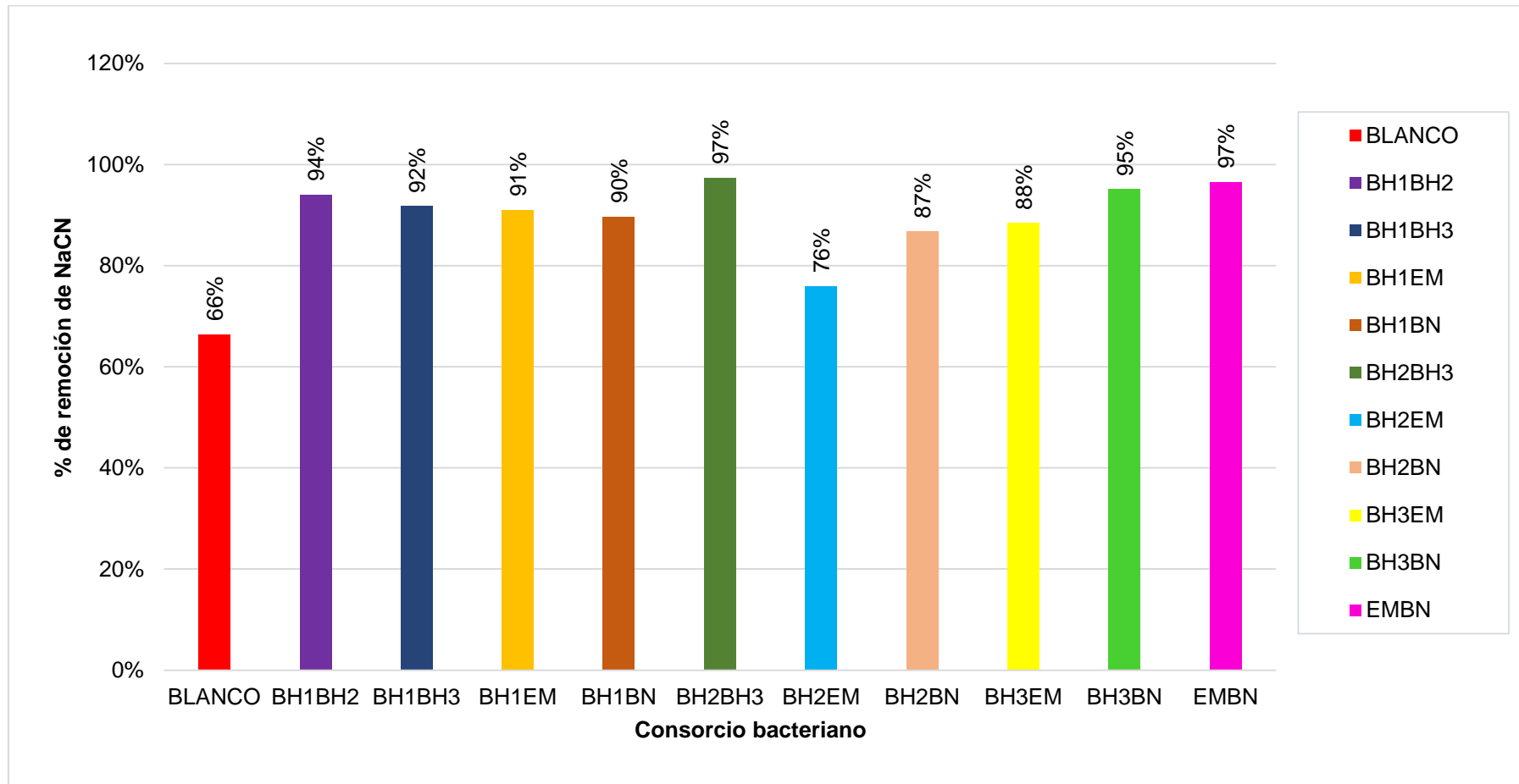
**Figura 16.** Remoción de NaCN\* conformada por cinco cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.





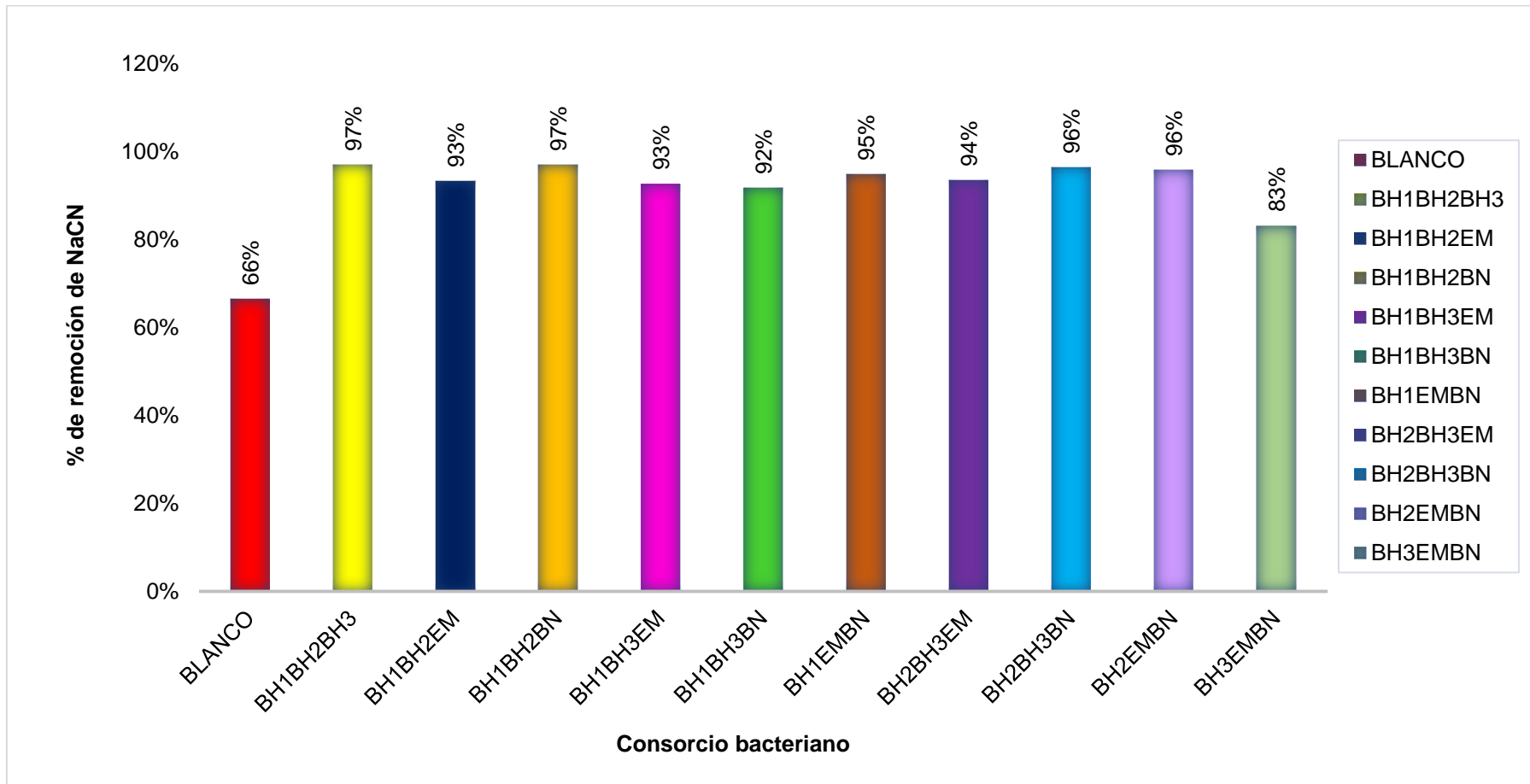
\*Concentración inicial 250 mg/L aproximadamente.

**Figura 17.** Remoción de NaCN\* por cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Titora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



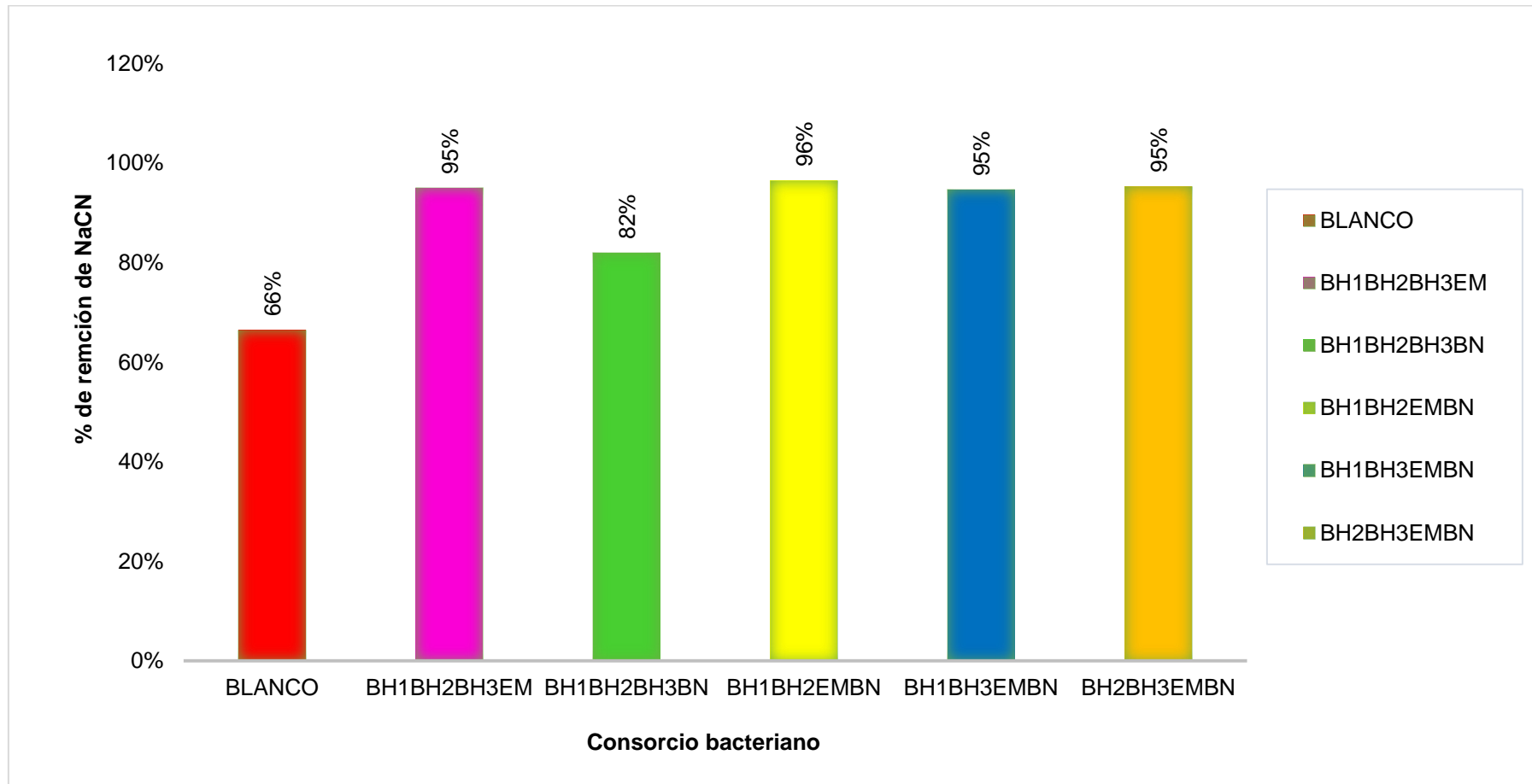
\*Concentración inicial 250 mg/L aproximadamente.

**Figura 18.** Remoción de NaCN\* conformada por dos cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



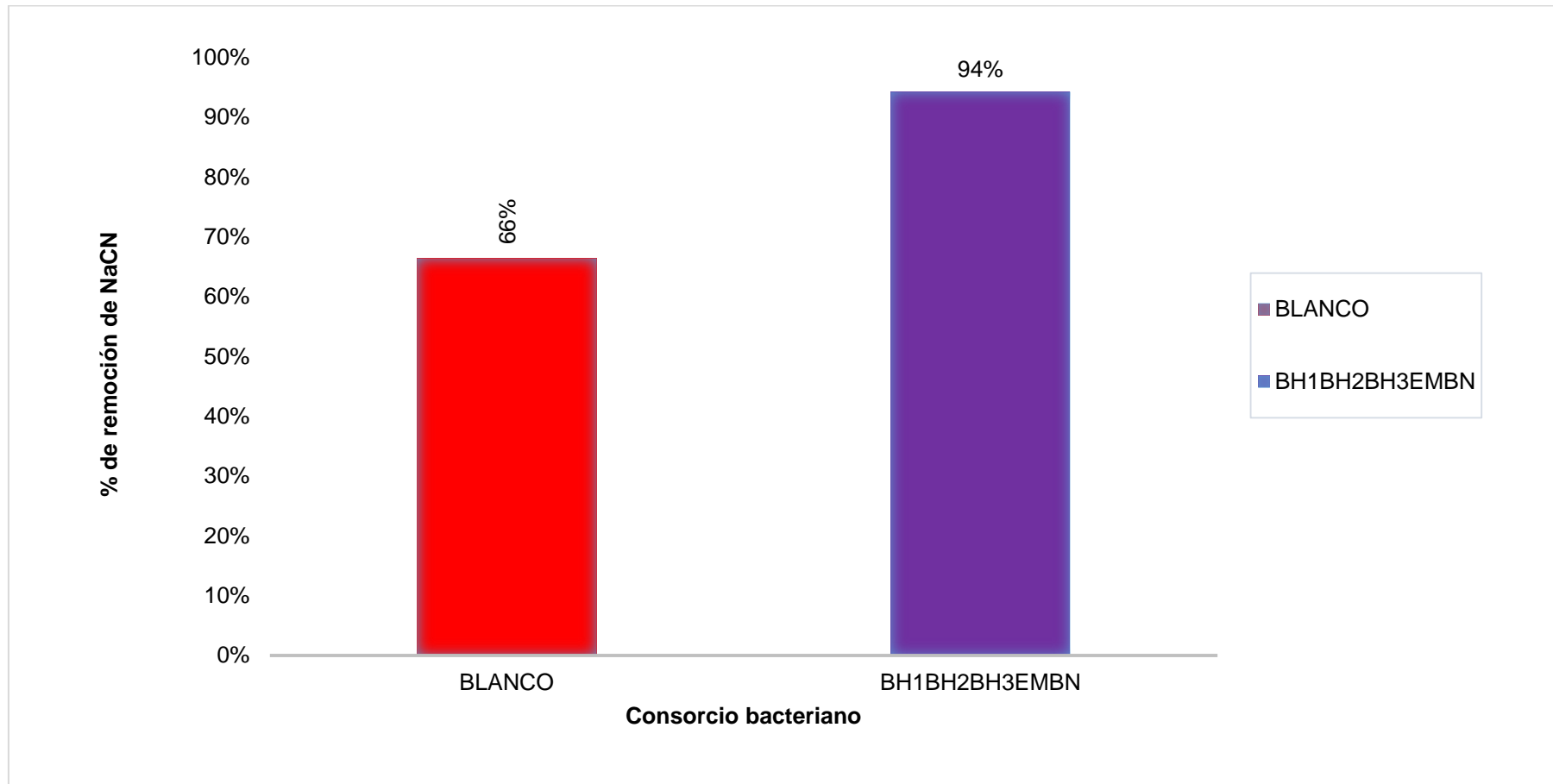
\*Concentración inicial 250 mg/L aproximadamente.

**Figura 19.** Remoción de NaCN\* conformada por tres cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



\*Concentración inicial 250 mg/L aproximadamente.

**Figura 20.** Remoción de NaCN\* conformada por cuatro cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.



\*Concentración inicial 250 mg/L aproximadamente.

**Figura 21.** Remoción de NaCN\* conformada por cinco cepas de bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Titora” durante las 96 horas de incubación. Ayacucho 2018.

## V. DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestran los resultados de la identificación de las cepas bacterianas degradadoras de cianuro aisladas de la laguna de maduración II de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) “La Totorá”; en la cual se reportan que las cinco cepas obtenidas corresponden a *Pseudomonas* sp. (BN), *Klebsiella* sp. (EM), *Escherichia* sp. (BH1), *Pseudomonas* sp. (BH2), y *Citrobacter* sp. (BH3); estas cepas mostraron la capacidad de crecer en un medio mínimo de sales (Bussnell Hass) enriquecido con cianuro de sodio a una concentración máxima de 300 mg/L.

Nuestros resultados sobre la capacidad degradadora de cianuro de sodio fueron corroborados por Montoya, C. (2001)<sup>17</sup>, quien manifiesta que las bacterias son buenas degradadoras de cianuro y dentro de ellas menciona algunas especies de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, este último género es considerado entre los mejores para la degradación de cianuro debido a su versatilidad metabólica, ya que tiene una amplia capacidad oxidativa y una alta adaptabilidad para utilizar una gran variedad de sustancias químicas como fuente de carbono y nitrógeno (Luque, V. 2005, Mac, Faddin, Jean F 2003)<sup>18</sup>; por otro lado según Ebbs, 2004; Dzombak *et al.*, 2006 y Gupta *et al.*, 2010<sup>19</sup> mediante una tabla nos muestran las categorías generales de las reacciones enzimáticas de degradación de cianuro por parte de *Pseudomonas* sp., *Escherichia* sp. y *Klebsiella* sp. los cuales fueron usados en el presente trabajo el cual es corroborado por Tuya J.(2014)<sup>20</sup>. Así mismo, Morillo y Guevara (2015)<sup>21</sup> mencionan que aislaron e identificaron un cultivo de *Pseudomonas* sp. procedentes de las pozas de oxidación de la PTAR de Covicorti, Trujillo (Perú), con capacidad de degradar concentraciones de 1000 ppm de cianuro de sodio y tolerar un pH de 10,5. Kuyucak y Akcil, (2013)<sup>22</sup> mencionan que tuvieron éxito en el tratamiento con diferentes residuos industriales utilizando metodologías biológicas, siendo responsables en la degradación biológicas las bacterias (Akcil

*et al.*, 2003)<sup>23</sup>, las estructuras químicas como el cianuro son capaces de descomponer varias funciones metabólicas. (Botz, 2001)<sup>24</sup>. La biodegradación del cianuro ocurre porque ciertos grupos microbianos (principalmente bacterias) usan nitrógeno y carbono como fuentes de cianuro. (Oudjehani *et al.*, 2002; Trapp *et al.*, 2003)<sup>25</sup>.

Asimismo, menciona que existen varios microorganismos que fueron evaluados y aislados en suelos resultantes de la minería, siendo más representativos los géneros *Exiguobacterium*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia* y *Acinetobacter*, que en condiciones anaeróbicas se observó reducción del arseniato. (Zagury *et al.*, 2004; Anderson y Cook, 2004)<sup>26</sup>.

Son géneros productoras de enzimas convertidoras en cianuro (Ingvorsen *et al.*, 1991)<sup>27</sup>, entre ellos están *Chromobacterium violaceum* que desecha y/o degradan a este compuesto (Ebbs *et al.*, 2004)<sup>17</sup>, *Klebsiella oxytoca* (Ebbs, 2004)<sup>17</sup>; *Burkholderia cepacia* (Adjei y Ohta, 2000)<sup>28</sup>. son otras especies previamente identificadas que por su capacidad degradan al cianuro. Existen informes de cepas de *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes*, que desintoxican al cianuro importantes en los relaves mineros. (Porter y Knowles, 1979)<sup>29</sup>.

En la Figura 2, muestra los valores de la concentración de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por cinco cepas bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR "La Totora"; las cepas bacterianas *Pseudomona sp.* (BN), *Klebsiella sp.* (EM), *Escherichia sp.* (BH1), *Pseudomona sp.* (BH2), y *Citrobacter sp.* (BH3) iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 215 a 225 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron valores en un rango de 14 a 5 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado los valores del control o blanco fueron de 236 mg/L como NaCN inicial y de 80 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Los valores de degradación obtenidos con las cepas en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  y con valor  $F=68,52$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (ver Anexo 6), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro -Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 27) por otro lado, las concentraciones de degradación comparados entre las cepas mostraron diferencias significativas, establecidas por la prueba de Tukey (ver Anexo 17).

En la Figura 3, muestran la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo formado por 10 consorcios bacterianos; y asociados en dos cepas cada uno: *Escherichia sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH1 + BH2), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH3), *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+EM), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BN), *Pseudomonas sp.* + *Citrobacter sp.* (BH2+BH3), *Pseudomonas sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+EM), *Pseudomonas sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH2+BN), *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH3+EM), *Citrobacter sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH3+BN), *Klebsiella sp.* + *Pseudomonas sp.* (EM+BN) los cuales iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 273 a 235 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron las concentraciones en un rango de 81 a 17 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado, las concentraciones del control o blanco fueron de 236 mg/L como NaCN inicial y de 80 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Las concentraciones de degradación obtenidos con los consorcios en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (ver anexo 7), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 27) por otro lado los consorcios BH1EM, BH1BH3 BH1BH2, BH2CN, BH2EM, BH1BN no mostraron diferencia significativa establecidas por la prueba de tukey (ver anexo 18) a diferencia de los consorcios formados por las cepas BH2BH3, BH3EM, EMBN, BH3BN las cuales mostraron diferencia significativa en la cual se ha observado fenómenos de inhibición y/o antagonismo altamente positivo (+++) entre las cepas que formaron los consorcios *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+EM) con resultados comparados con el blanco porque en ambos casos no llegaron a degradar NaCN; así también se puede observar que existe los fenómenos de inhibición y/o antagonismos positivo (+) entre las cepas que conforman los consorcios *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH3), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2), *Pseudomona sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+BN), *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+EM), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BN) puesto que en estos casos a pesar de que si degradaron cianuro pero fue en cantidades mínimas de NaCN; por otro lado no se ha observado



fenómenos de inhibición y/o antagonismos entre los consorcios que conforman: *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* (BH2+BH3), *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH3+EM), *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (EM+BN), *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH3+BN); ya que en estos casos si llegaron a degradar prácticamente las mismas cantidades de NaCN. Como se puede apreciar en las concentraciones del testigo o blanco (sin la presencia de microorganismos) durante el tiempo de incubación ocurre una disminución notable del contaminante (NaCN), esta situación podría explicarse porque ocurre un proceso de evaporación o a alguna transformación química espontánea.

En la Figura 4, muestra la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo formado por 10 consorcios bacterianos; y asociados por tres cepas cada uno: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH2+BH3), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+EM), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BN), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH3+EM), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+BN), *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+EM+BN), *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+EM), *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+BN), *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+EM+BN), *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH3+EM+BN), iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 273 a 124 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron las concentraciones en un rango de 35 a 8 mg/L de NaCN como cianuro residual, las concentraciones del control o blanco fueron de 236 mg/L como NaCN inicial y de 80 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Las concentraciones de degradación obtenidos con los consorcios en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (ver anexo 8), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 27) por otro lado, los consorcios BH1BH3BN, BH1BH2BH3, BH2BH3EM, BH1BH2BN, BH1BH3EM, BH1EMBN, no mostraron diferencias significativas, establecidas

por la prueba de Tukey (ver anexo 19) mientras que los consorcios formados por las cepas BH2BH3BN, BH1BH2EM, BH2EMBN, BH3EMBN; mostró que existe diferencia significativa en comparación con los demás consorcios.

En la Figura 5, muestra la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo formado por 5 consorcios bacterianos; y conformados por cuatro cepas cada uno: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+BH3+EM), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+BN), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+EM+BN), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+EM+BN), *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+BH3+EM+BN) iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 253 a 178 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron concentraciones en un rango de 20 a 6 mg/L de NaCN como cianuro residual, las concentraciones del control o blanco fueron de 236 mg/L como NaCN inicial y de 80 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Los valores de degradación obtenidos con los consorcios en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (ver anexo 9), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 27) por otro lado, los consorcios no mostraron diferencias significativas, establecidas por la prueba de Tukey (ver anexo 20).

En la Figura 6, muestra la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo formado por un consorcio bacteriano; y conformado por cinco cepas: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+EM+BN), iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial de 186 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvo 25 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado las concentraciones del control o blanco fueron de 236 mg/L como NaCN inicial y de 80 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo

tiempo de incubación. Las concentraciones de degradación obtenidos con los consorcios en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,002$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (ver anexo 10). los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 27) por otro lado, los consorcios no mostraron diferencias significativas, establecidas por la prueba de Tukey (ver anexo 21)

Al respecto Johnson, (2014)<sup>30</sup> manifiesta que, mediante procesos físicos, químicos y biológicos naturales pueden transformarse en otros productos químicos menos tóxicos, siendo no persistente el cianuro. Hernández, (2010)<sup>31</sup> también manifiesta que al exponer al aire y otros oxidantes el cianuro se oxida descomponiéndose. Por otro lado, Logsdon *et al.*, (2001)<sup>32</sup> señala que al ingerir a una dosis de 200 mg L<sup>-1</sup> es muy toxico, produciendo problemas de salud crónicos como también en el medio ambiente a una concentración mínima. Así también, Rodallega, S. (2015)<sup>33</sup> manifiesta que la evaporación es uno de los factores importantes para la biodegradación de cianuro, puesto que las sales simples de cianuro (NaCN y KCN) se evaporan en el agua produciendo cianuro de hidrogeno (HCN) con un pH de 9.3, dividiéndose en dos, la mitad como HCN y la otra como ión CN<sup>-</sup>, y más del 90% existe como HCN a un pH por debajo de 8.4. (Domínguez & Cobos, 2008, citado por Rodallega, S. (2015)<sup>33</sup>. Menciona que el cianuro de hidrogeno (HCN) se volatiliza inmediatamente en superficies liquidas a condiciones ambientales a una presión alta de 100 KPa a 26°C, produciéndose una disminución en la concentración de iones. La concentración de HCN produce volatilización por los siguientes factores: pH, temperatura, profundidad de la solución área de la superficie y mayormente por la concentración total de cianuro. (Domínguez & Cobos, 2008, citado por Rodallega, S. (2015)<sup>33</sup>. Por lo anterior, en su estudio Rodallega, S. (2015)<sup>33</sup> Para evitar la conversión de cianuro total a cianuro de hidrogeno se usa un tampón de fosfato con un pH de 8. A pesar de la disminución del cianuro por efectos no biológicos los resultados obtenidos en los experimentos evaluados evidencian que las cinco cepas bacterianas tienen capacidad de degradar el NaCN puesto que al comparar los valores con el control se obtuvieron resultados mucho más bajos como cianuro residual (de 5 a 14 mg/L de NaCN) y con significancia estadística con  $p=0,000$ . Los resultados obtenidos son respaldados por investigaciones similares; así tenemos que, Kunz D, y Chen J. (1998)<sup>34</sup>

encontraron que *P. fluorescens* NCIMB11764 fue eficaz en la remoción de formas simples de CN<sup>-</sup> (KCN) en las primeras 72 horas, utilizando el compuesto cianurado como único inductor enzimático; así también, Quiroga, P (2009)<sup>35</sup>. menciona que el cianuro induce la producción de cianuro oxigenasa y se obtiene como productos de conversión enzimática CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> y α-cetoácidos como coproductos; así mismo Riani, J y col. (2007) y Akcil, A y col. (2003)<sup>36</sup> mencionan que esta podría ser una de las vías que utiliza la bacteria durante la degradación del cianuro de sodio. Cabe resaltar también que es posible que la biodegradación no haya sido totalmente completa y en el medio permanezcan compuestos intermedios entre cianuro y amonio, como cianatos, tiocianatos y formatos. Figueira, M y col. (1996) y Akcil, A y col. (2003)<sup>37</sup> mencionan que todo el cianuro pudo ser convertido a amonio y éste, por procesos de nitrificación pasar a nitritos y nitratos o por procesos de regeneración a α-cetoácidos, en presencia de CO<sub>2</sub>.

En la Figura 7, muestra la concentración de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo por cinco cepas bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”; las cepas bacterianas *Pseudomona sp.* (BN), *Klebsiella sp.* (EM), *Escherichia sp.* (BH1), *Pseudomona sp.* (BH2), y *Citrobacter sp.* (BH3) iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 280 a 253 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron concentraciones en un rango de 9 a 5 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado las concentraciones del control o blanco fueron de 286 mg/L como NaCN inicial y de 96 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Las concentraciones de degradación obtenidos con las cepas en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de p=0,000 obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (ver anexo 11), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con P > α siendo α con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 30) por otro lado, las concentraciones de degradación comparados entre los consorcios no mostraron diferencias significativas, establecidas por la prueba de Tukey (ver anexo 22).

En la Figura 8, muestra la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo formado por 10

consorcios bacterianos; conformado por dos cepas cada uno: *Escherichia sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH1 + BH2), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH3), *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+EM), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BN), *Pseudomonas sp.* + *Citrobacter sp.* (BH2+BH3), *Pseudomonas sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+EM), *Pseudomonas sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH2+BN), *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH3+EM), *Citrobacter sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH3+BN), *Klebsiella sp.* + *Pseudomonas sp.* (EM+BN) los cuales iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 377 a 229 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron concentraciones en un rango de 56 a 7 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado, las concentraciones del control o blanco fueron de 286 mg/L como NaCN inicial y de 96 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Las concentraciones de degradación obtenidos con las cepas en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (ver anexo 12), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver anexo 30) por otro lado, los consorcios BH2EM, BH1BN, BH3EM, BH2CN no mostraron diferencia significativa entre los consorcios establecidos por la prueba de tukey (ver anexo 23) así mismo se observó que los consorcios BH1EM, BH1BH3, BH1BH2, BH3BN, EMBN, BH2BH3 mostraron diferencia significativa en comparación con las medias de los demás consorcios. En la cual no se ha observado fenómenos de inhibición y/o antagonismos ya que en todos los casos llegaron a degradar prácticamente las mismas cantidades de NaCN. Como se puede apreciar en las concentraciones del testigo o blanco (sin la presencia de microorganismos) durante el tiempo de incubación ocurre una disminución notable del contaminante (NaCN), esta situación se podría explicarse que ocurre un proceso de evaporación o a alguna transformación química espontánea.

En la Figura 9, muestra la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo formado por 10 consorcios bacterianos; conformado por tres cepas cada uno: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH2+BH3), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+EM), *Escherichia sp.* +

*Pseudomona sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BN), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH3+EM), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+BN), *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+EM+BN), *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+EM), *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+BN), *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+EM+BN), *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH3+EM+BN), iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 360 a 228 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron concentraciones en un rango de 51 a 8 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado las concentraciones como se puede apreciar en las concentraciones del control o blanco fueron de 286 mg/L como NaCN inicial y de 96 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Las concentraciones de degradación obtenidos con los consorcios en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (Ver Anexo 13), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 30) por otro lado, las concentraciones de degradación comparados entre los consorcios mostraron diferencias significativas entre las medias y ninguna guarda similitud entre consorcios, establecidas por la prueba de Tukey (Ver Anexo 24) en la cual se observa que no presentan fenómenos de inhibición y/o antagonismos entre las tres cepas que conforman los consorcios porque en todos los casos llegaron a degradar prácticamente las mismas cantidades de NaCN. del testigo o blanco (sin la presencia de microorganismos) durante el tiempo de incubación ocurre una disminución notable del contaminante (NaCN), esta situación podría explicar un proceso de evaporación o a alguna transformación química espontánea.

En la Figura 10, muestra la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo conformado por 5 consorcios bacterianos; asociados con cuatro cepas cada uno: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+BH3+EM), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+BN), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* +

*Pseudomona sp.* (BH1+BH2+EM+BN), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+EM+BN), *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+BH3+EM+BN); iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial dentro de un rango de 288 a 257 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron concentraciones en un rango de 62 a 13 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado las concentraciones del control o blanco fueron de 286 mg/L como NaCN inicial y de 96 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. Las concentraciones de degradación obtenidos con los consorcios en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  obtenida mediante análisis estadístico por ANVA (Ver Anexo 14), los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 30) por otro lado, las concentraciones de degradación comparados entre los consorcios mostraron diferencias significativas entre las medias y ninguna guarda similitud entre consorcios, establecidas por la prueba de Tukey (Ver Anexo 25) en la cual se aprecia que no existe el fenómeno de inhibición y/o antagonismos entre las cuatro cepas que conforman los consorcios porque en todos los casos llegaron a degradar prácticamente las mismas cantidades de NaCN. Como se puede apreciar en las concentraciones del testigo o blanco (sin la presencia de microorganismos) durante el tiempo de incubación ocurre una disminución notable del contaminante (NaCN), esta situación podría explicar un proceso de evaporación o a alguna transformación química espontánea.

En la Figura 11, muestra la concentración de NaCN durante el proceso degradativo bacteriano, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, según el tiempo de incubación en el proceso degradativo formado por 1 consorcio bacteriano; conformado por cinco cepas: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+EM+BN), iniciaron el proceso degradativo con una concentración inicial de 289 mg/L de NaCN, luego de 96 horas de incubación a temperatura ambiente se obtuvieron concentraciones de 17 mg/L de NaCN como cianuro residual, por otro lado las concentraciones del control o blanco fueron de 286 mg/L como NaCN inicial y de 96 mg/L de NaCN como cianuro residual luego del mismo tiempo de incubación. lado las concentraciones de degradación

obtenidos con los consorcios en comparación al comportamiento del blanco mostraron diferencias significativas con valor de  $p=0,000$  obtenido mediante análisis estadístico por ANVA (Ver Anexo 15). los cuales fueron corroborados mediante la prueba de normalidad de Shapiro - Wilk con  $P > \alpha$  siendo  $\alpha$  con una significancia de 0,05. (Ver Anexo 30) por otro lado, los consorcios no mostraron diferencias significativas, establecidas por la prueba de Tukey (ver anexo 26) Al respecto Johnson, (2014)<sup>30</sup> manifiesta que, se puede convertir en otros productos químicos menos tóxicos a través de procesos físicos, químicos y biológicos naturales; aunque el cianuro no es resistente. Hernández, (2010)<sup>31</sup> también manifiesta que expuesto al aire u otros oxidantes el cianuro se oxida descomponiéndose pero no persiste. Por otro lado, Logsdon *et al.*, (2001)<sup>32</sup> señala que produce problemas crónicos en la salud al ingerir a concentraciones de  $200 \text{ mg L}^{-1}$  considerado como un veneno mortal, encontrándose también en el ambiente a concentraciones bajas.

Así también, Rodallega, S. (2015)<sup>33</sup> manifiesta que un aspecto importante para evitar tener datos erróneos de la biodegradación del cianuro es la evaporación, ya que las sales simples de cianuro (cianuro de sodio y cianuro de potasio) en agua, suelen evaporarse al formar cianuro de hidrogeno (HCN); a un valor de pH de 9,3 la mitad del cianuro total existe como HCN y la otra mitad como ion  $\text{CN}^-$ , por otro lado a pH menores que 8,4 más del 90% existe como HCN (Domínguez & Cobos, 2008, citado por Rodallega, S. 2015)<sup>33</sup>. Se debe tener en cuenta que el cianuro de hidrogeno (HCN) tiene una presión de vapor relativamente alta, 100 KPa a  $26^\circ\text{C}$ , por lo cual se volatiliza con rapidez en superficies líquidas a condiciones ambientales, causando una disminución de la concentración del ion cianuro en la solución. La velocidad de volatilización depende entonces de la concentración de HCN, en función de la concentración de cianuro total, del pH, del área superficial, de la profundidad de la solución, y la temperatura (Domínguez & Cobos, 2008, citado por Rodallega, S. 2015)<sup>33</sup>. Por lo anterior, en su estudio Rodallega, S. (2015)<sup>33</sup> empleó un buffer fosfato a pH 8 para evitar en gran medida la conversión del cianuro total en cianuro de hidrógeno. A pesar de la disminución del cianuro por efectos no biológicos los resultados obtenidos en los experimentos evaluados evidencian que las cinco cepas bacterianas tienen capacidad de degradar el NaCN puesto que al comparar los valores con el control se obtuvieron resultados mucho más bajos como cianuro residual (de 5 a  $14 \text{ mg/L}$  de NaCN) y con significancia estadística con  $p=0,000$ . Los resultados



obtenidos son respaldados por investigaciones similares; así tenemos que, Kunz D, y Chen J. (1998)<sup>34</sup> encontraron que *P. fluorescens* NCIMB11764 fue eficaz en la remoción de formas simples de CN<sup>-</sup> (KCN) en las primeras 72 horas, utilizando el compuesto cianurado como único inductor enzimático; así también, Quiroga, P (2009)<sup>35</sup>. menciona que el cianuro induce la producción de cianuro oxigenasa y se obtiene como productos de conversión enzimática CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> y α-cetoácidos como coproductos; así mismo Riani, J y col. (2007) y Akcil, A y col. (2003)<sup>36</sup> mencionan que esta podría ser una de las vías que utiliza la bacteria durante la degradación del cianuro de sodio. Cabe resaltar también que es posible que la biodegradación no haya sido totalmente completa y en el medio permanezcan compuestos intermedios entre cianuro y amonio, como cianatos, tiocianatos y formatos. Figueira, M y col. (1996) y Akcil, A y col. (2003)<sup>37</sup> mencionan que todo el cianuro pudo ser convertido a amonio y éste, por procesos de nitrificación pasar a nitritos y nitratos o por procesos de regeneración a α-cetoácidos, en presencia de CO<sub>2</sub>.

En la Figura 12, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, a las 96 horas de incubación, por cinco cepas bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” las cuales fueron: *Pseudomonas sp.* (BN) que presentó un 98% de remoción, *Klebsiella sp.* (EM) 98% de remoción, *Escherichia sp.* (BH1) 94% de remoción, *Pseudomonas sp.* (BH2) 97% de remoción, y *Citrobacter sp.* (BH3) 95% de remoción; todas las muestras comparadas con el blanco con 66% de disminución, ya que también presentó un porcentaje de pérdida debido a la volatilización.

En la Figura 13, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, a las 96 horas de incubación; con dos cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”: *Escherichia sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH1 + BH2) presentó un 68% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH3) presentó un 72%, *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+EM) 66% no presentó remoción esto debido a que pudo ocurrir los fenómenos de inhibición y/o antagonismos entre bacterias, *Escherichia sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH1+BN) presentó un 84% de remoción, *Pseudomonas sp.* + *Citrobacter sp.* (BH2+BH3) presentó un 87% de remoción, *Pseudomonas sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+EM) presentó un 84% de remoción, *Pseudomonas sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH2+BN) presentó un 81%

de remoción, *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH3+EM) presentó un 90% de remoción, *Citrobacter sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH3+BN) presentó un 94% de remoción, *Klebsiella sp.* + *Pseudomonas sp.* (EM+BN) presentó un 92% de remoción los cuales son comparados con el blanco y/o control 66%.

En la Figura 14, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, a las 96 horas de incubación; con tres cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR "La Totorá": *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH2+BH3) presentó un 80% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+EM) presentó un 89% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BN) presentó un 77% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH3+EM) presentó un 91% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+BN) presentó un 88% de remoción, *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+EM+BN) presentó un 91% de remoción, *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+EM) presentó un 83% de remoción, *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+BN) presentó un 94% de remoción, *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+EM+BN) presentó un 92% de remoción, *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH3+EM+BN) presentó un 95% de remoción, los cuales son comparados con el blanco y/o control 66%.

En la Figura 15, la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, a las 96 horas de incubación; con cuatro cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR "La Totorá": *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+BH3+EM) presentó un 91% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+BN) presentó un 94% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+EM+BN) presentó un 96% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+EM+BN) presentó un 93% de remoción, *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+BH3+EM+BN) presentó un 97% de remoción, los cuales son comparados con el blanco y/o control 66%.

En la Figura 16, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 200 mg/L, a las 96 horas de incubación; con cinco cepas

bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+EM+BN) presentó un 87% de remoción, los cuales son comparados con el blanco y/o control 66%.

Los resultados sobre la capacidad degradadora de cianuro de sodio fueron corroborados por Restrepo (2006)<sup>38</sup> quien menciona que aisló una cepa de *Pseudomonas fluorescens* con muy buena resistencia y capacidad degradadora de cianuro de sodio. Esta especie fue capaz de biodegradar el contaminante a un porcentaje de eficiencia superior al 98% cuando trabajó a concentraciones de 100 hasta 500 ppm de NaCN. Pero considerando que la norma que reglamenta las descargas de cianuro solo permite 1 ppm en el ambiente, se puede decir que el tratamiento biológico para la degradación de cianuro de manera directa es muy útil y eficaz para arenas que contengan hasta 200 ppm de NaCN en el momento de ser descargadas de los tanques de cianuración. Por otra parte, Rodallega S. (2015)<sup>33</sup> en su trabajo encontró una cepa que logro reducir a un 50% del cianuro total, esto debido a la identidad desconocida de la bacteria al no darle las condiciones nutricionales para un buen crecimiento bacteriano y un alto porcentaje de degradación, también debido a que las bacterias no pueden descomponer por ser tolerantes a la supervivencia; así también tienen una ventaja sobre los métodos químicos convencionales, el tratamiento in situ, la degradación del cianuro microbiano en aguas residuales de minas, los productos naturales no tóxicos y la desintoxicación completa debido a su costo mínimo, dicho por (Thompson *et al.*, 1994<sup>39</sup>; Adams *et al.*, 2001<sup>40</sup>). Y que se han identificado microorganismos altamente potenciales en cuanto a la degradación del cianuro hasta en un 96% de eliminación, para el desarrollo de un tratamiento biológico. (Watanabe *et. Al*, 1998)<sup>41</sup>, tales como: *Pseudomonas*, *acinetobacter*, *bacillus*, y *alcaligenes* (Ingvorsen *et al.*<sup>25</sup>, 1991; Meyers *et al.*, 1991<sup>42</sup>). Géneros productoras de enzimas de conversión de cianuro (Ingvorsen *et al.*, 1991)<sup>27</sup>, que desechan o degradan este compuesto son *Chromobacterium violaceum* (ebbs *et al.*, 2004)<sup>19</sup>, *Klebsiella oxitoca* (ebbs, 2004)<sup>19</sup>; *Burkholderia cepacia* (Adgei y Ohta, 2000)<sup>28</sup>. Otras especies destacan por su capacidad degradadora de cianuro son identificadas previamente y estas son *Citrobacter freundii*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter*. Existe información de cepas de *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes*, siendo de vital importancia en la desintoxicación del cianuro de efluentes mineros (Porter y Knowles, 1979)<sup>43</sup>.

En la Figura 17, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, a las 96 horas de incubación; conformada por una cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”; *Pseudomona sp.* (BN) presentó un 98% de remoción, *Klebsiella sp.* (EM) presentó un 98% de remoción, *Escherichia sp.* (BH1) presentó un 97% de remoción, *Pseudomona sp.* (BH2) presentó un 97% de remoción, y *Citrobacter sp.* (BH3) presentó un 97% de remoción; todas las muestras comparadas con el blanco 66%.

En la Figura 18, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, a las 96 horas de incubación; conformada por diez consorcios con dos cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”: *Escherichia sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH1 + BH2) presentó un 94% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH3) presentó Un 92%, *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+EM) presentó un 91% remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BN) presentó un 90% de remoción, *Pseudomonas sp.* + *Citrobacter sp.* (BH2+BH3) presentó un 97% de remoción, *Pseudomonas sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+EM) presentó un 76% de remoción, *Pseudomonas sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH2+BN) presentó un 87% de remoción, *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH3+EM) presentó un 88% de remoción, *Citrobacter sp.* + *Pseudomonas sp.* (BH3+BN) presentó un 95% de remoción, *Klebsiella sp.* + *Pseudomonas sp.* (EM+BN) presentó un 97 % de remoción los cuales son comparados con el blanco y/o control. 66%

En la Figura 19, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, a las 96 horas de incubación; con tres cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”: *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* (BH1+BH2+BH3) presentó un 97% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+EM) presentó un 93% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BN) presentó un 97% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH3+EM) presentó un 93% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+BN) presentó un 92%de remoción, *Escherichia sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+EM+BN) presentó un 95% de remoción, *Pseudomona sp.* + *citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+EM) presentó un

94% de remoción, *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2+BH3+BN) presentó un 96% de remoción, *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+EM+BN) presentó un 96% de remoción, *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH3+EM+BN) presentó un 83% de remoción, los cuales son comparados con el blanco y/o control 66%.

En la Figura 20, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, a las 96 horas de incubación; conformada por cinco consorcios con cuatro cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR "La Totorá": *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH1+BH2+BH3+EM) presentó un 95% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+BN) presentó un 82% de remoción, *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+EM+BN) presentó un 96% de remoción, *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH3+EM+BN) presentó un 95% de remoción, *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2+BH3+EM+BN) presentó un 95% de remoción, los cuales son comparados con el blanco y/o control 66%.

En la Figura 21, muestra la remoción de NaCN, con una concentración inicial aproximada de 250 mg/L, a las 96 horas de incubación; conformada por un consorcio con cinco cepas bacterianas cada una aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR "La Totorá": *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1+BH2+BH3+EM+BN) presentó un 94% de remoción, los cuales son comparados con el blanco y/o control 66%.

Los resultados sobre la capacidad degradadora de cianuro de sodio fueron corroborados por Restrepo (2006)<sup>38</sup> quien menciona que aisló una cepa de *Pseudomonas fluorescens* con muy buena resistencia y capacidad degradadora de cianuro de sodio. Esta especie fue capaz de biodegradar el contaminante a un porcentaje de eficiencia superior al 98% cuando trabajó a concentraciones de 100 hasta 500 ppm de NaCN. Pero considerando que la norma que reglamenta las descargas de cianuro solo permite 1 ppm en el ambiente, se puede decir que el tratamiento biológico para la degradación de cianuro de manera directa es muy útil y eficaz para arenas que contengan hasta 200 ppm de NaCN en el momento de ser descargadas de los tanques de cianuración. Por otra parte,

Rodallega S. (2015)<sup>33</sup> en su trabajo encontró una cepa que logro reducir a un 50% del cianuro total, esto debido a la identidad desconocida de la bacteria al no darle las condiciones nutricionales para un buen crecimiento bacteriano y un alto porcentaje de degradación, también debido a que las bacterias no pueden descomponer por ser tolerantes a la supervivencia; así también la desintoxicación completa y la degradación microbiana del cianuro en las aguas residuales de la minería y los productos naturales no tóxicos tiene las ventajas de un bajo costo y superior a los métodos químicos convencionales, mencionado por (Thompson *et al.*, 1994<sup>39</sup>; Adams *et al.*, 2001<sup>40</sup>). Y que se han identificado microorganismos altamente potencial aun 96% de remoción por la degradación del contaminante para el desarrollo de un tratamiento biológico en degradación de cianuro (Watanabe *et. Al*, 1998)<sup>41</sup>, como: *Pseudomonas*, *acinetobacter*, *bacillus*, y *alcaligenes* (Ingvorsen *et al.*<sup>25</sup>, 1991; Meyers *et al.*, 1991<sup>42</sup>). Géneros productores de enzimas de conversión de cianuro (Ingvorsen *et al.*, 1991)<sup>27</sup>, que desechan y degradan este compuesto son *Chromobacterium violaceum* (ebbs *et al.*, 2004)<sup>19</sup>, *Klebsiella oxitoca* (ebbs, 2004)<sup>19</sup>; *Burkholderia cepacia* (Adgei y Ohta, 2000)<sup>28</sup>. Otras especies que se destacan por su capacidad degradadora de cianuro es *Citrobacter freundii*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter*. Existen información de cepas de *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes*, las cuales son muy importante en la desintoxicación del cianuro minero (Porter y Knowles, 1979)<sup>43</sup>.

## VI. CONCLUSIONES

1. A partir de muestras de agua de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá”, se aislaron cinco cepas bacterianas con capacidades degradadoras de NaCN: *Pseudomonas* sp. (BN), *Klebsiella* sp. (EM), *Escherichia* sp. (BH1), *Pseudomonas* sp.(BH2), y *Citrobacter* sp. (BH3).
2. El cianuro residual varió en un rango de 5 a 14 mg/L a partir de una concentración inicial entre 215 a 225 mg/L, en comparación al control que mostró una reducción del NaCN de una concentración inicial de 236 mg/L a 80 mg/L de NaCN. Los valores obtenidos mostraron diferencias estadísticas significativas.
3. El cianuro residual varió en un rango de 5 a 9 mg/L a partir de una concentración inicial entre 253 a 280 mg/L, en comparación al control que mostró una reducción del NaCN de una concentración inicial de 286 mg/L a 96 mg/L de NaCN. Los valores obtenidos mostraron diferencias estadísticas significativas.
4. El porcentaje de remoción de NaCN, a 96 horas, por cinco cepas bacterianas aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” variaron en un rango de 94 al 98%, en comparación al control con una reducción del 66% del contaminante.
5. La capacidad de remoción de NaCN por bacterias aisladas de la laguna de maduración II de la PTAR “La Totorá” agrupadas en consorcios de 2, 3, 4 y 5 cepas alcanzaron valores de hasta un 97 % en comparación al control con una reducción del 66 % del contaminante.
6. El consorcio bacteriano conformado por 2 y 4 cepas *Escherichia* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH1-BH2), *Escherichia* sp. + *Citrobacter* sp. (BH1-BH3), *Escherichia* sp. + *Klebsiella* sp. (BH1-EM), *Escherichia* sp. + *Pseudomonas* sp. (BH1-BN), *Pseudomonas* sp. + *Citrobacter* sp. (BH2-BH3), *Pseudomonas*

*sp.* + *Klebsiella sp.* (BH2-EM), *Pseudomona sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2-BN), *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* (BH3-EM), *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH3-BN), *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (EM-BN) y *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* ( BH1-BH2-BH3-EM), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1- BH2-BH3-BN), *Escherichia sp.* + *Pseudomona sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1-BH2-EM-BN), *Escherichia sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH1-BH3-EM-BN), *Pseudomona sp.* + *Citrobacter sp.* + *Klebsiella sp.* + *Pseudomona sp.* (BH2-BH3-EM-BN) mostraron los valores más altos de capacidad de remoción, 97 %.



## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Continuar con más investigaciones relacionadas a este trabajo para poder aislar otros géneros y especies bacterianas que tengan la capacidad degradativa de cianuro.
2. Para evitar la evaporación del NaCN y llevar un mejor control se recomienda tener en cuenta la alcalinidad del medio, la cual tiene que estar por encima de un pH 8 u 8,5.
3. Hacer una identificación molecular de las cepas bacterianas con capacidad degradativa.
4. Probar el método espectrofotométrico con otras sustancias tóxicas para el medio ambiente y poder determinar.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mark J. Logsdon, M.Sc Karen Hagelstein, PhD, CIH Terry I. Mudder, PhD (2001) El manejo del cianuro en la extracción de oro consejo internacional de metales y medio ambiente Traducido de la publicación en inglés titulada The Management of Cyanide in Gold Extracción. Traducción al español: Ana María Paonessa Primera impresión de la publicación en español, Abril de 2001 [internet] 2001 [citado 27 junio 2017] disponible en: <http://www.panoramaminero.com.ar/ICMME.pdf>.
2. Augusto V. Ramírez, Toxicidad del cianuro. Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre Dirección Salud Ocupacional. Clínica Los Fresnos. Cajamarca, Perú. American College of Occupational and Environmental Medicine. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832010000100011](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832010000100011)
3. Adelaida María Garcés Molina 1/ Lina Marcela Agudelo Betancur2/ Karina Isabel Macías Mazo2 / Natalia Andrea Salinas Alzate2 Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro\* Línea de investigación: bioprocesos. Grupo de Investigación GAMA. Semillero de Investigación sobre Materia Orgánica SISMO disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/695/69530103.pdf>
4. Morillo, J.(2014) degradación de cianuro de sodio por *pseudomonas sp.* a dos temperaturas y tres pH universidad nacional de Trujillo [internet] 2018 [citado 12 de enero 2018] disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4109/Morillo%20Mendoza%20Jhonn%20Juver.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. Brenner Katie, You Lingchong, Arnold H. Frances. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. Trends in Biotechnology Vol.26 No.9. 2008.
6. Hernández, L., (2010). Evaluación de la capacidad de un aislado bacteriano nativo de *Pseudomonas sp.* como potencial degradador de compuestos cianurados de la Universidad Nacional De Colombia Facultad De Ciencias Posgrado Biotecnología Medellín [internet]2010[citado 27enero 2017] disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1849/1/43801720.2010.pdf>
7. Hurtado J; y col., (2012) Optimización de la biorremediación en relaves de cianuración adicionando nutrientes y microorganismos de la universidad nacional mayor de San Marcos Rev. Perú. biol. [internet] 2012 [citado 25 enero 2017]19(2): 187 – 192 disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v19n2/a10v19n2>.
8. Tuya J, (2014) Evaluación de la capacidad degradativa de cianuro por bacterias alcalófilas aisladas de los relaves de la planta concentradora de metales mesapata cáta - Ancash [internet] 2014 [citado 27enero 2017] disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3641>.
9. Rodallega, S. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias capaces de degradar cianuro presentes en tanques de almacenamiento de cianuro en una mina de oro del municipio de buenos aires cauca Universidad Icesi Facultad de Ciencias Naturales Química Farmacéutica Santiago de Cali [internet]2015[citado 14 de marzo del 2017]disponible en: <http://biblioteca2.icesi.edu.co/cgi-olib?oid=277245>.
10. Morillo, J y Guevara, J. (2015) Degradación de cianuro de sodio por *Pseudomonas sp.* a dos temperaturas y tres pH Universidad Nacional de

- Trujillo (UNT). Trujillo. Perú. Microbiología y Parasitología. UNT [internet] 2015 [citado 14 de marzo del 2017] disponible en:  
file:///C:/Users/Admin/Downloads/892-2268-1-PB%20(3).pdf.
11. Edwin Alexis Cardona Giraldo (2015) Microorganismos Potenciales degradadores de Cianuro en residuos de minería de oro Universidad Nacional de Colombia Facultad de Minas, Departamento de Geociencias y Medio Ambiente Medellín, Colombia [internet] 2015 [citado 14 de marzo del 2017] disponible en:  
<http://www.bdigital.unal.edu.co/51440/1/75108346.2016.pdf>.
  12. Coley, Tatiana y Zapata, Diana, (2006) Aislamiento Y Purificación De Microorganismos Degradadores De Cianuro universidad de la escuela de ingeniería departamento de ingeniería de procesos Medellín revista lasallista de Investigación [internet] 2006 [citado 27 junio 2017] disponible en:  
[https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/391/Tatiana\\_ColeyBenjumea\\_2006.pdf.sequence=1](https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/391/Tatiana_ColeyBenjumea_2006.pdf.sequence=1).
  13. Salazar, Y; Sánchez, E, (2011) Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritritol (petn) y trinitrotolueno (tnt) universidad de la Salle facultad de ingeniería programa de ingeniería ambiental y sanitaria Bogotá 2011 (pág. 22) [internet] 2011 [citado 27 enero 2017] disponible en:  
<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/14993/T41.11%20S31e.pdf.sequence=1>.
  14. Víctor M Luque-Almagro, María-J Huertas, Manuel Martínez-Luque, Conrado Moreno-Vivián, M Dolores Roldán, L Jesús García-Gil, Francisco Castillo, Rafael Blasco (2005) Bacterial degradation of cyanide and its metal complexes under alkaline conditions.
  15. Guia\_TP\_2\_Quimica\_II\_2010.pdf.
  16. American public health association. Stándar methods for the examination de wáter and wastewater. 18th edition. Washinton. APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 4-24 - 4-26.
  17. Carlos Arturo Montoya Universidad de Antioquia. Maestría en Ingeniería Ambiental Nury alexandra muñoz Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Instituto de Minerales Cimex Recibido para revisar 20 de septiembre, aceptado 30 de enero de 2006, versión final 15 de febrero de 2006.
  18. Luque V. Metabolismo del cianuro y del cianato en *Pseudomonas*, pseudoalcaligenes CECT5344. Aplicaciones biotecnológicas. Andalucía. Analistas económicos. 2005:187-189.
  19. Ebbs, S. (2004). Biological degradation of cyanide compounds. Current opinion in Biotechnology, 15 (3), 231-236. Dzombak, d. a.; Rajat, s.; Ghosh, g. m. & Wong-chong, g. m. cyanide in gupta, n.; balomajumder, c. & agarwal, v. k. Enzymatic Mechanism and Biochemistry for Cyanide Degradation: A Review. J. Hazard. Mater. 2010, vol. 176, p.1–13.
  20. Jonathan David Tuya Salas 2014. evaluación de la capacidad degradativa de cianuro por bacterias alcalófilas aisladas de los relaves de la planta concentradora de metales mesapata cátaac - Ancash de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Ciencias Biológicas. Perú. Pp.18-21.
  21. Morillo, J. Guevara, J. 2015. Degradación de cianuro de sodio por *Pseudomonas sp* a dos temperaturas y tres Ph. Revista Científica de estudiantes. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad nacional de Trujillo. Perú. Pp. 23-32.

22. Kuyucak, N., y Akcil, A. (2013). Cyanide and removal options from effluents in gold mining and metallurgical processes. *Minerals Engineering*, 50, 13-29.
23. Akcil, A., Karahan, A.G., Ciftci, H., Sagdic, O. (2003). Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas* species). *Minerals Engineering*. 16: 560– 567.
24. Botz, M. M. (2001). Overview of cyanide treatment methods. *Mining Environmental Management*, Mining Journal Ltd., London, UK, 28-30.
25. Oudjehani, K., Zagury, G., & Deschenes, L. (2002). Natural attenuation potential of cyanide via microbial activity in mine tailings. *Applied microbiology and biotechnology*, 58 (3), 409-415.
26. Zagury, G. J., Oudjehani, K., & Deschênes, L. (2004). Characterization and availability of cyanide in solid mine tailings from gold extraction plants. *Science of the Total Environment*, 320(2), 211-224.
27. Ingvorsen, K., Højer-Pedersen, B., & Godfredsen, S. E. (1991). Novel cyanide-hydrolyzing enzyme from *Alcaligenes xylooxidans* subsp. *denitrificans*. *Applied and environmental microbiology*, 57 (6), 1783-1789.
28. Adjei, M. D., & Ohta, Y. (2000). Factors affecting the biodegradation of cyanide by *Burkholderia cepacia* strain C-3. *Journal of bioscience and bioengineering*, 89 (3), 274-277.
29. Porter, N., & Knowles, C. J. (1979). Cyanide-resistant growth in *Citrobacter Freundii* and other *Enterobacteriaceae*. *FEMS Microbiology Letters*, 5(5), 323-326.
30. Johnson, C. A. (2014). The fate of cyanide in leach wastes at gold mines: An environmental perspective. *Applied Geochemistry*. Kaksonen, A. H., Mudunuru, B. M., & Hackl, R. (2014). The role of microorganisms in gold processing and recovery—A review. *Hydrometallurgy*, 142, 70-83.
31. Hernández, S., L. M. (2010). Evaluación de la capacidad de un aislado bacteriano nativo de *pseudomonas* sp. como potencial degradador de compuestos cianurados, p 32-35.
32. Logsdon, M. J., Hagelstein, K., & Mudder, T. (2001). El manejo del cianuro en la extracción de oro. *International Council on Metals and the Environment*. p 3.
33. Rodallega, S. 2015. Aislamiento y caracterización de bacterias capaces de degradar cianuro presente en tanques de almacenamiento de cianuro en una mina de oro del Municipio de Buenos Aires Cauca. Universidad Icesi. Facultad de Ciencias naturales Química Farmacéutica. Santiago de Cali. Colombia.
34. Kunz D, Chen J, Guangliang P. Accumulation of  $\alpha$ -Keto Acids as Essential Components in Cyanide Assimilation by *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. *Applied and Environmental Microbiology*. 1998;64(11): 4452-4459.
35. Quiroga P, Olmos. Revisión de la toxicocinética y la toxicodinamia del ácido cianhídrico y los cianuros. *Acta Toxicol. Argent.* 2009; 17 (1): 20-32
36. Riani J, Leao V. The elution of metal cyanocomplexes from polyacrylic – and polystyrene – based ion exchange resins using nitrate and thiocyanate eluants. *Brazilian J Chemical Engin.* 2007; 24(3): 421-431
37. Figueira M, Ciminelli V, Andrade M. Cyanide degradation by an *Escherichia coli* strain. *Canadian Journal of Microbiology*. 1996; 42(5): 519-23
38. Restrepo, O., y Col.,(2006). Degradación microbiana de cianuro procedente de plantas de beneficio de oro mediante una cepa nativa de *P. Fluorecens*. *Rev. DIALNET de la Facultad de Minas*. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín, ISSN 0012-7353, Vol. 73, Nº. 149, 2006, págs. 45-51[internet]2006[citado 27enero 2017] disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4599117>.

39. Thompson, L. J., Jones, E., y atiyah, R. (1994). Biotreatment processes for cyanide detox in heaps and process solutions – case studies of field treatments. in the proceedings of the 1994 AIME/SME annual Meeting and Exhibit p.14 – 17.
40. Adams, D. J., Qomen, J. V., Picqett, T.M (2001). Biological cyanide degradation. In: Young, C (Ed.). Cyanide: Social Industrial and Economic Aspects. the metals society, Warrendale, Pa. 203-213.
41. Watanabe, A., Yano, K., Ikebukuro, K., y Karube, I. (1998). Cloning and expression of agene en coding cyanidase from *Pseudomonas stutzeri* Ac 61. *Applied microbiology and biotechnology*, 50(1), 93-97.
42. Meyers, P.R., Gokool, P., Rawlings, D.E. & Woods, D.R(1991). An efficient cyanide- degrading *Bacillus pumilus* strain. *Journal of general microbiology*, 137(6), 1397-1400.
43. Porter, N. & Knowles, C. J. (1979) Cyanide-resistand growth in *Citrobacter Freundii* and other enterobacteriaceae. *FEMS Microbiology Letters*, 5(5), 323-326.
44. Mac Faddin, Jean F. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Tercera edición. Madrid. Panamericana. 2003; P.632-634.
45. Trapp, S., Larsen, M., Pirandello, A., & Danquah-Boakye, J. (2003). Feasibility of cyanide elimination using plants. *ejmp & ep (European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection)*, 3(1), 128-137.
46. Anderson, C. R., & Cook, G. M. (2004). Isolation and characterization of arsenate-reducing bacteria from arsenic-contaminated sites in New Zealand.*Current microbiology*, 48 (5), 341-347.
47. Water and soil - Chemistry, Risk, and Management. CRC Press, Taylor & Francis Group. 2006, p. 237–308.
48. Ebbs, S. D., Piccinin, R. C., Goodger, J. Q., Kolev, S. D., Woodrow, I. E., & Baker, A. J. (2008). Transport of ferrocyanide by two eucalypt species and sorghum. *International journal of phytoremediation*, 10 (4), 343-357.
49. Akcil A, Mudder T. Microbial destruction of cyanide wastes in gold mining. *Biotechnol Letters*.2003; 25(6): 445-50.
50. Oscar Jaime Restrepo Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Instituto de Minerales Cimex. ojrestre@unal.edu.co.
51. Luque V. Metabolismo del cianuro y del cianato en *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344. Aplicaciones biotecnológicas. Andalucía. Analistas económicos. 2005:187-189.
52. Riani J, Leao V. The elution of metal cyanocomplexes from polyacrylic and polystyrene – based ion exchange resins using nitrate and thiocyanate eluants. *Brazilian J Chemical Engin*. 2007; 24(3): 421-431.
53. Sara Eugenia Rodallega Nazarit 2015 Aislamiento y caracterización de bacterias capaces de degradar cianuros presentes en tanques de almacenamiento de cianuro en una mina de oro del municipio de buenos aires cauca Universidad Icesi Facultad de Ciencias Naturales Química Farmacéutica Santiago de Cali

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Vista panorámica de la planta de tratamiento de agua residual “La Tatora”.



**Fuente.** SEDA Ayacucho vista panorámica

**Anexo 2.** Pruebas bioquímicas realizadas para la Identificación de cepas bacterianas, degradadoras de NaCN, aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá”. Ayacucho 2018.

Bacteria	Pruebas bioquímicas							
	lactosa	movilidad	ornitina	indol	H <sub>2</sub> S	citrato	RM	VP
<i>Pseudomona</i> sp.(BN)	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>Klebsiella</i> sp. (EM)	+	-	-	+	-	+	-	-
<i>Escherichia</i> sp. (BH1)	+	+	-	+	-	-	+	-
<i>Pseudomona</i> sp. (BH2)	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>Citrobacter</i> sp. (BH3)	+	+		-	+	+	-	-



**Anexo 3.** Registro de datos (tratamientos, en el proceso experimental) a una concentración de 200mg/L de cianuro de sodio lecturas de absorbancia a una longitud de onda de 580 nm. Laboratorio de microbiología de la UNSCH. Ayacucho 2018.

CEPA/CONSORCIO	TIEMPO (HORAS)								
	0	12	24	36	48	60	72	84	96
BN	215	208	171	81	64	41	32	8	5
EM	224	215	153	82	67	30	31	8	5
BH1	223	212	173	85	64	41	31	9	14
BH2	225	211	166	85	62	38	3	8	6
BH3	219	212	151	85	69	34	32	12	11
BH1BH2	243	171	184	187	69	75	69	63	77
BH1BH3	273	181	146	145	148	98	72	47	77
BH1EM	235	185	161	161	131	66	58	64	81
BH1BN	272	146	169	140	126	55	52	61	43
BH2BH3	252	161	177	172	129	53	49	49	33
BH2EM	263	165	183	152	131	60	47	55	43
BH2BN	239	185	139	161	128	71	54	66	46
BH3EM	236	182	163	168	154	68	56	38	23
BH3BN	266	179	189	144	149	81	56	37	17
EMBN	256	166	185	123	138	62	49	42	21
BH1BH2BH3	174	145	123	94	95	75	56	52	35
BH1BH2EM	177	179	135	117	91	73	63	43	19
BH1BH2BN	124	115	109	107	75	66	63	55	28
BH1BH3EM	273	181	140	139	129	95	69	41	24
BH1BH3BN	263	165	183	152	131	61	48	56	37
BH1EMBN	257	166	185	127	139	63	49	42	22
BH2BH3EM	178	152	145	126	85	73	59	50	31
BH2BH3BN	158	151	146	124	87	85	59	49	20
BH2EMBN	220	185	139	161	129	71	55	47	33
BH3EMBN	150	141	159	131	78	54	35	16	8
BH1BH2BH3EM	212	132	127	101	86	52	41	30	20
BH1BH2BH3BN	178	125	118	81	73	43	39	26	11
BH1BH2EMBN	225	166	116	104	75	66	63	39	10
BH1BH3EMBN	253	179	172	134	133	82	56	37	18
BH2BH3EMBN	192	150	114	80	70	33	22	11	6
BH1BH2BH3EMBN	186	125	95	86	83	45	41	30	25
BLANCO	236	233	201	183	143	91	73	72	80

Los datos representan el cianuro residual en mg/L de NaCN luego del tiempo de incubación.

**Anexo 4.** Registro de datos (tratamientos, en el proceso experimental) a una concentración de 250mg/L de cianuro de sodio lecturas de absorbancia a una longitud de onda de 580 nm de luz. Laboratorio de microbiología de la UNSCH. Ayacucho 2018.

CEPA/CONSORCIO	TIEMPO (HORAS)								
	0	12	24	36	48	60	72	84	96
BN	257	209	118	90	57	33	28	17	5
EM	280	220	122	89	67	36	25	14	5
BH1	263	224	114	90	65	34	23	17	7
BH2	270	215	110	91	67	40	24	14	9
BH3	253	218	107	88	56	34	28	14	8
BH1BH2	377	303	192	187	149	97	90	46	22
BH1BH3	324	290	190	165	164	126	67	36	27
BH1EM	326	290	171	159	151	104	83	68	29
BH1BN	360	254	149	188	149	77	60	53	37
BH2BH3	279	256	151	102	99	38	29	15	7
BH2EM	231	231	97	93	88	76	66	67	56
BH2BN	229	229	91	89	76	71	50	49	30
BH3EM	285	285	82	79	83	84	73	65	33
BH3BN	344	292	167	149	144	72	47	23	17
EMBN	347	275	185	132	118	59	49	23	12
BH1BH2BH3	260	230	228	98	65	57	30	17	8
BH1BH2EM	286	216	131	85	48	45	42	23	19
BH1BH2BN	228	215	159	69	43	31	23	18	27
BH1BH3EM	324	257	190	182	157	126	67	36	24
BH1BH3BN	360	254	183	172	149	77	60	53	30
BH1EMBN	289	132	91	89	76	71	50	40	15
BH2BH3EM	247	223	206	73	50	38	23	20	16
BH2BH3EM	247	223	206	73	50	38	23	20	31
BH2BH3BN	287	227	193	84	73	67	63	38	33
BH3EMBN	260	227	211	141	120	83	78	67	51
BH1BH2BH3EM	274	215	199	69	61	47	39	22	14
BH1BH2BH3BN	288	229	213	133	122	97	94	70	62
BH1BH2EMBN	257	213	131	85	48	45	42	23	19
BH1BH3EMBN	278	215	159	69	43	31	23	18	15
BH2BH3EMBN	284	244	235	73	54	49	33	22	13
BH1BH2BH3EMBN	289	239	223	108	104	86	81	58	17
BLANCO	286	260	251	209	144	108	102	98	96

Los datos representan el cianuro residual en mg/L de NaCN luego del tiempo de incubación.

**Anexo 5.** Norma legal límites máximos permisibles para descarga de efluentes líquidos de actividades minero metalúrgicas (Decreto supremo N° 010- 2010 – MINAM.

Parámetro	Unidad	Límite en cualquier momento	Límite para el Promedio anual
pH		6 - 9	6 - 9
Sólidos Totales en Suspensión	mg/L	50	25
Aceites y Grasas	mg/L	20	16
Cianuro Total	mg/L	1	0,8
Arsénico Total	mg/L	0,1	0,08
Cadmio Total	mg/L	0,05	0,04
Cromo Hexavalente(*)	mg/L	0,1	0,08
Cobre Total	mg/L	0,5	0,4
Hierro (Disuelto)	mg/L	2	1,6
Plomo Total	mg/L	0,2	0,16
Mercurio Total	mg/L	0,002	0,0016
Zinc Total	mg/L	1,5	1,2

**Anexo 6.** Composición y preparación de soluciones para la determinación de cianuro libre según el código (06606).

**1. Hidróxido de sodio 40 g/**

20 g de NaOH en 500 ml de agua.

**2. Hidróxido de sodio 0,04 m.**

20 ml de la solución de NaOH 40 g/L en 500 mL de agua.

**3. Cloramina T**

1,0 g de cloramina-T en 100 mL de agua.

**4. Solución stock de cianuro 1 000 mg/L**

1,6 g de NaOH y 1,88 g de cianuro de sodio (NaCN) en 1L de agua.

**5. Solución estándar de cianuro 10 mg/L**

Hidróxido de sodio 0,04 M.

**6. Reactivo piridina-ácido barbitúrico**

15 g de ác. barbitúrico en un Erlenmeyer de 250 mL, 75 mL de piridina 15 mL de ácido clorhídrico concentrado, 250 mL.de agua.

**7. Buffer de fosfato 1M**

138 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en 1 L de agua.

**Anexo 7.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 200 mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con una cepa aislada de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
UNA CEPA	5	0,013293	0,002659	68,52	0,000
Error	12	0,000466	0,000039		
Total	17	0,013759			

**Anexo 8.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con dos cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Tatora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
DOS CEPAS	10	0,019286	0,001929	7,75	0,000
Error	22	0,005475	0,000249		
Total	32	0,024761			

**Anexo 9.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con tres cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Titora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
TRES CEPAS	10	0,01031	0,001031	15,5	0,000
Error	22	0,001464	0,000067		
Total	32	0,011774			

**Anexo 10.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cuatro cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Titora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
CUATRO CEPAS	5	0,01822	0,002364	71,33	0,000
Error	12	0,000256	0,000033		
Total	17	0,012219			



**Anexo 11.** Valores de la prueba t de Student de la biodegradación de cianuro a una concentración de 200mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cinco cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá”. Ayacucho 2018.

CINCO CEPAS	N	Media	Desv. Est.	Error		t	gl	Valor P
				estándar de	la media			
BH1BH2BH3EMBN	3	0,025	0,00964	0,0056		-7,18	4	0,002
BLANCO	3	0,08086	0,00942	0,0054				

**Anexo 12.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con una cepa aislada de la planta de tratamiento de agua residual “La Titora”. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
UNA CEPA	5	0,019777	0,003955	202,59	0,000
Error	12	0,000234	0,00002		
Total	17	0,020011			

**Anexo 13.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con dos cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
DOS CEPAS	10	0,017964	0,001796	23,46	0,000
Error	22	0,001684	0,000077		
Total	32	0,019648			

**Anexo 14.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con tres cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
TRES CEPAS	10	0,017335	0,001733	26,2	0,000
Error	22	0,001456	0,000066		
Total	32	0,01879			

**Anexo 15.** Valores de Análisis de Varianza de la biodegradación de cianuro a una concentración inicial aproximada de 250 mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cuatro cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Titora” a diferentes concentraciones. Ayacucho 2018.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
CUATRO CEPAS	5	0,017829	0,003566	63,46	0,000
Error	12	0,000674	0,000056		
Total	17	0,018503			

**Anexo 16.** Valores de la prueba t de Student de la biodegradación de cianuro a una concentración de 250 mg/L de cianuro de sodio por el consorcio de bacterias con cinco cepas aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá”. Ayacucho 2018.

<b>CINCO CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>Error estándar de la media</b>	<b>t</b>	<b>gl</b>	<b>Valor P</b>
BH1BH2BH3EMBN	3	0,01667	0,00569	0,0033	-14,64	4	0,000
BLANCO	3	0,09559	0,0074	0,0043			

**Anexo 17.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Titora” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para cepas individuales a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.

<b>UNA CEPA</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
BLANCO	3	0,081	A
BH1	3	0,014	B
BH3	3	0,011	B
BH2	3	0,006	B
BN	3	0,006	B
EM	3	0,005	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 18.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con dos cepas bacterianas a una concentración de 200 mg/L. Ayacucho 2018.

<b>DOS CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>		
BH1EM	3	0,082	A		
BLANCO	3	0,081	A		
BH1BH3	3	0,078	A	B	
BH1BH2	3	0,077	A	B	
BH2CN	3	0,047	A	B	C
BH2EM	3	0,043	A	B	C
BH1BN	3	0,043	A	B	C
BH2BH3	3	0,033		B	C
BH3EM	3	0,023			C
EMBN	3	0,022			C
BH3BN	3	0,018			C

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



**Anexo 19.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Titora” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con tres cepas bacterianas a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.

<b>TRES CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>	
BLANCO	3	0,081	A	
BH1BH3BN	3	0,037	B	
BH1BH2BH3	3	0,035	B	
BH2EMBN	3	0,033	B	
BH2BH3EM	3	0,031	B	C
BH1BH2BN	3	0,028	B	C
BH1BH3EM	3	0,024	B	C
BH1EMBN	3	0,022	B	C
BH2BH3BN	3	0,020	B	C
BH1BH2EM	3	0,019	B	C
BH3EMBN	3	0,009	C	

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 20.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cuatro cepas bacterianas a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.

<b>CUATRO CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
BLANCO	3	0,081	A
BH1BH2BH3EM	3	0,021	B
BH1BH3EMBN	3	0,018	B
BH1BH2BH3BN	3	0,011	B
BH1BH2EMBN	3	0,010	B
BH2BH3EMBN	3	0,006	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 21.** Prueba t de Student de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cinco cepas bacterianas a una concentración de 200mg/L. Ayacucho 2018.

<b>CINCO CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
BLANCO	3	0,081	A
BH1BH2BH3EMBN	3	0,025	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 22.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para cepas bacterianas individuales a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.

<b>UNA CEPA</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
BLANCO	3	0,096	A
BH2	3	0,009	B
BH3	3	0,008	B
BH1	3	0,007	B
EM	3	0,005	B
BN	3	0,005	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 23.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con dos cepas bacterianas a una concentración de 250 mg/L. Ayacucho 2018.

<b>DOS CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>		
BLANCO	3	0,096	A		
BH2EM	3	0,056	B		
BH1BN	3	0,037	B	C	
BH3EM	3	0,033	B	C	
BH2BN	3	0,030	B	C	D
BH1EM	3	0,029		C	D
BH1BH3	3	0,027		C	D
BH1BH2	3	0,022		C	D
BH3BN	3	0,017		C	D
EMBN	3	0,012		C	D
BH2BH3	3	0,007			D

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 24.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con tres cepas bacterianas a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.

<b>TRES CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>		
BLANCO	3	0,096	A		
BH3EMBN	3	0,051	B		
BH2EMBN	3	0,033	B	C	
BH2BH3BN	3	0,031	B	C	D
BH1EMBN	3	0,030	B	C	D
BH1BH3EM	3	0,027		C	D
BH1BH3BN	3	0,024		C	D
BH1BH2EM	3	0,019		C	D
BH2BH3EM	3	0,016		C	D
BH1BH2BN	3	0,015		C	D
BH1BH2BH3	3	0,008			D

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 25.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Titora” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cuatro cepas bacterianas a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.

<b>CUATRO CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
BLANCO	3	0,096	A
BH1BH2BH3BN	3	0,062	B
BH1BH2EMBN	3	0,019	C
BH1BH3EMBN	3	0,015	C
BH1BH2BH3EM	3	0,014	C
BH2BH3EMBN	3	0,013	C

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Anexo 26.** Prueba t de Student de la biodegradación de cianuro por el consorcio de bacterias aisladas de la planta de tratamiento de agua residual “La Totorá” a diferentes concentraciones con un nivel de confianza de 95% para consorcio con cinco cepas bacterianas a una concentración de 250mg/L. Ayacucho 2018.

<b>CINCO CEPAS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
BLANCO	3	0,096	A
BH1BH2BH3EMBN	3	0,017	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



**Anexo 27.** Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) para cada tratamiento evaluado a una concentración de 200 mg/L de NaCN. Ayacucho 2018.

<b>TRATAMIENTOS</b>		<b>Shapiro-Wilk</b>		
<b>CEPA/CONSORCIO</b>		<b>Estadístico</b>	<b>GI</b>	<b>Sig.</b>
UNA CEPA	BN	0,923	3	0,463
	EM	1,000	3	1,000
	BH1	0,828	3	0,183
	BH2	0,996	3	0,878
	BH3	0,964	3	0,637
DOS CEPAS	BH1BH2	0,784	3	0,077
	BH1BH3	0,797	3	0,107
	BH1EM	0,999	3	0,931
	BH1BN	0,948	3	0,561
	BH2BH3	0,893	3	0,363
	BH2EM	0,878	3	0,317
	BH2BN	0,975	3	0,694
	BH3EM	0,794	3	0,100
	BH3BN	0,923	3	0,463
EMBN	0,837	3	0,206	
TRES CEPAS	BH1BH2BH3	0,893	3	0,363
	BH1BH2EM	0,862	3	0,274
	BH1BH2BN	0,893	3	0,363
	BH1BH3EM	0,992	3	0,831
	BH1BH3BN	0,945	3	0,549
	BH1EMBN	0,837	3	0,206
	BH2BH3EM	0,842	3	0,220
	BH2BH3BN	0,964	3	0,637
	BH2EMBN	0,997	3	0,900
BH3EMBN	0,996	3	0,878	
CUATRO CEPAS	BH1BH2BH3EM	0,832	3	0,194
	BH1BH2BH3BN	0,993	3	0,843
	BH1BH2EMBN	0,923	3	0,463
	BH1BH3EMBN	0,923	3	0,463
	BH2BH3EMBN	0,964	3	0,637
CINCO CEPAS	BH1BH2BH3EMBN	0,871	3	0,298
	BLANCO	0,794	3	0,100

**Anexo 28.** Homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) de los tratamientos evaluados en la concentración de 200 mg/L de NaCN. Ayacucho 2018.

<b>TRATAMIENTOS CEPA/CONSORCIO</b>	<b>Tratamientos</b>	<b>Prueba de Levene (Valor P)</b>
UNA CEPA	6	0,737
DOS CEPAS	11	0,943
TRES CEPAS 3	11	0,936
CUATRO CEPAS	6	0,786
CINCO CEPAS	2	0,97

**Anexo 29.** Homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) de los tratamientos evaluados en las concentraciones de 250 mg/L NaCN. Ayacucho 2018.

<b>TRATAMIENTO CEPA/CONSORCIO</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>Prueba de Levene (Valor P)</b>
UNA CEPA	6	0,927
DOS CEPAS	11	0,913
TRES CEPAS	11	0,894
CUATRO CEPAS4	6	0,621
CINCO CEPAS	2	0,854

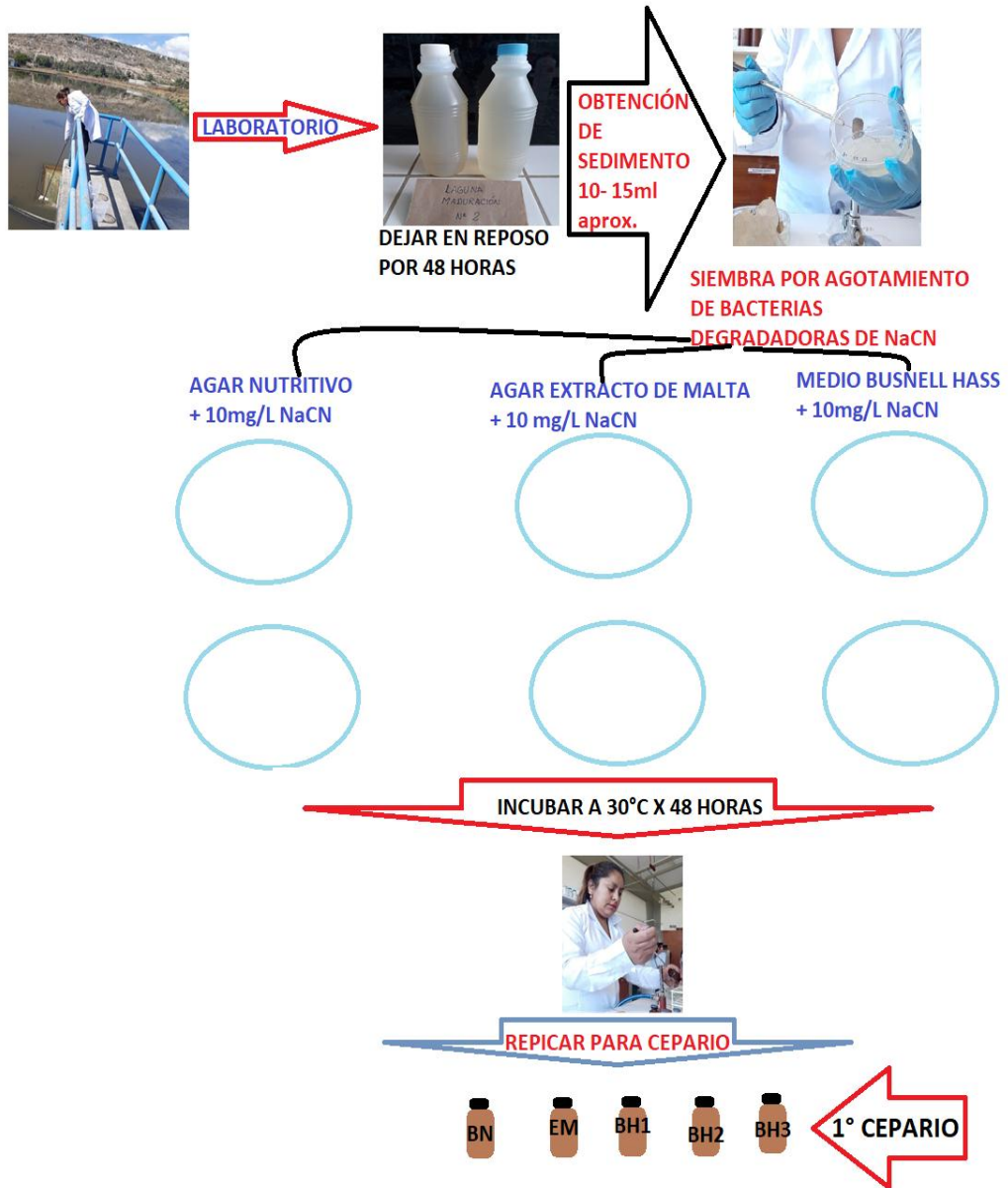
**Anexo 30.** Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para cada tratamiento evaluado a una concentración de 250 mg/L de NaCN. Ayacucho 2018.

TRATAMIENTOS		Shapiro-Wilk		
CEPA/CONSORCIO		Estadístico	GI	Sig.
UNA CEPA	BN	0,942	3	0,537
	EM	0,893	3	0,363
	BH1	1,000	3	1,000
	BH2	1,000	3	1,000
	BH3	0,871	3	0,298
DOS CEPAS	BH1BH2	0,964	3	0,637
	BH1BH3	0,837	3	0,206
	BH1EM	0,907	3	0,407
	BH1BN	0,994	3	0,856
	BH2BH3	0,993	3	0,843
	BH2EM	0,832	3	0,194
	BH2BN	0,936	3	0,510
	BH3EM	0,862	3	0,274
	BH3BN	0,980	3	0,726
EMBN	0,964	3	0,637	
TRES CEPAS	BH1BH2BH3	0,893	3	0,363
	BH1BH2EM	0,792	3	0,094
	BH1BH2BN	0,964	3	0,637
	BH1BH3EM	0,837	3	0,206
	BH1BH3BN	0,912	3	0,424
	BH1EMBN	0,936	3	0,510
	BH2BH3EM	0,964	3	0,637
	BH2BH3BN	0,832	3	0,194
	BH2EMBN	0,862	3	0,274
BH3EMBN	0,983	3	0,747	
CUATRO CEPAS	BH1BH2BH3EM	0,923	3	0,463
	BH1BH2BH3BN	0,959	3	0,609
	BH1BH2EMBN	0,792	3	0,094
	BH1BH3EMBN	0,964	3	0,637
	BH2BH3EMBN	0,871	3	0,298
CINCO CEPAS	BH1BH2BH3EMBN	0,936	3	0,510
BLANCO		0,855	3	0,253

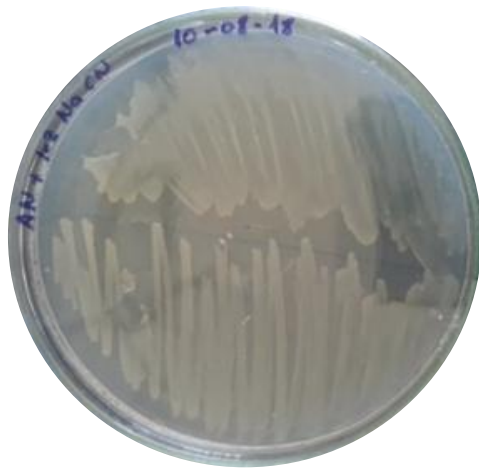
**Anexo 31.** Obtención y siembra de la muestra a partir de la laguna de maduración N° II de la PTAR “La Tatora”. Ayacucho 2018.



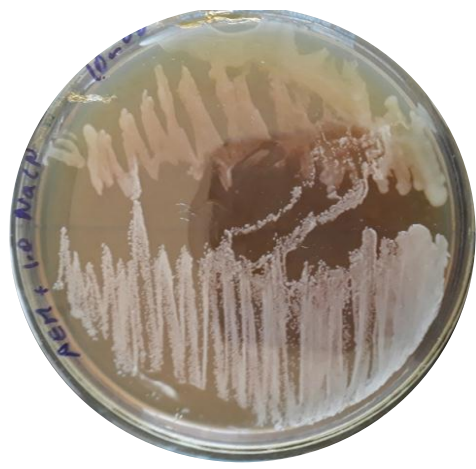
**Anexo 32.** Flujograma del aislamiento y adaptación de las cepas degradadoras de cianuro. Ayacucho 2018.



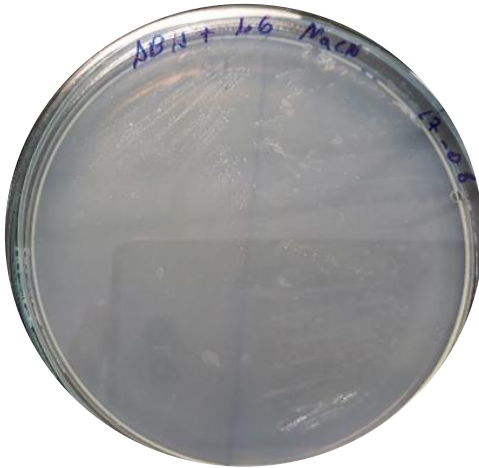
**Anexo 33.** Observaciones macroscópicas de las cepas bacterianas. Ayacucho 2018.



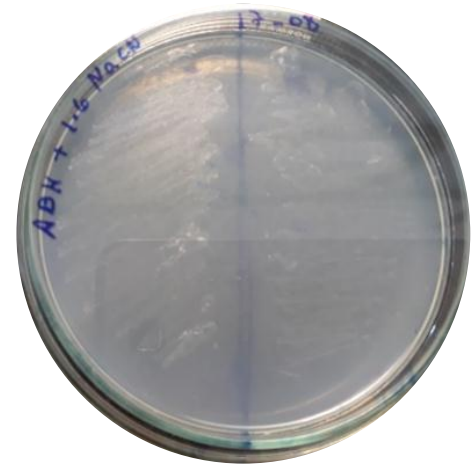
a) En agar CN



b) En agar EM



c) En agar BH1

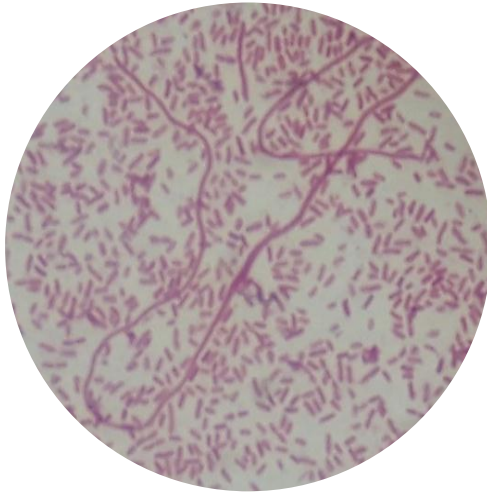


d) En agar BH2

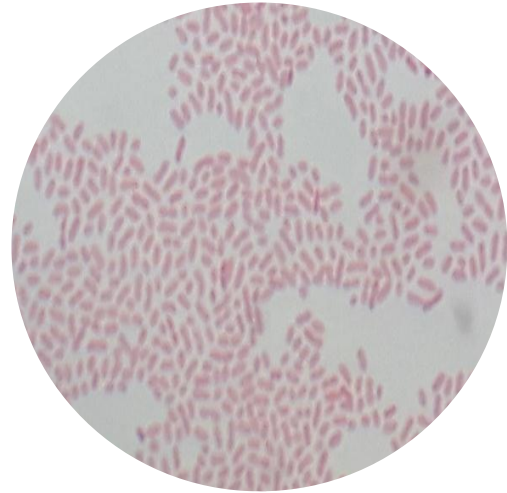


e) En agar BH3

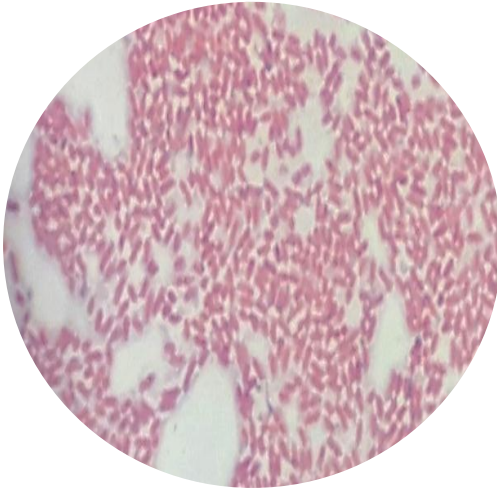
**Anexo 34.** Observación microscópica de la coloración GRAM a 100 X



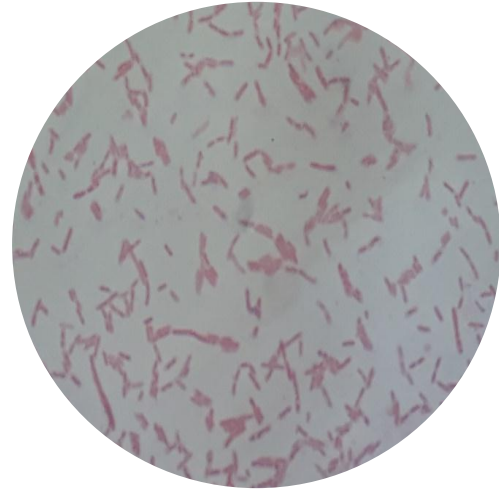
a) Bacteria desarrollada en CN



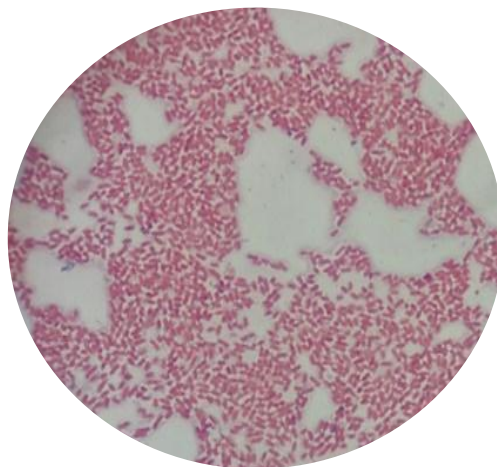
b) Bacteria desarrollada en EM



c) Bacteria desarrollada en BH1



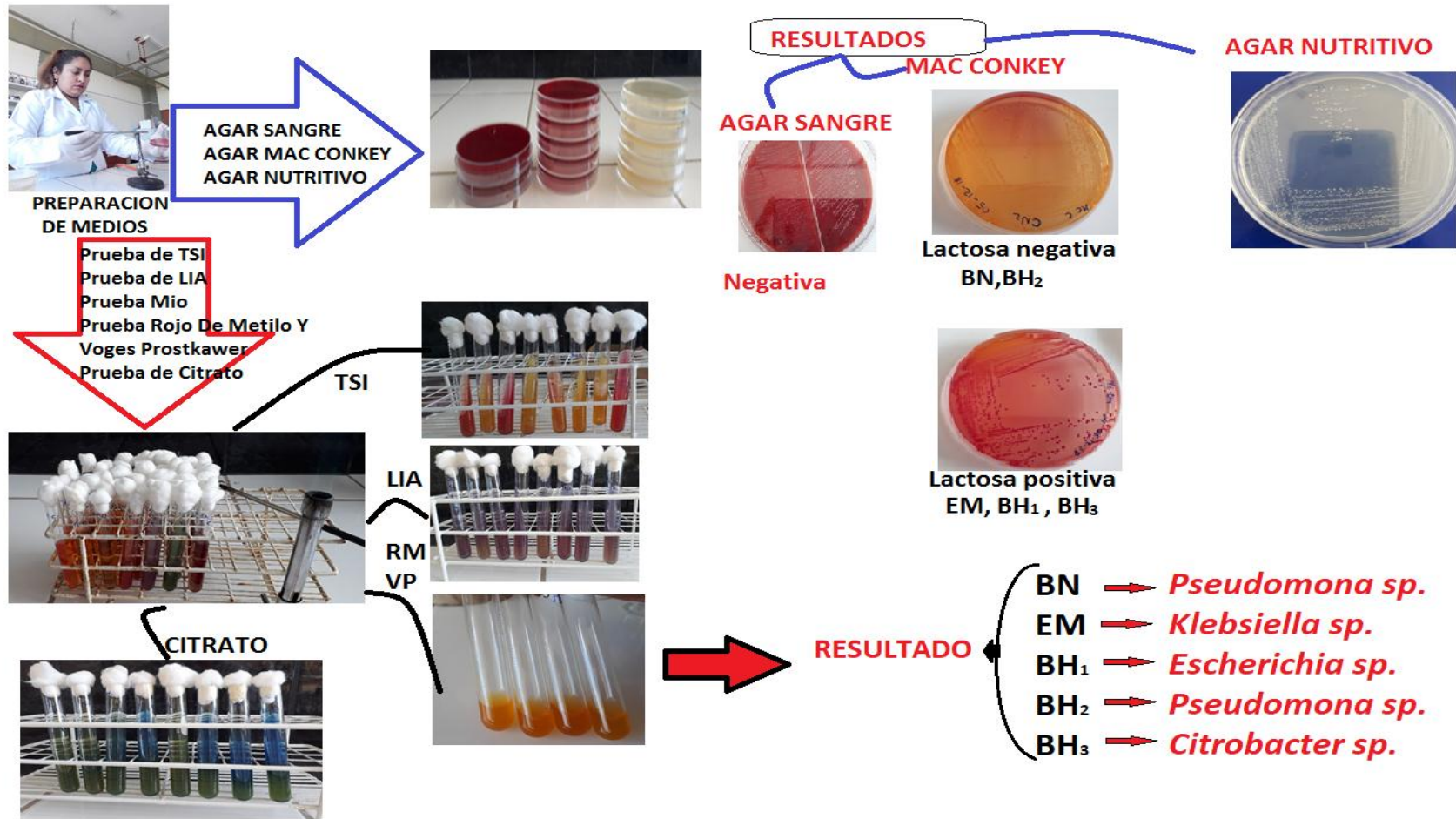
d) Bacteria desarrollada en BH2



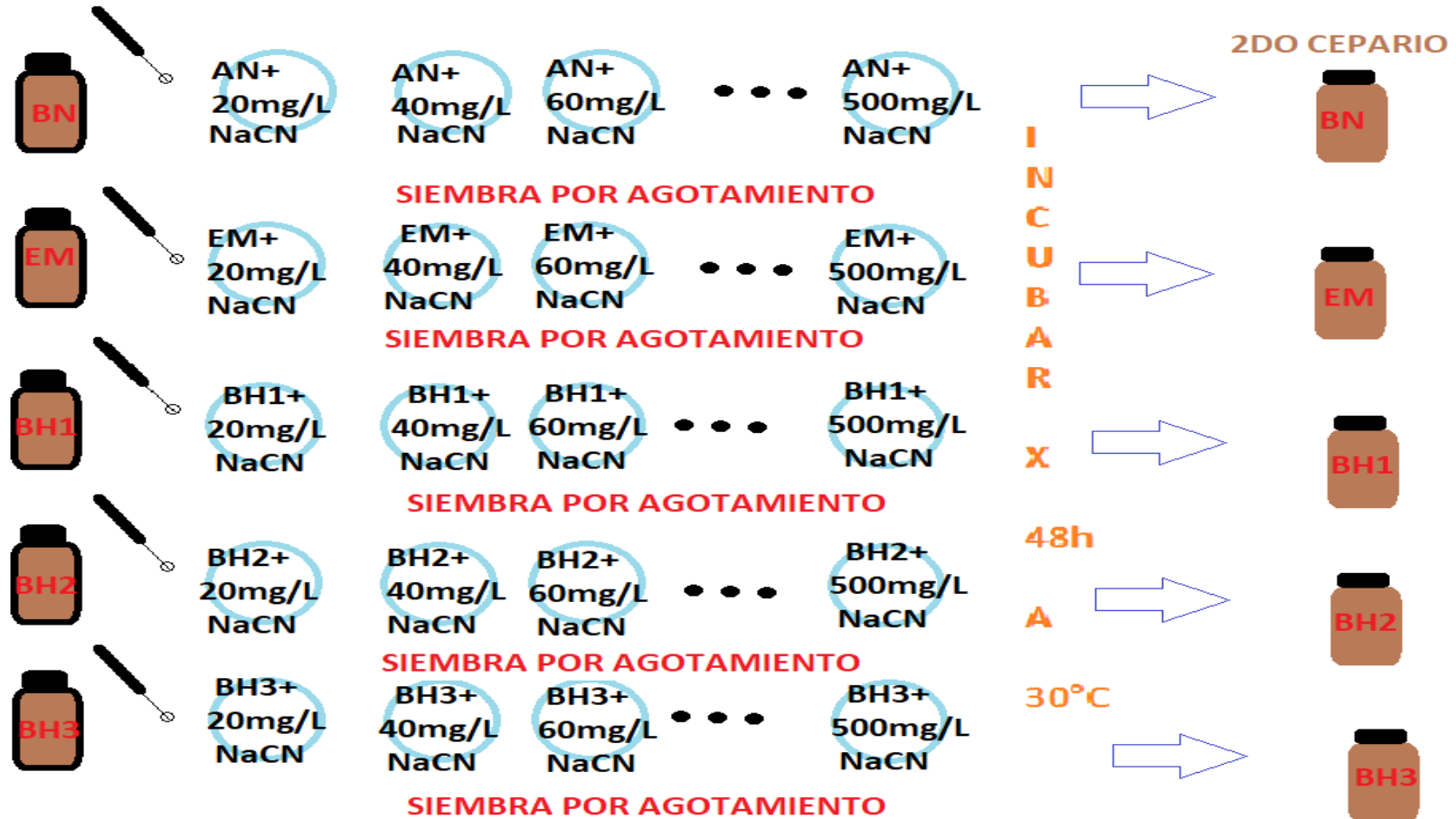
e) Bacteria desarrollada en BH3



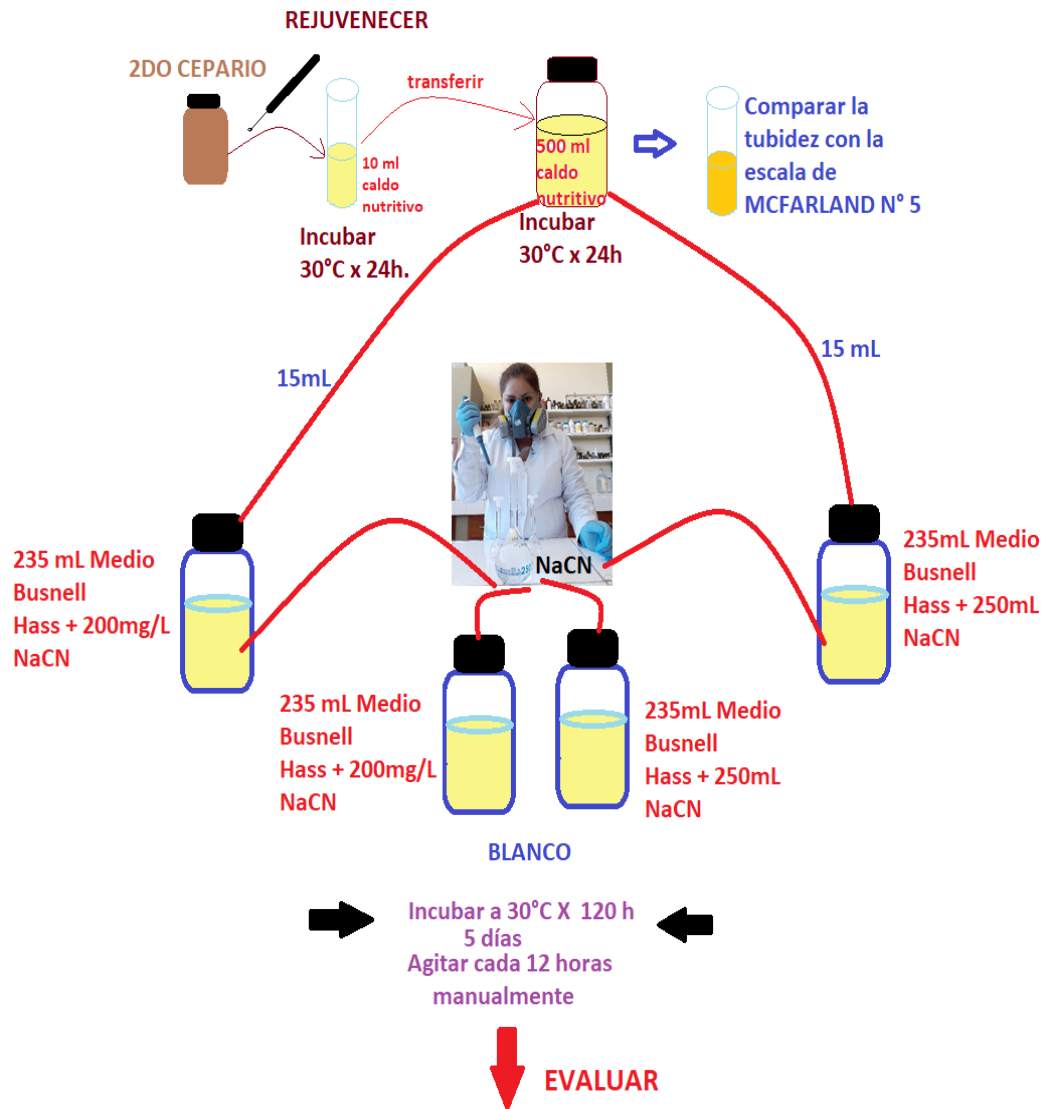
Anexo 35. Flujograma de la identificación de las cepas bacterianas. Ayacucho 2018.



Anexo 36. Adaptación de cepas bacterianas a la degradación de cianuro. Ayacucho 2018.

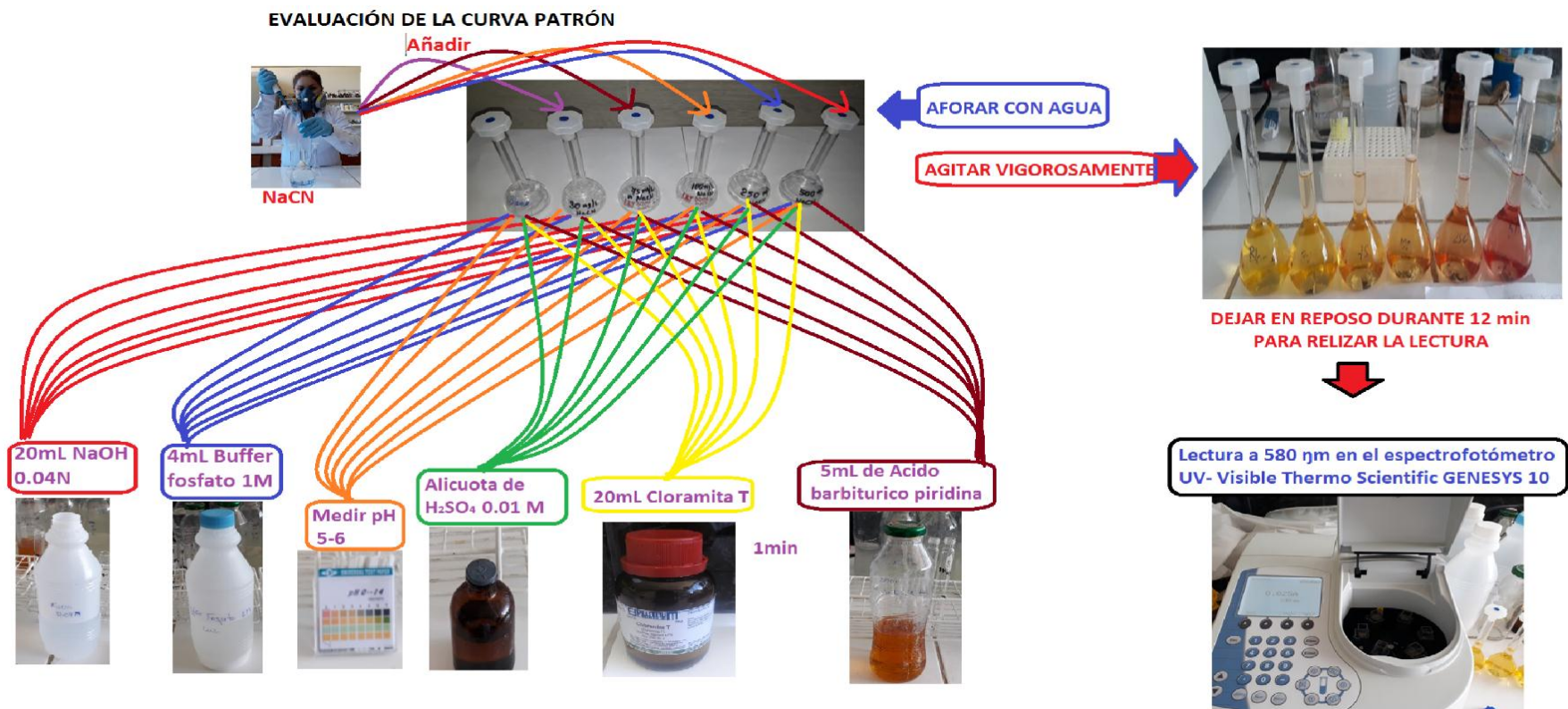


**Anexo 37.** Flujograma de la evaluación de la capacidad degradadora de cianuro por cepas bacterianas. Ayacucho 2018.



**VARIACIÓN Y EL PORCENTAJE DE DEGRADACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CIANURO RESIDUAL**

Anexo 38. Flujoograma de la medición de cianuro. Ayacucho 2018.



Anexo 39. Flujoograma de la medición de cianuro residual en los ensayos. Ayacucho 2018.

## Medición de cianuro residual en los ensayos



Preparación e  
inoculación del  
medio Bussnell  
Haas



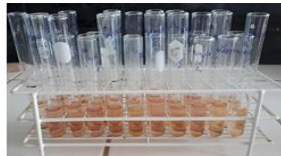
**ANEXO 33**



**Frascos con cultivos con cepas individuales  
y los consorcios en medios suplementados  
con NaCN a 200 y 250 mg/L**



**Obtención de inóculo para las cubetas y los tubos  
para realizar lectura espectrofotométrica a 580 nm de longitud de luz**



**(a)**

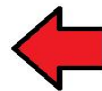


**(b)**

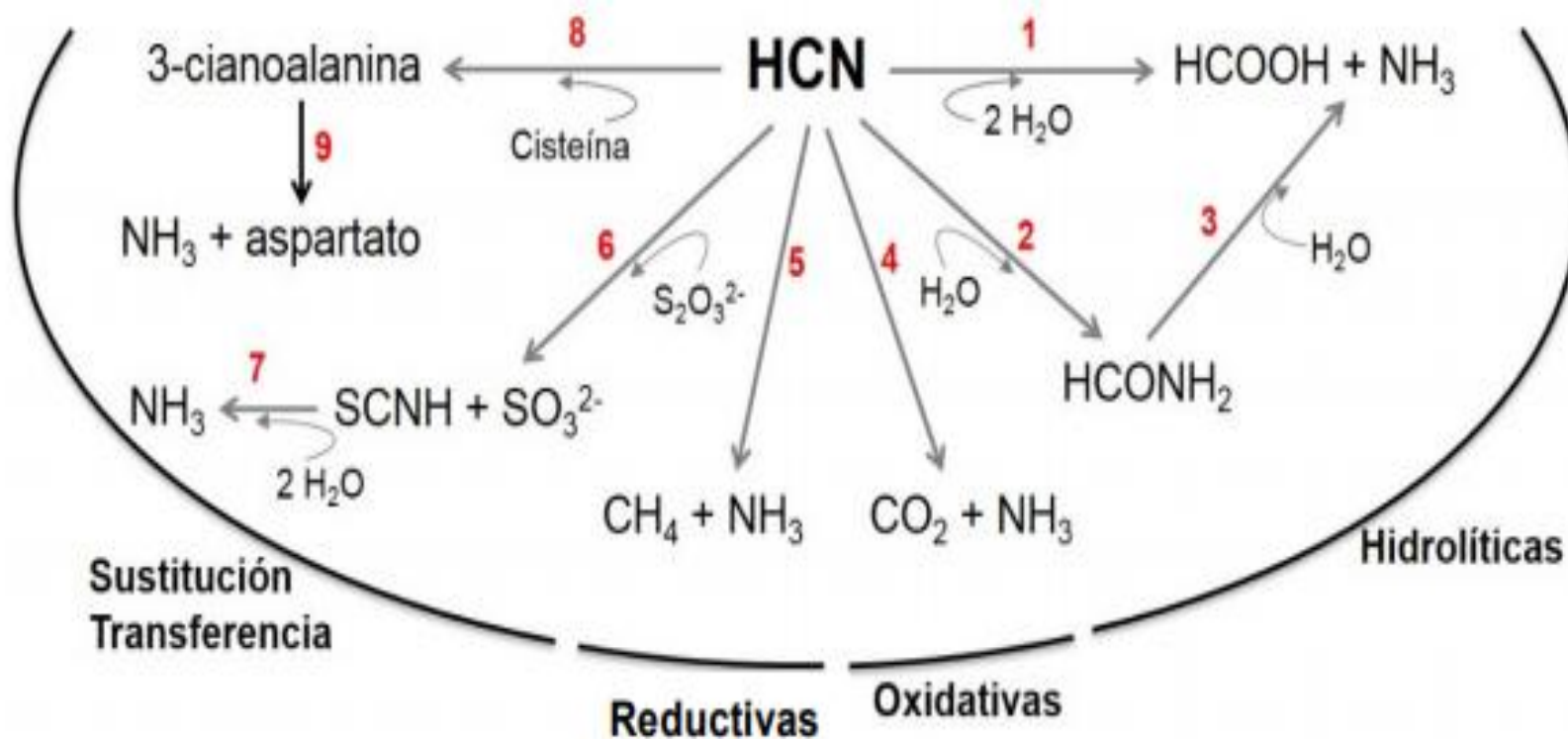
**Luego de añadido los reactivos para la  
observación al espectrofotómetro a 580  
nm. A una concentración de 200mg/L de  
NaCN (a) y 250mg/L de NaCN(b)**



**ANEXO 34**



**Anexo 40.** Rutas metabólicas de asimilación de cianuro. Las reacciones enumeradas en la figura están catalizadas por las siguientes enzimas: 1, cianidasa; 2, cianuro hidratasa; 3, formamidasa; 4, cianuro dioxigenasa; 5, nitrogenasa; 6, Reductivas 35 Introducción rodanasa; 7, tiocianato hidrolasa; 8, 3-cianoalanina sintasa; 9, nitrilasa o nitrilo hidratasa/amidasa.<sup>13</sup>



**Anexo 41. Matriz de consistencia**

**Título: Capacidad degradadora de consorcios bacterianos, aislados de agua residual tratada. Ayacucho - 2018.**

<b>PROBLEMA</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>VARIABLE E INDICADORES</b>	<b>METODOLOGÍA</b>
¿Cuál será la capacidad de los consorcios bacterianos, aislados de agua residual tratada, en la degradación de cianuro?	Existen consorcios bacterianos aislados de efluentes de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” con capacidad degradativa de cianuro hasta niveles por debajo de los establecidos por las normas ambientales del Perú.	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b> Determinar la capacidad degradativa de cianuro a partir de consorcios bacterianos aislados de agua residual tratada “La Totora”.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aislar consorcios bacterianos degradadores de cianuro a partir de muestras de agua residual de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora”</li> <li>• Determinar el porcentaje de remoción de cianuro por consorcios bacterianos degradadores de cianuro aislados a partir de agua residuales de la planta de tratamiento de agua residual “La Totora” a nivel de laboratorio.</li> </ul>	<p>El cianuro es una sustancia química caracterizada por la presencia de una unidad química formada por el enlace carbono – nitrógeno (CN) se combina con una gran mayoría de compuestos orgánicos e inorgánicos. Es potencialmente letal, que actúa rápidamente sobre el sistema respiratorio.</p> <p><b>Localización del cianuro</b> El Cianuro es ampliamente usado en la minería y en otros procesos industriales. Puede ser producido por algunas bacterias, hongos y algas y es encontrado en algunas plantas. Estas plantas llamadas cianogénicas, liberan cierta cantidad de cianuro en el período de post cosecha.</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b> Conorcios bacterianos.</p> <p><b>INDICADORES</b> Conorcio 1 Conorcio 2 Conorcio 3</p> <p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> Degradación del cianuro.</p> <p><b>INDICADORES</b> Porcentaje de remoción.</p>	<p><b>TIPO DE INVESTIGACION</b> Aplicada</p> <p><b>NIVEL DE INVESTIGACION</b> Experimental</p> <p><b>TÉCNICAS:</b></p> <p><b>ANALISIS ESTADÍSTICO</b> Se aplicará análisis de varianza para determinar las concentraciones</p>