

Efecto de concentración y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp* en biodegradar cianuro del efluente minero El Toro, Huamachuco 2017.

Effect of concentration and residence time of *Rhizobium Sp* in biodegradar cyanide of effluent minero El Toro, Huamachuco 2017

Mary Teresiñha Calle del Aguila¹

RESUMEN:

La presente investigación se evaluó el efecto de concentración y tiempo de residencia del *Rhizobium Sp* en la biodegradación de cianuro, proveniente del efluente minero el Toro, Huamachuco, con una concentración de 183ppm, donde se consideró dos variables de estudio; concentración del *Rhizobium Sp* (UFC/mL) y tiempo de residencia del *Rhizobium Sp* (horas), aplicando un diseño bifactorial con tres repeticiones. La biodegradación se llevó acabo en una plancha de calentamiento (por agitación), las muestras contenían concentraciones del microorganismo de 3x10⁸ UFC/mL, 6x10⁸ UFC/mL y 9x10⁸ UFC/mL en tiempos de residencia de 24, 48 y 72 horas, éstas soluciones fueron trabajadas a un pH 8.5 y a temperatura ambiente. Después de la aplicación del análisis estadístico (Tukey y Duncan) de los resultados experimentales obtenidos, se concluyó que la concentración y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp* tuvo efecto significativo en la biodegradación de cianuro, teniendo como mejor resultado un 85.37% de biodegradación de cianuro (de 183ppm a 26.78ppm), a una concentración del microorganismo de 9x10⁸ UFC/mL y a tiempo de residencia del microorganismo de 72 horas.

Palabras claves: Biodegradación, Cianuro, Concentración, Tiempo de residencia, *Rhizobium Sp*.

ABSTRACT:

The present investigation evaluated the effect of concentration and residence time of *Rhizobium Sp* in the biodegradation of cyanide, from the El Toro, Huamachuco mining effluent, with a concentration of 183ppm, where two study variables were considered; *Rhizobium Sp* concentration (CFU / mL) and residence time of *Rhizobium Sp* (hours), applying a bifactorial design with three replications. The biodegradation was carried out in a heating plate (by agitation), the samples contained microorganism concentrations of 3x10⁸ CFU / mL, 6x10⁸ CFU / mL and 9x10⁸ CFU / mL in residence times of 24, 48 and 72 hours, these solutions They were worked at pH 8.5 and at room temperature.

After applying the statistical analysis (Tukey and Duncan) of the experimental results obtained, it was concluded that the concentration and residence time of *Rhizobium Sp* had a significant effect on the biodegradation of cyanide, having as a best result an 85.37% cyanide biodegradation. (from 183ppm to 26.78ppm), at a microorganism concentration of 9x10⁸ CFU / mL and at the microorganism's residence time of 72 hours.

Key words: Biodegradation, Cyanide, Concentration, Residence time, *Rhizobium Sp*.

1. INTRODUCCIÓN:

Actualmente el hombre se preocupa por alcanzar el confort y la mejora de calidad de vida, creando una serie de industrias con la finalidad de satisfacer sus necesidades, pero en la busca de esta satisfacción, deja de tomarle importancia al daño ambiental que estas industrias ocasionan al planeta. En el Perú las actividades mineras han venido incrementándose con el tiempo, teniendo un desarrollo considerable, hasta el punto de que la economía del país dependa de ello. En la actualidad, la minería de Perú es uno de los motores de la economía y sus envíos representan alrededor del 60% de las exportaciones, estando en el segundo lugar de América Latina en cuanto a producción de plata y oro. (INEI, 2016). La actividad minera que se desarrolla en el Perú, en su mayoría emplean cianuro o procesos de cianuración para la extracción de oro. Este proceso genera efluentes líquidos o residuos, que contienen elementos tales como cianuro de sodio, compuestos de cianuro de alta solubilidad, cianatos, tiocianatos y cianuro complejado con metales pesados, que son potencialmente tóxicos y presentan diversos grados de estabilidad y tratabilidad. (Bardales, 2014, p.15). En el departamento de La Libertad, específicamente en el distrito de Huamachuco se presencia la actividad minera en diferentes escalas: Gran minería, minería artesanal y minería informal; siendo las dos últimas que más realizan el proceso de cianuración para extraer oro, generando que sus efluentes se encuentren por encima de los Límites Máximos Permisibles, ocasionando daño ambiental a los cuerpos receptores donde descargan estos efluentes. Los peces y los invertebrados marinos son sensibles a la exposición al cianuro, concentraciones menores en el ambiente marino entre 5.0 y 7.2 $\mu\text{g/L}$ reducen la capacidad nadadora e inhiben la reproducción de muchas especies de peces. . Otros efectos adversos

pueden ser de mortalidad retardada, patologías, respiración entrecortada, alteraciones osmoregulatorias y alteraciones del crecimiento. En concentraciones de 20 a 76 $\mu\text{g/L}$, el cianuro es mortal para una gran cantidad de especies, y en concentraciones que superan los 200 $\mu\text{g/L}$ el efecto tóxico es rápido para la mayoría de las especies marinas. Los invertebrados experimentan efectos no letales adversos si son expuestos a concentraciones de entre 18 y 43 $\mu\text{g/L}$ de cianuro libre y efectos letales entre 30 y 100 $\mu\text{g/L}$. (Hernández, 2010, p.18). Los compuestos de cianuro son altamente tóxicos para cualquier forma de vida. La dosis mortal de cianuro para los hombres se encuentra desde 0.5 a 3.5 mg/kg de peso corporal, la presencia de cianuro en el agua tiene efecto negativo sobre la actividad biológica del ecosistema, una concentración de 0.1 ppm puede ser tóxica para una especie acuática sensible, por ello, la legislación peruana establece niveles de cianuro total de 1 mg/L; 0.1 mg/L de cianuro libre y 0.2 mg/L de cianuro WAD. (Guerrero, 2013, p.23). La degradación natural del cianuro o por procesos químicos se emplea actualmente para detoxificar desechos y/o efluentes contaminados, siendo la primera forma la de mayor interés para la industria por los altos costos que genera a utilización de productos químicos. Muchos estudios enfocados a la atenuación natural del cianuro, han concluido que la concentración de este compuesto disminuye con el tiempo debido a fenómenos de volatilización, precipitación, complejación, adsorción y biodegradación mediada por microorganismos nativos. (Restrepo et al, 2006, p.3). En todo el mundo existe un gran número de microorganismos con la capacidad de biodegradar materiales. Muchos de los organismos causan o contribuyen en procesos corrientes como la biodegradación de alimentos, maderas y la conversión de desechos orgánicos en suelos, minerales pudiendo estos microorganismos ser utilizados para fines benéficos,

como limpiar el medio ambiente. (Colán, 2017, p.22)

En la actualidad existe una gran variedad de tratamientos químicos, físicos y biológicos para la eliminación o recuperación de metales, cianuros y otros subproductos de los procesos metalúrgicos. “Los tratamientos biológicos son un método rentable y ambientalmente aceptable para la eliminación del cianuro en comparación con otras técnicas actualmente en uso”. (Aquino, 2016, p.35). La biorremediación o biodegradación puede definirse como el uso de organismos vivos, componentes celulares o enzimas libres con el fin de realizar una mineralización, transformación parcial o humificación de residuos o agentes contaminantes. También pueden alterar el estado redox de los metales. El cianuro puede ser metabolizado por organismos tales como, hongos y bacterias, que lo emplean como fuente de carbono y nitrógeno. (Colán, 2017, p.23). Según Aquino y Gurreonero (2016) en su tesis “Influencia del tiempo de residencia y concentración del inóculo de *Rhizobium Sp.* en la biodegradación de cianuro”, evaluaron la biodegradación de cianuro libre en soluciones de 150 ppm de concentración. La biodegradación se llevó a cabo en un Shaking Incubator (Incubadora con agitación orbital); las soluciones contenían las concentraciones de los cultivos puros de *Rhizobium Sp.*, estas concentraciones fueron de 2×10^8 , 4×10^8 y 6×10^8 cel/mL, las soluciones se trabajaron a pH 11 con un tiempo de residencia de 24, 48 y 72 horas a temperatura de 25 °C. Donde concluyeron que el cianuro libre puede ser biodegradado satisfactoriamente por la bacteria *Rhizobium Sp.* a diferentes concentraciones celulares, superándose el 50% de biodegradación durante las primeras 12 horas para las concentraciones de 4×10^8 y 6×10^8 cel/mL en un tiempo de residencia de 72 horas. Por su parte Morillo y Guevara (2015) en su tesis “Degradación de cianuro de sodio por

por *Pseudomonas Sp.* a dos temperaturas y tres pH”, para los ensayos se tuvieron seis frascos de vidrio conteniendo 100 mL de caldo mínimo de sales con buffer carbonato, 1000 ppm de cianuro de sodio y 4mL de inóculo de *Pseudomonas Sp.* (2.7×10^9 cel/mL) a las temperaturas de 32 y 36° C en combinación con los pH 9.5, 10 y 10.5; la degradación de cianuro de sodio fue medida cada 24 horas mediante el método titulométrico, donde sus resultados muestran máxima degradación de cianuro por *Pseudomonas Sp.* a 36°C y pH 9.5(655ppm) y mínima degradación a 36°C y pH 10.5(203 ppm). Cornejo (2016) en su tesis: “Biorremediación de relaves mineros con un consorcio microbiano nativo caracterizado molecularmente y productor de enzimas degradadoras de cianuro y derivados”, donde logró aislar e identificar molecularmente 89 cepas microbianas, siendo los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Alcaligenes* los más abundantes. Para determinar la degradación del cianuro se han realizado pruebas in vitro considerando estas cepas, ya sea individualmente y en consorcios. El mejor consorcio constituido por 8 cepas de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Alcaligenes* ha permitido una reducción de cianuro en un 97 y 99% tras 15 días de tratamiento en laboratorio y 22 días en situación real de biorremediación en el campo. Así también, Berastain y Hurtado (2012), en su publicación “Optimización de la biorremediación en relaves de cianuración adicionando nutrientes y microorganismos”, se plantearon encontrar los parámetros óptimos para el proceso de biorremediación de relaves de cianuración, mediante experimentos factoriales a nivel de columnas con la adición de nutrientes y el empleo de bacterias sulfato reductoras de relave (BSR) y bacterias capaces de biodegradar cianuro (BC). En donde realizaron una prueba de adaptación a relave y una prueba en columnas para probar: el efecto del empleo de 1 y 10 mm de lactato para incrementar la actividad de BSR; y

adición de 0,1 y 1 mm 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 mm y 10 mm. 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 en la adición de nutrientes o inóculo. Se probó en dos relaves adicionales y la adición de lactato de sodio 1 mm permitió la inducción de BSR en 8 días en uno de ellos. Por otro lado, Mosquera (2013), en su proyecto denominado “Aislamiento e identificación de bacterias capaces de degradar cianuro presente en muestras obtenidas del proceso de extracción de almidón de yuca”. Las bacterias fueron aisladas en un medio astringente que tenía como única fuente de carbono y nitrógeno el cianuro. Después las bacterias fueron seleccionadas de acuerdo a su morfología externa, se realizaron pruebas bioquímicas y Maldi -Tof para su identificación. Por último, se cuantificó la cantidad de cianuro degradado en los cultivos líquidos. Se encontraron 7 morfologías diferentes de las cuales, las pruebas bioquímicas reportaron 4 microorganismos diferentes *Rhizobium radiobacter*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Cupriavidus pauculus* y *Methylobacterium spp* y una cepa no fue identificada. Las 7 cepas presentaron un porcentaje de remoción de cianuro mayor al 95 % del medio líquido al cabo de 10 días. Agudelo, Betancur y Jaramillo (2010), en su investigación “Biotratamiento de residuos cianurados y su relación con la salud pública” tienen como objetivo proponer un biotratamiento para los residuos cianurados generados por procedimientos médico-forenses, para la degradación de los residuos cianurados, realizaron 22 pre ensayos y 9 bioensayos con *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans*

para diferentes concentraciones de cianuro. En los ensayos de degradación, *Pseudomonas aeruginosa* demostró un porcentaje de remoción del 87% para una concentración de 50 mg/L y *Thiobacillus ferrooxidans*, un 79% de remoción para una concentración de 500 mg/L. Se realizó una guía técnica para el manejo de los residuos de cianuro y llegaron a la conclusión de que los tratamientos biológicos con bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans* fueron eficientes en la degradación de cianuro. Hernández (2010) en su tesis “Evaluación de la capacidad de un aislado bacteriano nativo de *Pseudomonas Sp.* como potencial degradador de compuestos cianurados” donde demostró la biodegradación de 1000 ppm a 515 ppm de NaCN, en un lapso de 48 horas, a un pH 9.6 y un inóculo de 4.89×10^{11} UFC/mL de medio, generando concentraciones de amonio hasta de 2.05 ppm como producto del proceso. Por último; Restrepo, Montoya y Muñoz (2006) en su investigación “Degradación microbiana de cianuro procedente de plantas de beneficio de oro mediante una cepa nativa de *P. fluorescens*”, en este estudio se demostró tener una alta eficiencia en la degradación de cianuro hasta una concentración de 700 mg/L. La presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de concentración y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp* en la biodegradación de cianuro del efluente minero El Toro- Huamachuco, 2017.

2. MATERIAL Y MÉTODO:

Para la presente investigación se utilizará un diseño experimental bifactorial, teniendo dos variables independientes: concentración del microorganismo (3×10^8 UFC/mL, 6×10^8 UFC/mL y 9×10^8 UFC/mL) y tiempo de residencia del microorganismo (24, 48 y 72 horas), con tres réplicas, haciendo un total de 27 experimentos.

a) Determinación de la concentración y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp*.

La muestra de 7 litros servirá para trabajar las 27 muestras. Para cada muestra se sacará 200 ml del efluente minero y se llevará a un matraz de 250 ml, a cada muestra se le agregará 10 mL del inóculo de *Rhizobium Sp* que contendrán las siguientes concentraciones: 3×10^8 UFC/mL, 6×10^8 UFC/mL y 9×10^8 UFC/mL. Finalmente serán llevadas la plancha de calentamiento por un tiempo de residencia de 24, 48 y 72 horas y a temperatura ambiente.

b) Evaluación del contenido de cianuro

Se analizó por el método de análisis volumétrico (Método normalizado APHA, AWWA, WPCF 4500-CN D), para este método se utilizó la titulación de las muestras, se sacó una muestra de 10 mL

por cada repetición y se agregó de 2 a 3 gotas de yoduro de potasio (indicador) para titularla con una solución estándar de AgNO_3 hasta que el viraje sea ligeramente amarillo opalescente y se anotará el gasto. El diseño estadístico correspondió a un diseño experimental aleatorio con dos factores (concentración de *Rhizobium Sp* y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp*), se evaluó el efecto de las variables independientes sobre las dependientes, a través un análisis de varianza (ANOVA), posteriormente se determinó el tratamiento que obtuvo el mayor porcentaje de biodegradación de cianuro del efluente minero El Toro, se utilizaron las pruebas post hoc de Tukey y Duncan. Los datos fueron evaluados a un nivel de confianza del 95%; con el software estadístico IBM SPSS STATISTICS 24.

3. RESULTADOS:

La determinación de cianuro libre se realizó mediante el método volumétrico, se trabajó con una solución inicial de cianuro de 183ppm a pH 8.5.

En la Tabla N° 1, se muestran los promedios de la biodegradación de cianuro (%), a diferentes concentraciones y tiempo de residencia del microorganismo, como se puede observar el microorganismo (*Rhizobium Sp*), logra más del 50% de biodegradación de cianuro libre en todos los tratamientos experimentales.

Tabla N° 1: Biodegradación de cianuro libre (%)

Concentración de <i>Rhizobium Sp</i> (UFC/mL)	Tiempo de residencia de <i>Rhizobium Sp</i> (horas)	Biodegradación de cianuro (%)			
		R1	R2	R3	Promedio (%)
3×10^8	24	60.28	61.11	60.70	60.70
	48	75.33	76.17	75.75	75.75
	72	79.09	77.84	81.60	79.51
6×10^8	24	66.14	64.46	64.88	65.16
	48	79.93	79.93	79.51	79.79
	72	80.35	80.35	82.86	81.19
9×10^8	24	71.57	73.24	73.66	72.82
	48	81.19	82.02	83.27	82.16
	72	84.11	84.11	85.37	84.53

Fuente: Elaboración propia

En la Figura N° 1, se observa la biodegradación de cianuro (%), en las diferentes concentraciones y tiempo de residencia del *Rhizobium Sp*, donde el porcentaje de biodegradación se incrementa a medida que se incrementa el tiempo de residencia.

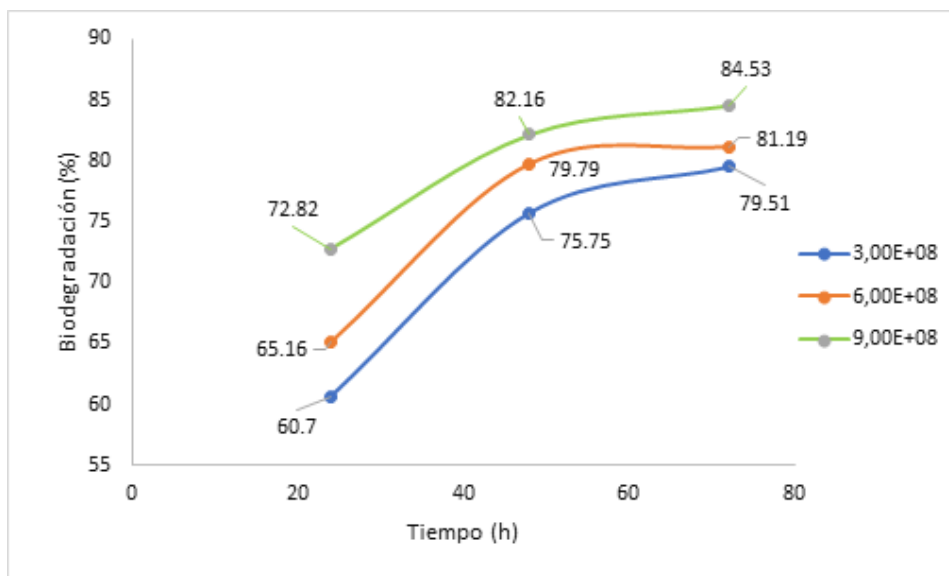


Figura N° 1: Tendencia de la biodegradación de cianuro libre (%).

Fuente: Excel 2013.

En la Tabla N° 2 y Tabla N° 3, Se visualiza las medias para los 2 tratamientos en los subconjuntos homogéneos, las cuales se basa en las medias observadas. Donde Tukey y Duncan, comparan los tratamientos tanto para Concentración de *Rhizobium Sp* y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp*, la cual indica que los mejores tratamientos para la biodegradación de cianuro libre se dan a una concentración de 9×10^8 UFC/mL y a un tiempo de residencia de 72 horas para Duncan y a una concentración de 9×10^8 UFC/mL y a un tiempo de residencia de 48 y 72 horas, para Tukey.

Tabla N° 2. Pruebas post hoc (Tukey) para biodegradación de cianuro.

Concentración	Tiempo	Tukey B ^a				
		1	2	3	4	5
3E+08	24	60.70				
6E+08	24		65.16			
9E+08	24			72.82		
3E+08	48			75.75		
3E+08	72				79.51	
6E+08	48				79.79	
6E+08	72				81.19	
9E+08	48				82.16	82.16
9E+08	72					84.53

Fuente: IBM SPSS STATISTICS 24

Tabla N° 3. Pruebas post hoc (Tukey) para biodegradación de cianuro.

		Duncan ^a						
Concentración	Tiempo	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
3E+08	24	60.70						
6E+08	24		65.16					
9E+08	24			72.82				
3E+08	48				75.75			
3E+08	72					79.51		
6E+08	48					79.79		
6E+08	72					81.19	81.19	
9E+08	48						82.16	
9E+08	72							84.53

Fuente: IBM SPSS STATISTICS 24

4. DISCUSIÓN:

Debido al alto crecimiento de industrias mineras, la principal preocupación es el tema de contaminación ambiental, por ello, se busca resolver dicho problema empleando métodos convencionales para remover metales pesados, entre estos métodos se encuentran los métodos químicos que son eficientes, pero demandan de alto costo para las empresas, esto confirma lo dicho por Restrepo, Montoya y Muñoz (2006) que los tratamientos convencionales para degradación de cianuro como adsorción sobre carbón activado o cloración alcalina, suelen ser muy comunes y eficientes, sin embargo presentan desventajas por el alto costo que conlleva la compra de los reactivos necesarios. El tratamiento microbiano por su parte, demuestra eliminar grandes cantidades de cianuro de una manera eficiente y económica.

En la Tabla N° 1, se muestran los resultados promedios de la biodegradación de cianuro, mediante la concentración y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp*, donde se observa una biodegradación temperatura óptima para el desarrollo del *Rhizobium Sp* es de 25 °C.

Así mismo, en la Tabla N° 1, se observa que más del

80% de la biodegradación de cianuro se desarrolla satisfactoriamente en los tres primeros días con una concentración 9x10⁸ UFC/mL del inóculo, Esto se asemeja con lo investigado por Mosquera (2013), donde las pruebas químicas realizadas, reportó 4 microorganismos diferentes *Rhizobium radiobacter*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Cupriavidus pauculus* y *Methylobacterium spp* y una cepa que no fue identificada, estas cepas presentaron un porcentaje de remoción de cianuro mayor al 95% del medio líquido al cabo de diez días. La diferencia de los porcentajes, se debe posiblemente a que el tiempo de residencia del *Rhizobium Sp* de la presente investigación se desarrolló en un tiempo menor (tres días) que el tiempo desarrollado por Mosquera (diez días).

En la Figura N° 1 se observa la tendencia de la biodegradación de cianuro (%), en las diferentes concentraciones y tiempo de residencia, donde el porcentaje de biodegradación de cianuro se incrementa a medida que se incrementa el tiempo de residencia, además se observa que el incremento del porcentaje de la biodegradación de cianuro entre 24 a 48 horas es mayor que el intervalo de 48 a 72 horas, este hecho es confirmado por Hernández (2010), donde expresa que, entre los factores medio

y tiempo, en el tiempo cero no se da biodegradación, pero a las 48 horas se obtuvieron los valores más altos en biodegradación de cianuro, es decir que a mayor tiempo mayor es la biodegradación de cianuro.

Para el análisis de los resultados de la investigación, se utilizó el método estadístico análisis de varianza (ANOVA), teniendo en cuenta consideraciones (homogeneidad de varianzas y normalidad), conocidas como bondad de ajuste, que nos permitieron realizar el análisis de varianza con total seguridad, donde permitió conocer la existencia de diferencias significativas que presentaron los datos de la investigación, para demostrar que las variables independientes (concentración y tiempo de residencia del *Rhizobium Sp*) influyeron en la variable dependiente (biodegradación de cianuro).

Mientras que la prueba de Duncan (tabla N° 3) indica que el tratamiento de concentración 9×10^8 UFC/mL de *Rhizobium Sp* a un tiempo de residencia de 72 horas es más significativa que el resto de tratamientos, la prueba Tukey (tabla N° 2), por su lado, indica que el tratamiento de concentración 9×10^8 UFC/mL de *Rhizobium Sp* a un tiempo de residencia de 48 y 72 horas, son estadísticamente iguales en nivel de significancia (se encuentran en el mismo subconjunto), se puede inferir que el tratamiento de concentración 9×10^8 UFC/mL de *Rhizobium Sp* a un tiempo de residencia de 72 horas, es el tratamiento más indicado, ya que el mismo tratamiento (concentración 9×10^8 UFC/mL de *Rhizobium Sp* a un tiempo de residencia de 72 horas) es indicado por las dos pruebas post hoc.

5. CONCLUSIONES:

1. La concentración y tiempo de residencia de *Rhizobium Sp* tiene efecto sobre la biodegradación de cianuro libre, ya que se observa una máxima

biodegradación de cianuro libre, disminuyendo de 183ppm a 26.78ppm (84.73% de biodegradación de cianuro libre), en concentración 9×10^8 UFC/mL a tiempo de residencia del microorganismo de 72 horas.

2. La concentración de *Rhizobium Sp* que permite reducir el contenido de cianuro libre del efluente minero El Toro, Huamachuco es la concentración 9×10^8 UFC/mL.

3. El tiempo de residencia de *Rhizobium Sp* que permite reducir contenido de cianuro libre del efluente minero El Toro, Huamachuco es el tiempo de residencia de 72 horas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- [1] AGUDELO, Ruth, BETANCUR, Judith y JARAMILLO, Carmen. Biotratamiento de residuos cianurados y su relación con la salud pública. Rev. Fac. Nac. Salud Pública, 28(1): 7-20, marzo 2010.
- [2] AKCIL Ata, KARAHAN AG, CIFTCI H, SAGDIC O. Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas sp*). Minerals Engineering, 16(7): 643-649, 2008. ISSN: 0892-6875.
- [3] AKCIL, Ata. Destruction of cyanide in gold mill effluents: biological versus chemical treatments. Biotechnology Advances. Biotechnology Advances, 21(6): 501-511. September 2007. ISSN 0734-9750.
- [4] AQUINO, Daniel y GURREONERO, Julio. Influencia del tiempo de residencia y concentración del inóculo de *Rhizobium Sp*. en la biodegradación de cianuro. Tesis (Ingeniero Químico). Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. 2016.

- [5] BARDALES, Joseph. Influencia de la dosificación de peróxido de hidrógeno, cantidad de carbón activado impregnado con iones de cobre y tiempo de agitación sobre la concentración de cianuro libre en soluciones de cianuro. Tesis (Ingeniero Metalurgista). Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. 2014. BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology por Krieg, N. [et al.]. 2010. 345-415 pp. ISBN 978-0-387-68572-4.
- [6] COLÁN, Omar. Efecto de la concentración de cianuro de sodio y del consorcio microorganismos eficaces en la biodegradación de cianuro. Tesis (Maestro en ciencias). Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. 2017.
- [7] CORNEJO, Melitza. Biorremediación de relaves mineros con un consorcio microbiano nativo caracterizado molecularmente y productor de enzimas degradadoras de cianuro y derivados. Tesis (Magíster en ciencias). Tumbes: Universidad Nacional de Tumbes 2016.
- [8] DOOLIN, Peter. Medical Assisting Made Incredibly Easy: Lab Competencies. Montgomery: 2007. ISBN: 9780781763479
- [9] GUERRERO, José. Cianuro: Toxicidad y destrucción biológica. *Biotecnología* 1(35): 25-35, 2013.
- [10] HERNÁNDEZ, Lina. Evaluación de la capacidad de un aislado bacteriano nativo de *Pseudomonas Sp.* como potencial degradador de compuestos cianurados. Tesis (Magíster en biotecnología). Medellín: Universidad Nacional de Colombia. 2010.
- [11] HURTADO, Jasmin y BERASTAIN, Arturo. Optimización de la biorremediación en relaves de cianuración adicionando nutrientes y microorganismos. *Rev. Perú. biol.* 19(2): 187-192. Lima, agosto 2012. ISSN 1561-0837.
- [12] Instituto Nacional de Estadísticas e Informática. [Fecha de consulta: 14 de mayo del 2017]. Disponible en: <http://www.inei.gob.pe/estadisticas/indice-tematico/economia/>
- [13] LOGSDON, Mark, HAGELSTEIN, Karen y MUDDER, Terry. *The Management of Cyanide in Gold Extraction*. Ottawa: 2011. 8-35 pp. ISBN: 1-895720-35-4
- [14] MONTGOMERY, Douglas. *Design and analysis of experiments*, 2º ed. North Carolina, 2007. 77-97 pp. ISBN 968-18-6156-6.
- [15] MORILLO, Jhonn y GUEVARA, Juan. Degradación de cianuro de sodio por *Seudomonas Sp.* a dos temperaturas y tres pH. *Rebiolest* 1(3): 24-32. Trujillo, 2015.
- [16] MOSQUERA, Catalina. Aislamiento e identificación de bacterias capaces de degradar cianuro presente en muestras obtenidas del proceso de extracción de almidón de yuca. Tesis (Ingeniero Químico). Santiago de Cali: Universidad ICESI 2013.
- [17] RESTREPO, Oscar; MONTOYA, Carlos y MUÑOZ, Nury. Degradación microbiana de cianuro procedente de plantas de beneficio de oro mediante una cepa nativa de *P.fluorecens*. *Dyna*, 73(149): 45-51. Medellín, Julio 2006. ISSN 0012-7353.
- [18] SAWADA, Hiroyuki; KUYKENDALL, David y YOUNG, John. Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. *Journal of General and Applied Microbiol.*, 49: 155-179. Mayo, 2008.