

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



TESIS

**CONDICIONES DE *Pseudomonas fluorescens* PARA UNA EFICIENTE
DEGRADACIÓN DE CIANURO DE SODIO EN AGUA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL**

**PRESENTADO POR LA BACHILLER
HELLEN GIANELLA LARA MARÍN**

ASESORA

Ing. M. Cs. GIOVANA ERNESTINA CHÁVEZ HORNA

COLABORADORA

Blga. GISSELLA FIORELLA PÉREZ FLÓREZ

CELENDÍN - PERÚ

2026



CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador:
HELLEN GIANELLA LARA MARÍN
DNI N° 74396929
Escuela Profesional/Unidad UNC:
DE INGENIERÍA AMBIENTAL
2. Asesor:
ING° M. Cs. GIOVANA ERNESTINA CHÁVEZ HORNA
Facultad/Unidad UNC:
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
3. Grado Académico o título profesional:
☐ Bachiller ☒ Título profesional ☐ Segunda especialidad
☐ Maestro ☐ Doctor
4. Tipo de investigación:
☒ Tesis ☐ Trabajo de investigación ☐ Trabajo de suficiencia profesional
☐ Trabajo académico
5. Título del trabajo de investigación:
"CONDICIONES DE *Pseudomonas fluorescens* PARA UNA EFICIENTE DEGRADACIÓN DE CIANURO DE SODIO EN AGUA"
6. Fecha de evaluación: 14/10/2025
7. Software antiplagio: ☒ TURNITIN ☐ URKUND (ORIGINAL) (*)
8. Porcentaje de Informe de Similitud: 9%
9. Código documento:
10. Resultado de la evaluación de Similitud:
☒ APROBADO ☐ PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha de Emisión: 27/02/2026

**Firma y/o Sello
Emisor Constancia**

ING° M. Cs. GIOVANA ERNESTINA CHÁVEZ HORNA

DNI: 40432609

*En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
"NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA"
Fundada por Ley N° 14015, del 13 de febrero de 1962
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Secretaría Académica



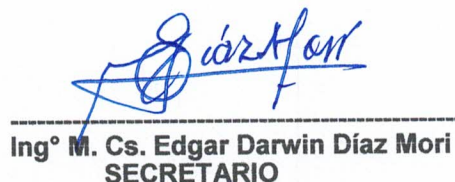
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Celendín, a los veintiséis días del mes de febrero del año dos mil veintiséis, se reunieron en el aula 102 de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental - Sede Celendín, los miembros del Jurado, designados según **Resolución de Consejo de Facultad N° 041-2026-FCA-UNC**, de fecha 12 de enero del 2026, con la finalidad de evaluar la sustentación de la TESIS titulada: "**CONDICIONES DE *Pseudomonas fluorescens* PARA UNA EFICIENTE DEGRADACIÓN DE CIANURO DEL SODIO EN AGUA**", realizada por la Bachiller **HELLEN GIANELLA LARA MARÍN** para optar por el Título Profesional de **INGENIERO AMBIENTAL**.

A las **DIECISÉIS** horas con **DIEZ** minutos, de acuerdo a lo establecido en el **Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca**, el presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, los miembros del Jurado procedieron a la formulación de preguntas y posterior deliberación. Acto seguido, el presidente del Jurado anunció la **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD** con calificativo de **DIECISIETE (17)** por tanto, el Bachiller queda expedido para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de **INGENIERO AMBIENTAL**.

A las **DIECISÉIS** horas y **CINCUENTA Y CINCO** minutos del mismo día, el presidente del Jurado dio por concluido el Acto de Sustentación.


Ph.D. Manuel Roberto Roncal Rabanal
PRESIDENTE


Ing° M. Cs. Edgar Darwin Díaz Mori
SECRETARIO


Ing. M. Cs. Adolfo Máximo López Aylas
VOCAL


Ing° M. Cs. Giovana Ernestina Chávez Horna
ASESOR


Blga. Gisella Fiorella Pérez Flores
ASESOR

COPYRIGHT © 2026 by
LARA MARÍN HELLEN GIANELLA
Todos los derechos reservados

DEDICATORIA

A mi hermana Lucero, por ser una fuente constante de motivación y superación personal; y a mi abuela Águeda, cuyo ejemplo de aprecio por cada etapa de la vida ha contribuido profundamente a mi formación personal y profesional.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haber otorgado las condiciones necesarias de salud, vida y claridad mental que permitieron el desarrollo riguroso de esta investigación científica.

A mis padres, por constituir un soporte fundamental en el ámbito personal y académico, brindando estabilidad emocional, motivación constante y respaldo incondicional durante todo el proceso de formación profesional.

A los docentes de la carrera, cuyo compromiso con la enseñanza y excelencia académica ha contribuido significativamente al desarrollo de competencias analíticas, metodológicas y éticas necesarias para la elaboración de este trabajo de investigación.

A la ingeniera Giovana Ernestina Chávez Horna y a la bióloga Gissella Fiorella Pérez Flores, por su asesoramiento técnico, su orientación oportuna y su disposición para guiar la ejecución de esta tesis con criterio científico y profesional.

A mis familiares y amigos, quienes representaron un soporte emocional y motivacional clave, brindando aliento y acompañamiento en los momentos más exigentes del proceso académico.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Antecedentes de la Investigación	3
2.2. Bases Teóricas	10
2.2.1. <i>Cianuro</i>	10
2.2.2. <i>Química del cianuro</i>	11
2.2.3. <i>Soluciones de cianuro</i>	15
2.2.4. <i>El cianuro en la industria</i>	18
2.2.5. <i>Toxicidad del cianuro</i>	18
2.2.6. <i>Tratamientos para la remoción de cianuro</i>	20
2.2.7. <i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 49838	21
2.3. Definición de Términos Básicos	25
2.3.1. <i>Cianuro de sodio</i>	25
2.3.2. <i>P. fluorescens</i>	25
2.3.3. <i>Factores fisicoquímicos</i>	25
2.3.4. <i>Biodegradación</i>	25
CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1. Localización de la Investigación	26

3.2. Materiales.....	26
3.3. Factores, Variables, Niveles y Tratamientos de Estudio	28
3.4. Diseño Experimental y Arreglo de los Tratamientos.	29
3.5. Croquis del Experimento.....	29
3.6. Evaluaciones a Realizar.....	30
3.7. Procedimiento	30
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1. Condiciones en las que <i>P. fluorescens</i> Presenta Mayor Eficiencia en la Degradación del Cianuro de Sodio en Agua.....	36
4.2. Efecto del pH en la Degradación de Cianuro de Sodio por <i>Pseudomonas fluorescens</i> ..	38
4.3. Efecto del Tiempo en la Degradación de Cianuro de Sodio por <i>Pseudomonas</i> <i>fluorescens</i>	42
4.4. Crecimiento de <i>Pseudomonas fluorescens</i> Después del Tratamiento	45
CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
5.1. Conclusiones	49
5.2. Recomendaciones.....	50
CAPÍTULO VI.....	51
REFERENCIAS.....	51
CAPÍTULO VII	64
ANEXOS	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Propiedades del cianuro y su significado	12
Tabla 2 Concentraciones de cianuro en plantas seleccionadas.	17
Tabla 3 Características del cianuro de sodio.	18
Tabla 4 Tratamientos fisicoquímicos del cianuro y sus desventajas	21
Tabla 5 Factores, variable y tratamientos de estudio	28
Tabla 6 Matriz de diseño experimental	29
Tabla 7 Análisis que se realizaron durante la investigación	30
Tabla 8 Fórmulas para el cálculo del ANOVA de un factor	35
Tabla 9 Condiciones en las que <i>P. fluorescens</i> presenta mayor eficiencia en la degradación del cianuro de sodio en agua.....	36
Tabla 10 Análisis de la varianza de dos factores (tiempo, pH y su interacción).....	37
Tabla 11 Análisis Tukey al 5 % de las concentraciones en función al pH	41
Tabla 12 Análisis Tukey al 5 % de las concentraciones en función al tiempo de incubación	41
Tabla 13 Crecimiento de <i>P. fluorescens</i> en los niveles de tratamiento.....	45
Tabla 14 Número de colonias en las unidades experimentales	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mapa de ubicación de la investigación.....	27
Figura 2 Disposición de unidades experimentales.....	29
Figura 3 Siembra y adaptación de la cepa en caldo peptonado	31
Figura 4 Verificación del crecimiento bacteriano en el <i>Pseudomonas</i> agar	31
Figura 5 Masificación del inóculo	32
Figura 6 Adición del inóculo a las unidades experimentales.....	33
Figura 7 Toma de muestras y entrega de muestras	34
Figura 8 Control del crecimiento bacteriano	35
Figura 9 Eficiencias de degradación de cianuro en función al pH en los periodos analizados	38
Figura 10 Eficiencias de degradación de cianuro en función al tiempo de incubación.....	42
Figura 11 Preparación de botellas de vidrio ámbar.....	90
Figura 12 Preparación de placas Petri y material de vidrio	90
Figura 13 Esterilización de materiales a 180 °C por 30 minutos	91
Figura 14 Siembra de la cepa en caldo Peptonado	91
Figura 15 Adaptación de <i>Pseudomonas fluorescens</i> en caldo peptonado y MBSMG.....	92
Figura 16 Preparación de MBSM	92
Figura 17 Siembra de <i>P. fluorescens</i> en MBSMG	93
Figura 18 Activación de <i>P. fluorescens</i> en cianuro	93
Figura 19 Siembra del inóculo activado y adaptado en MBSMG para masificación.....	94
Figura 20 Masificación del inóculo bacteriano.....	94
Figura 21 Verificación de crecimiento durante la masificación	95
Figura 22 Preparación de agua sintética para los tratamientos	95
Figura 23 Verificación del pH en las unidades experimentales	96
Figura 24 Incorporación del inóculo bacteriano a las unidades experimentales	96

Figura 25 Incubación de unidades experimentales a 32 °C	97
Figura 26 Control de crecimiento bacteriano en <i>Pseudomonas</i> agar.....	97
Figura 27 Conteo de colonias después del periodo de incubación	98
Figura 28 Toma de alícuotas para análisis de cianuro	98
Figura 29 Preparación de muestras para su respectivo envío	99
Figura 30 Entrega de muestras al laboratorio para análisis de cianuro total	99

RESUMEN

Se evaluó las condiciones óptimas de *Pseudomonas fluorescens* para la degradación de cianuro de sodio en agua sintética con una concentración inicial de 500 ppm. El estudio fue de tipo experimental, bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3×3, considerando tres niveles de pH (9, 10 y 11) y tres tiempos de incubación (1, 5 y 10 días), además de un tratamiento control sin inoculación, cada uno con tres repeticiones, totalizando 30 unidades experimentales. El inóculo fue previamente adaptado a concentraciones crecientes de cianuro en medio base sales minerales glucosa e incubado a 32 °C. Las unidades experimentales se mantuvieron en condiciones aeróbicas, monitoreando pH mediante equipo multiparámetro y temperatura controlada. La cuantificación del cianuro residual se realizó mediante analizador de flujo de inyección (FIA) en laboratorio especializado. La eficacia de degradación se determinó porcentualmente a partir de la concentración inicial y final. Los resultados indicaron que a los 10 días y pH 9 se alcanzó la mayor remoción (95 %, 25.96 ppm), seguido de pH 10 (85 %, 75.53 ppm) y pH 11 (57 %, 216.6 ppm). A los cinco días, las eficiencias fueron de 61 %, 36 % y 17 %, respectivamente; mientras que al día uno fue de 15 %, 9 % y 3 %. El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey al 5 % evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), confirmando que el tratamiento más eficiente fue pH 9 con 10 días de incubación.

Palabras clave: *Pseudomonas fluorescens*, cianuro de sodio, biodegradación, pH, tiempo de incubación.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the optimal conditions of *Pseudomonas fluorescens* for the degradation of sodium cyanide in synthetic water with an initial concentration of 500 ppm. The study was experimental in nature, using a completely randomized design with a 3×3 factorial arrangement, considering three pH levels (9, 10, and 11) and three incubation periods (1, 5, and 10 days), in addition to a control treatment without inoculation, each with three replicates, totaling 30 experimental units. The inoculum was previously adapted to increasing cyanide concentrations in a mineral salts glucose medium and incubated at 32 °C. The experimental units were maintained under aerobic conditions, monitoring pH using a multiparameter instrument and controlling temperature. Residual cyanide quantification was performed using a flow injection analyzer (FIA) in a specialized laboratory. Degradation efficiency was determined as a percentage based on the initial and final concentrations. The results indicated that at 10 days and pH 9 the highest removal was achieved (95 %, 25.96 ppm), followed by pH 10 (85 %, 75.53 ppm) and pH 11 (57 %, 216.6 ppm). At 5 days, the efficiencies were 61 %, 36 %, and 17 %, respectively; while at day 1 the removal was 15 %, 9 %, and 3 %. Analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at 5 % showed statistically significant differences ($p < 0.05$), confirming that the most efficient treatment was pH 9 with 10 days of incubation.

Keywords: *Pseudomonas fluorescens*, sodium cyanide, biodegradation, pH, incubation time.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El crecimiento sostenido del sector minero representa uno de los principales pilares económicos en países con amplia disponibilidad de recursos minerales, entre ellos el Perú. Esta actividad, sin embargo, está estrechamente ligada a impactos ambientales negativos, especialmente por el uso intensivo de recursos hídricos y la generación de efluentes contaminados con metales pesados y compuestos tóxicos (Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería [OSINERGMIN], 2017, p. 25). La minería es una de las actividades más contaminantes del agua, debido a la descarga de residuos que contienen arsénico, plomo, mercurio, cadmio, zinc, cobre y compuestos cianurados, afectando ecosistemas acuáticos y poniendo en riesgo la salud humana (Freitas & Horta, 2023, p. 1).

El agua es un recurso esencial en las operaciones mineras, pero también es uno de los principales receptores de contaminación por compuestos tóxicos derivados de dichas actividades. (Pabón et al., 2020, p. 10) identifica a la minería como una de las fuentes más relevantes de contaminación hídrica en el país, señalando la presencia de metales pesados, los cuales afectan tanto fuentes superficiales como subterráneas. Estos contaminantes alteran la composición química del agua, generan toxicidad en organismos acuáticos y representan una amenaza directa para la salud humana.

En la lixiviación de minerales auríferos, el cianuro reemplaza al mercurio debido a que este último es altamente bioacumulable y persiste en los ecosistemas, mientras que el cianuro forma compuestos más degradables por mecanismos naturales (Lovera et al., 2002, p. 45). No obstante, esta característica no elimina su toxicidad: su efecto agudo depende de la concentración y puede generar pérdida de biodiversidad y efectos inmediatos en la salud. Ramírez (2010) advierte que los cianuros presentes en efluentes mineros pueden superar los límites tolerables y, al exponerse, transformarse en ácido cianhídrico (HCN), gas letal que puede causar la muerte por paro respiratorio en minutos. Aunque el cianuro está presente en plantas y alimentos comunes en concentraciones tolerables, su uso industrial requiere estricto control. Por ello, las mineras formales reciclan el cianuro y tratan sus relaves mediante procesos químicos, físicos o biológicos, a fin de evitar su liberación al ambiente (p. 55).

Frente a este problema, se han desarrollado diversos métodos de tratamiento para la remediación de efluentes cianurados, entre ellos, los procesos biológicos han demostrado ser una alternativa prometedora por su bajo costo, simplicidad operativa y sostenibilidad. En este contexto, las bacterias del género *Pseudomonas*, en particular *Pseudomonas fluorescens*, destacan por su capacidad de degradar compuestos cianurados bajo ciertas condiciones fisiológicas y ambientales (Chávez et al., 2022, p. 85). No obstante, su eficiencia puede verse comprometida por factores como el pH, la temperatura o la concentración inicial de cianuro, lo que hace necesario caracterizar y optimizar sus condiciones de funcionamiento.

En consecuencia, el estudio se orienta a determinar las condiciones en las que *P. fluorescens* presenta mayor eficiencia en la degradación del cianuro de sodio en agua. Para lograrlo, se plantean como objetivos específicos: determinar el pH adecuado donde *P. fluorescens* tiene mayor eficacia en la degradación del cianuro de sodio; determinar el tiempo adecuado de degradación de cianuro de sodio por *P. fluorescens*; y analizar el crecimiento de *P. fluorescens* después de los tratamientos.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antecedentes de la Investigación

Zambrano Palacios (2018) ha evaluado el efecto de un consorcio bacteriano aislado de aguas contaminadas con cianuro sobre la biodegradación de este compuesto. Las bacterias son obtenidas del agua residual proveniente del proceso de enriquecimiento de oro en los tanques de lixiviación de la mina Barranco. Posteriormente, realiza la resiembra y multiplicación de las cepas para conformar el consorcio bacteriano, el cual es aplicado en tres concentraciones diferentes denominadas tratamientos T1, T2 y T3, además de un tratamiento testigo sin aplicación bacteriana. Cada tratamiento se desarrolla por triplicado, conformando un total de 12 unidades experimentales. La concentración de cianuro es determinada mediante análisis de laboratorio en los días 0, 5, 19 y 27. Los datos son procesados estadísticamente a través del análisis de varianza (ANOVA) y la prueba LSD de Fisher utilizando el software InfoStat, con la finalidad de identificar diferencias significativas entre tratamientos. Los resultados evidencian que el tratamiento T1, correspondiente a la mayor concentración bacteriana, alcanza la mayor degradación de cianuro a los 27 días de iniciada la experimentación (p. xii).

Correa & Mocha (2021) han realizado una valoración de la capacidad de biodegradación de cianuro de sodio (NaCN), mediante un sistema de biodiscos y la

aplicación de inóculos de las cepas *P. fluorescens* ATCC 49838 y *Trichoderma harzianum*, obteniendo una reducción en la concentración del 99,62 % para la bacteria, 99,67 % para el consorcio y 99,71 % para el hongo, respecto a la muestra inicial de 258 mg/l. Finalmente en el análisis estadístico se evidencia diferencia significativa entre los grupos de datos, con especial atención al aislado fúngico *Trichoderma harzianum* (p. 70-77).

Castillo & Vega (2018) han determinado los parámetros óptimos del proceso de biorremediación de efluente cianurado, utilizando *Pseudomonas alcalófilas*. El procedimiento consistió en determinar las características del efluente cianurado. Luego se empleó el diseño central compuesto variando los parámetros el pH del medio de cultivo que fue ajustado a 9,78; 10,0; 10,5; 11,0 y 11,28 y a diferentes tiempos 17,2; 24; 36; 48 y 54,7 horas para determinar el porcentaje de biorremediación de cianuro total. Los resultados muestran las características del efluente que fueron concentración de cianuro total: 250 ppm y pH: 10,5 y los parámetros significativos que son el pH y el tiempo de biorremediación. En el diseño experimental dando los mejores resultados en el abatimiento de cianuro total fue de 165ppm, con un porcentaje de degradación 34,0 % a las condiciones de pH: 10,0 a las 48horas. Los resultados de la estadística de regresión fueron de un coeficiente de correlación múltiple mayor a 0,95, esto quiere decir que los resultados se ajustan al modelo matemático. Los parámetros óptimos fueron de pH óptima de 9,9 y tiempo óptimo de 2,10 días o 54 horas (p. 8).

Morillo Mendoza (2014) ha evaluado el efecto de diferentes combinaciones de temperatura (32 y 36 °C) y pH (9.5, 10 y 10.5) sobre la degradación de cianuro de sodio por *Pseudomonas sp.*, aislada de lodos activos de una planta de tratamiento de aguas residuales en Trujillo, Perú. Para ello, cultivó la cepa en un medio con 1000 ppm de cianuro de sodio durante seis días, midiendo la degradación por método titulométrico

cada 24 horas. Los resultados indicaron que las condiciones óptimas para la degradación se presentaron a 36 °C/pH 9.5 (655 ppm degradados) y a 32 °C/pH 9.5 (648 ppm), mientras que la menor eficiencia se registró a 36 °C/pH 10.5 (203 ppm). El análisis estadístico mediante ANAVA y prueba de Tukey evidenció diferencias significativas entre los tratamientos con inóculo y los controles, concluyéndose que la temperatura y el pH influyen significativamente en la eficiencia del proceso, siendo el pH 9.5 el más favorable en ambas temperaturas (p. x).

Chávez et al. (2022) han evaluado la eficiencia biodegradativa de cianuro por *Pseudomonas sp.* a diferentes tiempos de incubación. Se empleó como grupo control solución salina fisiológica y un biorreactor con columna de burbujeo, cada biorreactor contuvo 450 ml de MBSMG a la concentración de 500 ppm de cianuro y a un pH de 8, con un inóculo a una concentración de $1,5 \times 10^8$ células por mililitro. La valoración de la concentración de cianuro se realizó mediante una titulación con AgNO_3 y KI. Los resultados obtenidos muestran una eficiencia de biodegradación del cianuro del 92,3 % a los 3 días de incubación, 85,8 % a los 7,5 días y 75,9 % a los 12 días; encontrándose también una correlación inversa de 0,985 entre la eficiencia de biodegradación y el tiempo de incubación de la bacteria mediante la Correlación de Pearson. Se concluye que la mayor eficiencia biodegradativa de la *Pseudomonas sp.* se presenta a los 3 días de incubación (p. 85).

Raimi et al. (2013) han determinado la capacidad de biodegradación de compuestos cianurados complejos como hexacianoferrato (II) de sodio trihidratado ($\text{Na}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), hexacianoferrato (II) de potasio decahidratado ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) y cianoargenato de potasio ($\text{KAg}(\text{CN})_2$), utilizando células libres de *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 (ATCC# BAA-477) en una suspensión acuosa. Evaluaron el efecto del pH inicial y la concentración de glucosa sobre la biodegradación, determinaron la

concentración mínima inhibitoria (MIC) de cada compuesto y monitorearon el crecimiento bacteriano, la generación de amoníaco y el consumo de glucosa. Concluyeron que *P. fluorescens* Pf-5 logró degradar los ferrocyanuros de sodio y potasio, usándolos como fuente de nitrógeno y la glucosa como fuente de carbono en medio M9. Sin embargo, el cianoargenato de potasio inhibió el crecimiento bacteriano en todas las concentraciones evaluadas. Las concentración mínima inhibitoria fueron de 50 mM (21,1 g/L) para el $K_4Fe(CN)_6$ y 75 mM (36,3 g/L) para el $Na_4Fe(CN)_6$, y la mayor generación de amoníaco se observó a pH 7. Además, el crecimiento bacteriano aumentó con mayores concentraciones de glucosa.

Coaquira Maquera (2014) ha determinado los valores físicos y químicos óptimos de temperatura, pH y concentración de cianuro, para una eficiente biodegradación de cianuro en relaves cianurados por *Pseudomonas fluorescens*, en un biorreactor aireado. Se empleó la cepa de *Pseudomonas fluorescens* aislada de un relave minero cianurado para evaluar en un biorreactor aireado su capacidad de degradación sobre tres diferentes concentraciones de cianuro de relave (500, 1 000, 1 500 ppm) a las temperaturas de 22, 26 y 30°C con pH de 9,5, 10, y 10,5 hasta que se obtuvo máxima degradación del cianuro en cada experimento. Se realizó 15 experimentos siguiendo el diseño de Box Behnken, que es un diseño factorial fraccionado. Se evaluó la concentración de cianuro en el biorreactor cada 24 horas mediante el método titulométrico. Mediante el Software Excel y el Minitab 16 se analizó los datos obtenidos. Se determinó en *Pseudomonas fluorescens* una máxima eficiencia y tasa de degradación de cianuro respectivamente de 96,67 % y 17,57 % /día; siendo los valores óptimos de las variables temperatura, pH y concentración de cianuro para la máxima eficiencia de degradación de cianuro 26°C, 9,5 de pH y 1500 ppm, y para la tasa de degradación de cianuro 26°C, 9,5 de pH y 500 ppm.

Agudelo et al. (2010) han propuesto un biotratamiento para los residuos cianurados generados por procedimientos médico-forenses, e identificaron los factores de riesgo asociados a su manipulación en el Instituto de Medicina Legal de Medellín. Caracterizaron los residuos según su estado físico y evaluaron su gestión, evidenciando deficiencias en todos los factores de riesgo, especialmente en el componente químico. Para la degradación del cianuro realizaron 22 preensayos y 9 bioensayos utilizando *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans*. Los resultados mostraron que *P. aeruginosa* logró un 87 % de remoción de cianuro a una concentración de 50 mg/L, mientras que *T. ferrooxidans* alcanzó un 79 % a 500 mg/L. Además, desarrollaron una guía técnica para el manejo adecuado de estos residuos. Concluyeron que los tratamientos biológicos con estas bacterias son eficientes para la degradación del cianuro y representan una alternativa viable para su gestión.

Restrepo et al. (2006) han evaluado la degradación microbiana de cianuro proveniente de plantas de beneficio de oro en Segovia, Colombia, utilizando una cepa nativa de *Pseudomonas fluorescens* aislada de arenas residuales contaminadas. Mediante ensayos en laboratorio, determinaron que esta cepa fue capaz de biodegradar eficientemente concentraciones de cianuro entre 100 y 500 ppm, alcanzando porcentajes de remoción superiores al 98 %. También comprobaron que concentraciones mayores a 700 ppm limitan significativamente la actividad bacteriana. Además, realizaron pruebas de toxicidad con *Daphnia pulex*, demostrando que niveles de cianuro iguales o superiores a 54 ppm resultan letales para esta especie. Concluyeron que el tratamiento biológico representa una alternativa eficiente y económica frente a los métodos convencionales, especialmente para residuos con concentraciones moderadas de cianuro (p. 45).

Naranjo & Santa (2006) han investigado la degradación biológica de cianuro en solución acuosa, utilizando células inmovilizadas de *Pseudomonas fluorescens* aisladas

de lodos de la industria de recubrimientos metálicos. Emplearon una concentración inicial de 15 ppm de cianuro en un medio con caldo nutritivo y pH 9,6, evaluando la eficiencia del proceso en dos matrices de inmovilización (agar-agar y alginato de calcio) y a tres caudales distintos (0,17; 0,23 y 0,29 mL/s). Determinaron que las condiciones óptimas para la biodegradación se lograron con agar-agar y un caudal de 0,17 mL/s, alcanzando una remoción del 99,12 % del cianuro en 48 horas, con una velocidad de degradación de 1,0445 mg/L·h. Concluyeron que la inmovilización de *P. fluorescens* representa una alternativa biológica altamente efectiva y competitiva para el tratamiento de aguas contaminadas con cianuro.

Dursun et al. (1999) han investigado la degradación de iones complejos de cianuro ferroso (II) (ferrocianuro) mediante células libres de *Pseudomonas fluorescens*, evaluando el efecto del pH inicial, las concentraciones iniciales de ferrocianuro y glucosa, y la tasa de aireación en un fermentador discontinuo. Determinaron que el microorganismo utilizó el ferrocianuro como única fuente de nitrógeno y la glucosa como sustrato principal, ajustándose a un modelo de inhibición no competitiva por compuestos tóxicos. La mayor tasa de biodegradación obtenida fue de 30,7 mg·g⁻¹·h⁻¹, bajo las condiciones siguientes: pH inicial 5, velocidad de agitación 150 rpm, aireación de 0,15 vvm, y concentraciones iniciales de ferrocianuro y glucosa de 100 mg/L y 0,465 g/L, respectivamente. Además, se observó que la inhibición por ferrocianuro como sustrato secundario comenzaba a concentraciones muy bajas (p. 901).

Díaz Silva (2023) ha evaluado las concentraciones de cianuro libre para determinar el impacto ambiental generado por la unidad minera artesanal San Vicente en la calidad del suelo del centro poblado de Algamarca. Se empleó un muestreo sistemático y equidistante (rejillas regulares) en nueve puntos representativos, complementado con un muestreo de fondo aleatorio simple en una zona no intervenida. Los resultados mostraron

que la concentración media de cianuro en la unidad minera fue de 0.272 mg/kg, valor 2.7 veces superior al del nivel de fondo (0.10 mg/kg), aunque sin superar el Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para suelos. En cuanto a parámetros fisicoquímicos, el pH en la unidad minera (6.90) superó en 1.16 veces al del fondo (5.95), mientras que la materia orgánica (1.078 %) y la capacidad de intercambio catiónico (CIC, 14.256 cmol(+)/kg) se redujeron en 2.37 y 1.69 veces, respectivamente, en comparación con los niveles de fondo. En el perfil vertical, se observó una disminución del cianuro libre y el pH a 20 cm de profundidad, mientras que la materia orgánica y la CIC aumentaron con la profundidad. El índice de geoacumulación (Igeo) fue más alto a los 10 cm en el punto P-04 y a los 20 cm en el punto P-05 (p. xi).

Arias et al. (2024) evaluaron la capacidad de *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, aislada de efluentes del proceso de cianuración de oro, para degradar cianuro presente en relaves mineros. Inicialmente realizaron pruebas de tolerancia en soluciones con 250 ppm de cianuro de sodio a diferentes valores de pH, empleando una población inicial de $4.00\text{E}+07$ UFC/mL y agitación durante 54 horas, observando una degradación de hasta 39,2 % de cianuro libre (CN^-) a pH 9,8. Posteriormente, evaluaron la degradación durante 144 horas en efluentes reales de cianuración ajustados a pH 10,5, con una población bacteriana inicial de $9,94\text{E}+08$ UFC/mL y concentraciones de 80 a 700 ppm de CN^- , obteniendo reducciones entre 55,89 % y 84,79 %. Los autores determinaron que la eficiencia de degradación se relaciona directamente con la concentración inicial de cianuro, evidenciando mayores porcentajes de remoción a concentraciones más elevadas (p. 1).

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Cianuro*

El cianuro es un anión monovalente (CN^-), compuesto por un átomo de carbono y uno de nitrógeno unidos por un triple enlace covalente, se encuentra de forma natural en bajas concentraciones en tejidos vegetales como parte de compuestos cianogénicos, pero su uso industrial se da en mayores proporciones, especialmente en los sectores minero, metalúrgico, químico y de síntesis orgánica, debido a su alta reactividad y capacidad de formar complejos solubles con metales de transición (Camargo, 2015, p. 5).

Guerrero Rojas (2013) menciona que 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. Básicamente, el cianuro se presenta como cianuro de hidrógeno (HCN), que es un gas, o en forma de cristales como el cianuro de sodio (NaCN) o el cianuro de potasio (KCN). También se menciona que por lo general el cianuro presenta un olor a “almendras amargas”, pero no siempre emana un olor y no todas las personas pueden detectarlo (p. 1).

El cianuro es un compuesto químico caracterizado por la presencia del anión CN^- , compuesto por un átomo de carbono unido por un triple enlace a un átomo de nitrógeno, su elevada reactividad nucleofílica y su capacidad para formar complejos estables con metales lo convierten en un reactivo ampliamente utilizado en diversas industrias, especialmente en la metalurgia, síntesis orgánica y tratamiento de minerales, debido a su eficiencia en procesos de lixiviación y su interacción con cationes metálicos (Logsdon et al. , 2001, p. 5).

2.2.2. *Química del cianuro*

La diversidad y compleja naturaleza de los diferentes compuestos cianurados se puede explicar en función de las características químicas del grupo ciano ($\text{-C}\equiv\text{N}$). El anión cianuro, formado por un átomo de carbono y uno de nitrógeno, presenta un enlace σ , dos π y dos orbitales antienlazantes desocupados. Los dos primeros orbitales de su estructura se llenan con el número máximo de electrones, mientras que los otros orbitales están vacíos. Debido a que los orbitales σ y π ($1+2$) están llenos con electrones, el cianuro se comporta como un halógeno. Sin embargo, su comportamiento pseudohalogeno no puede explicar la formación de complejos cianurados con los metales de la serie de transición como Fe, Co, Cu y Zn (Castillo & Vega, 2018, p. 15,16).

En la naturaleza el cianuro puede presentar diversas formas, estas se relacionan entre sí y están clasificadas por ciertas características. El Cianuro total se refiere a los compuestos de cianuro existentes en una solución acuosa. Este incluye al cianuro libre, los cianuros simples y los todos los cianuros complejos. El Cianuro disociable con ácido débil (WAD) representa a los compuestos de cianuro que se desintegran fácilmente con un ácido débil, en pH bajos como 4,5. El Cianuro libre es la clasificación donde se encuentra el ion cianuro disuelto y al cianuro de hidrogeno (Gaviria & Meza, 2006, p. 33).

La toxicidad inherente de las diferentes formas de cianuro previamente clasificadas se fundamenta en su mecanismo de acción específico a nivel celular. "Su acción biológica lo caracteriza como un inhibidor enzimático no específico; inhibe varias enzimas, tales la succinildeshidrogenasa, la superóxidodismutasa, la anhidrasa carbónica, la citocromooxidasa y otras, bloqueando la producción de ATP e induciendo hipoxia celular. En condiciones normales, la citocromooxidasa tiene

papel primordial en la utilización del oxígeno por la célula, su inhibición conlleva interrupción de la respiración celular que deriva en hipoxia citotóxica y, precisamente, el cianuro es tóxico para el organismo debido a que se une al ión férrico de la citocromooxidasa en la mitocondria e interrumpe el uso del oxígeno por la célula" (Ramírez, 2010, p. 55).

Tabla 1

Propiedades del cianuro y su significado

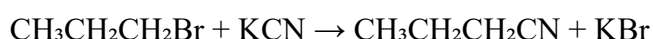
Propiedades	Significado
Forma compuestos complejos, con los iones metálicos pesados.	• Convierte los iones metálicos en solubles bajo condiciones en las que normalmente precipitarán. • Reacciona con los metales de los materiales biológicos impidiendo su buen funcionamiento biológico.
Estabilidad diferente de diversos complejos metálicos.	• Afecta la facilidad con que el cianuro puede ser separado del metal, permitiendo la destrucción del cianuro y la precipitación del metal.
Formación de un precipitado insoluble con el cobre cuproso y los ferrocianuros de metales pesados.	• Puede participar en la eliminación del cobre, cianuro y ferrocianuro en algunos procesos de destrucción de cianuro. • Puede dar origen al cobre coloidal reportado en los efluentes de plantas. • El cianuro soluble es la forma más tóxica. • Constituye una forma de eliminar el cianuro de los efluentes.
Oxidación a iones cianato y amonio por oxidantes químicos	• Producción de ion amonio tóxico en los efluentes tratados de plantas auríferas. • El efecto ambiental del cianato no es evidente. • Consume el cianuro necesario en la operación de plantas. • Mecanismo de detoxificación biológica.
Formación de tiocianato por reacción con compuestos de azufre.	• Consume el cianuro necesario en la operación de plantas. • Mecanismo de descodificación biológica.
Formación de cianuro de hidrógeno volátil a pH bajo	• Se cree que es un mecanismo importante en la degradación natural del cianuro y como método de tratamiento de efluentes. • Contribuye a las mermas en el análisis. • Es la base para los métodos analíticos de destilación. • La pre aireación reduce la toxicidad en el bioensayo. • Aumenta la separación del cianuro de los iones metálicos.
Fotólisis de los complejos metal-cianuro por luz ultravioleta	• Aumenta la toxicidad a través de la liberación del ion de cianuro libre.

Fuente: (Ministerio de Energía y Minas (MINEM), 1996)

La toxicidad del cianuro es el resultado del cese de la respiración aeróbica. El cianuro se une a las fracciones de cobre y hierro en la cadena de transporte de electrones, inhibiendo la actividad del citocromo c oxidasa, un mecanismo similar al del sulfuro de hidrógeno y monóxido de carbono. La inhibición resultante de la fosforilación oxidativa previene la producción de adenosín trifosfato y redirige la producción de energía hacia las vías de respiración anaeróbica, las cuales son rápidamente abrumadas. La acidosis láctica patognomónica de la toxicidad por cianuro es el resultado directo del arresto de la respiración aeróbica (Schaffer et al., 2025).

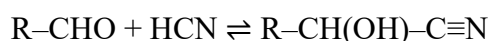
El ion cianuro (CN^-) es reconocido por su capacidad para interactuar con una amplia variedad de sistemas químicos y biológicos: actúa como nucleófilo en reacciones orgánicas (formación de nitrilos y cianohidrinas), presenta actividad en medios inorgánicos (protonación a HCN e hidrólisis a productos menos tóxicos), desempeña un papel clave en procesos industriales como la lixiviación de oro y la síntesis de precursores de polímeros, y ejerce efectos biológicos profundos al inhibir enzimas mitocondriales, aunque también puede ser detoxificado por vías enzimáticas (Lachowicz et al., 2024). Entre las principales reacciones se tiene:

Sustitución nucleofílica con cianuro, el ion cianuro (CN^-) actúa como nucleófilo fuerte y lineal, lo que le permite sustituir halogenuros de alquilo mediante un mecanismo $\text{S}_\text{N}2$, formando nitrilos. Esta reacción es ampliamente utilizada para alargar cadenas carbonadas en síntesis orgánica (Kim et al., 2003, p. 4282).

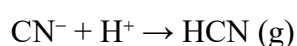


Formación de cianohidrinas, cuando un aldehído o una cetona se expone a cianuro (CN^- o HCN), este se adiciona nucleofílicamente al carbono carbonílico,

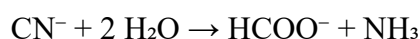
formando un intermedio llamado cianohidrina. Esta reacción es fundamental para la síntesis de compuestos funcionalizados (Disney et al., 2024, p. 350).



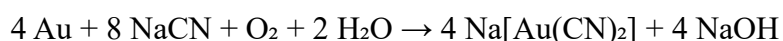
Protonación del del ion cianuro, en condiciones ácidas, el ion cianuro se protona generando ácido cianhídrico (HCN), un compuesto volátil y extremadamente tóxico, esta reacción es relevante tanto en la toxicología como en el manejo seguro de residuos cianurados (Logue et al., 2010, p. 123).



Hidrólisis del cianuro a formiato y amoníaco, el cianuro puede ser degradado por hidrólisis en condiciones térmicas o en presencia de enzimas como cianidasa, convirtiéndose en formiato y amoníaco, este proceso es parte de estrategias de detoxificación ambiental y biológica (Akcil, 2003, p. 502).



Cianuración del oro (reacción de Elsner), uno de los procesos industriales más conocidos que involucran cianuro es la lixiviación del oro, donde CN^- forma complejos solubles con el metal, este método ha sido la base de la minería aurífera moderna (Angles Betancurt, 2023, p. 44).



Hidrocianación del butadieno para síntesis de adiponitrilo, en la industria del nylon, el butadieno reacciona con HCN en presencia de catalizadores metálicos como níquel, formando adiponitrilo, un precursor clave para el nylon-6,6 (Dimian & Bildea, 2008, p. 313).

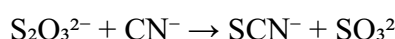


Inhibición de la citocromo c oxidasa, a nivel mitocondrial, el cianuro se une al centro metálico de la citocromo c oxidasa (Complejo IV), bloqueando el

transporte de electrones y deteniendo la síntesis de ATP, lo que produce hipoxia celular (Scott et al., 1985, p. 200).



Detoxificación del cianuro en humanos, en el cuerpo humano, el cianuro se detoxifica por medio de enzimas como la rodanasa, que lo convierte en tiocianato, una forma mucho menos tóxica que puede eliminarse por la orina (Aminlari & Vaseghi, 2006, p. 4).



2.2.3. Soluciones de cianuro

A. Cianuros simples

Castillo & Vega (2018) los describen como sales formadas por la reacción del cianuro de hidrogeno con una base como NaOH o Ca(OH)₂. Los cianuros simples se representan por la formula A (CN)_x, donde A es un alcalino (sodio, potasio, amoniac) o un metal, y x es la valencia de A en el tiempo, es el número de grupo de cianuro. El cianuro de sodio (NaCN) y el cianuro de calcio Ca(OH)₂ son cianuros simples que se utilizan comúnmente en el procesamiento de minerales auríferos (p. 18).

Los cianuros simples se disocian en agua formando ion cianuro y cationes metálicos solubles. Es el término utilizado para describir tanto al ión de cianuro (CN)⁻ que se disuelve en el agua del proceso como cualquier cianuro de hidrógeno (HCN) que se forma en la solución (Gaviria & Meza, 2006, p. 33).

B. Cianuros complejos

Los cianuros complejos tienen una variedad de fórmulas, el cianuro metal alcalino por lo general está representado por A_yM(CN)_x. En esta

fórmula, A representa metal alcalino, M es el metal pesado (Fe(II) y Fe (III), Cd, Cu, Ni, Ag, Zn , otros), y x es el número grupo de cianuro; x es igual a la valencia tomada de A. La formación de complejos metálicos en una solución de cianuro es un proceso secuencial en la medida en que el metal forma inicialmente un producto de baja solubilidad, el que a su vez reacciona con el ion cianuro excedente para formar un complejo de cianuro soluble y estable (Castillo & Vega, 2018, pp. 18,19).

Este tipo de cianuros son resistentes el ataque de un ácido débil, pero se disocian en presencia de un ácido fuerte a dos. Los complejos de cianuro con oro, cobalto y hierro son fuertes y estables en solución. Esta estabilidad del complejo oro-cianuro es un factor clave en el uso del cianuro para la extracción del oro del mineral (Logsdon et al., 2001, p. 10).

C. Cianuro de hidrógeno

También llamado ácido cianhídrico es un compuesto que puede estar presente en forma líquida o como gas cuando está cerca de la ebullición. Se trata de un ácido débil, altamente soluble en agua, con una constante de disociación de 4.365×10^{-10} y una $pK_a = 9.31$ a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Broderius, 1970, p. 14).

Logsdon et al. (2001) señala que una fuente natural de cianuro de hidrógeno (HCN) es un compuesto que asimila al azúcar llamado amigdalina, que existe en muchas frutas, verduras, semillas y nueces, entre ellos los damascos, brotes de poroto, castañas de cajú, cerezas, castañas, maíz, judías, lentejas, nectarinas, duraznos, maníes, pecanas, pistachos, papas, soja y otras nueces. En el corazón de la almendra amarga hay aproximadamente 1 mg de HCN en forma de amigdalina. La tabla 2 presenta datos sobre la cantidad de cianuro presente en diversos alimentos (p. 3).

Tabla 2*Concentraciones de cianuro en plantas seleccionadas*

Especies de plantas		Concentración (mg/kg)
Yuca	hojas	377 – 500
	raíces	138
	Raíces desecadas	46 - <100
	Puré	81
Punta de bambú		Max. 8000
Poroto blanco (judía) (Birmania)		2100
Almendra (amarga)		280 – 2500
Sorgo (planta joven, integral)		Max. 2500

Fuente: Logsdon et al. (2001, p. 3).

El cianuro libre se refiere al ion cianuro (CN^-) disuelto y al cianuro de hidrógeno (HCN) formado en solución. Al disolverse las briquetas de cianuro de sodio en agua, se libera CN^- , que puede combinarse con H^+ formando HCN . A pH menores a 8, predomina el HCN , el cual puede volatilizarse al aire. Por encima de pH 10.5, predomina la forma iónica CN^- debido a la baja concentración de H^+ (Logsdon et al., 2001, p. 15).

D. Cianuro de sodio

El cianuro de sodio (NaCN) es una sal inorgánica altamente soluble en agua, empleada principalmente como agente lixivante en la extracción de oro en la industria minera. En medio acuoso y bajo condiciones ligeramente oxidantes, el NaCN forma complejos solubles de oro, específicamente $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$, facilitando su separación del mineral. La solución obtenida, denominada solución cargada, contiene estos complejos aurocianurados. Para la recuperación del metal precioso, se emplea comúnmente zinc metálico (proceso Merrill-Crowe) o carbón activado (adsorción en carbón), separando el oro de la fase líquida mediante precipitación o adsorción selectiva (Palacios, 2002, p. 23).

Tabla 3*Características del cianuro de sodio.*

Nombre del material	Cianuro de sodio
Formula química	NaCN
Número CAS	143-33-9
Código UN	1689
Guía de respuesta	157
Clasif. de material peligroso	6.1
Código Hazchem	2X
Sinónimos	Sal de sodio, cianuro blanco
Uso	Pilas de lixiviación

Fuente: Garcés et al. (2006, pp. 7-12).

2.2.4. El cianuro en la industria

El cianuro, compuesto de carbono y nitrógeno, se usa ampliamente en la industria química por su alta reactividad. Cada año se producen más de un millón de toneladas, destinadas en un 80 % a la síntesis de compuestos orgánicos como nitrilos, nylon y plásticos acrílicos. También se emplea en galvanoplastia, tratamiento de metales, endurecimiento del acero, fotografía, caucho sintético y como aditivo en sales para deshielo. El cianuro de hidrógeno se usa como fumigante agrícola y en el control de plagas. En farmacia, aparece en fármacos como el laetril y el nitroprusiato. El 20 % restante se convierte en cianuro de sodio, del cual el 90 % se utiliza en minería aurífera por su eficiencia en la lixiviación de oro (Logsdon et al., 2001, p.5).

2.2.5. Toxicidad del cianuro

La toxicidad del cianuro depende de su forma química, grado de estabilidad y biodisponibilidad, las especies más tóxicas incluyen el cianuro de hidrógeno (HCN) y el anión cianuro libre (CN^-), debido a su alta solubilidad y capacidad de difusión biológica. En contraste, los complejos metálicos estables, como los

cianuros férricos o ferrocianuros, presentan una toxicidad significativamente menor, dado que su baja disociación limita la liberación del anión libre en medios biológicos (Ramírez, 2010, p. 57).

Debido a su alta toxicidad y al amplio uso de este compuesto, el estado peruano ha tenido que regular la cantidad permitida que se debe respetar en las descargas de efluentes, el decreto supremo N° 010-2010-MINAM aprueba los Límites Máximos Permisibles para la descarga de efluentes líquidos de actividades minero-metalúrgicas, donde el cianuro total tiene un límite de 1mg/L en cualquier momento, y 0.8 mg/L como promedio anual.

a. Toxicidad en los humanos

Los efectos de compuestos cianurados en el cuerpo humano varían por el tipo de exposición, ya sea esta oral, respiratoria, o por contacto dérmico; muchos de los efectos que se producen pueden ser mortales. La causa principal de muerte por cianuro involucra la ingesta de elevados niveles de cianuro provocando una parálisis permanente de las extremidades. A nivel tisular, el cianuro actúa sobre el sistema respiratorio, impidiendo el uso del oxígeno mediante la inhibición de la acción de las enzimas respiratorias, por lo que las células no pueden aprovechar el oxígeno sanguíneo, provocando asfixia celular. La exposición afecta al sistema nervioso central, agrandamiento de la glándula tiroides, irritación en piel y ojos. (Guerrero Rojas, 2013, p. 23)

b. Toxicidad en el medio ambiente

Su alto grado de toxicidad lo convierte en un compuesto de gran peligrosidad para la vida, que puede originar graves problemas en el ambiente como la destrucción de vida silvestre, aves, peces, ecosistemas y otros receptores ecológicos, entre los peligros ecológicos se encuentran la

mortalidad (peligro agudo) y la reducción en el crecimiento y la reproducción (peligro crónico) en las especies representativas (Lonsdon, et al., 2006). En consecuencia, el cianuro causa un desbalance ambiental en suelos, aguas y aire, debido a que los procesos naturales de degradación de no son suficientemente rápidos y debido a esto se sobrepasan los niveles normales provocando saturación (Barber et al., 2003, p. 344).

2.2.6. Tratamientos para la remoción de cianuro

Existen métodos de atenuación que reducen la presencia de cianuro en el ambiente, siendo la volatilización natural del cianuro de hidrógeno (HCN) una de las rutas más efectivas bajo condiciones ambientales favorables. No obstante, diversos estudios advierten que el uso intensivo de cianuro, especialmente en el sector minero, ha generado una sobresaturación de este compuesto en matrices ambientales como suelos y cuerpos de agua. Por ello, resulta fundamental implementar tratamientos físico-químicos y biológicos previos a la descarga de efluentes, con el fin de evitar la dispersión de cianuros reactivos y mitigar su impacto en los ecosistemas (Ascuña et al., 2018, p. 162).

Tratamientos físico – químicos. Shabnam, M. et al. (2014) describe a métodos como la cloración alcalina, la ozonización en presencia de luz ultravioleta, el peróxido de hidrogeno, la adsorción en gránulos de carbono activado, electrólisis, manejo con hipoclorito de calcio y los procesos de aire/dióxido de sulfuro, entre otros como tratamientos fisicoquímicos en la degradación de cianuro, sin embargo estos deben cumplir ciertas características para evitar limitaciones en los tratamientos, es por eso que se considera que la degradación del cianuro con alguno de estos tratamientos no se da en su totalidad (Mirizadeh et al., 2014, p. 9).

Tabla 4*Tratamientos fisicoquímicos del cianuro y sus desventajas*

Tratamiento	Inconveniente
Cloración	No elimina ferrocianuros
Electrólisis	No es útil en concentraciones bajas
Precipitación	Genera residuos (ferricianuro)
Ozonización	No es válidos para cianuro de cobalto.

Fuente: (Castillo Rodríguez, 2005).

Tratamientos biológicos. La biodegradación del cianuro comprende procesos biológicos en los que intervienen organismos como bacterias, algas, hongos y plantas, capaces de utilizar el cianuro como fuente de carbono y/o nitrógeno. Estos microorganismos transforman el cianuro en compuestos menos tóxicos mediante rutas metabólicas específicas, contribuyendo a su remoción del ambiente de forma eficiente y sostenible (Deloya Martínez, 2012, p. 62).

La biodegradación de cianuro, resulta en la formación de amonio. Los microorganismos involucrados poseen varios sistemas enzimáticos específicos que les permite desarrollar en ambientes con alta concentración de cianuro. Entre los microorganismos con capacidad degradadora están hongos (*Fusarium*, *Hasenula*, etc) y bacterias (*E.coli*, *P. fluorescens*, *Citrobacter*, *Bacillus subtilis* y otros) quienes asimilan cianuro y lo usan como fuente de nitrógeno y/o carbono, teniendo como intermediario NH_3 (Luque et al., 2005, p. 168).

2.2.7. *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838

EL género de esta bacteria se caracteriza por comúnmente presentarse en la naturaleza permitiendo ser aislada fácilmente. Son bacterias que pertenecen al reino prokaryotae, poseen membrana y pared celular bien definida, pertenecen a la familia *Pseudomonadaceae*, son bacilos Gram Negativo, rectos o curvados no vibriodes, son aerobios organotróficos sin metabolismo fermentativo que dependen

de reacciones de óxido reducción para obtener energía y utilizan sustancias oxidables a pH neutro o básico. Su diámetro se encuentra entre 0.7-0.8 μm . Se reproducen a temperaturas mesófilas (entre 25 y 30 °C); presentan gran capacidad para utilizar una diversidad de nutrientes como donadores y aceptores de electrones, haciéndolos nutricionalmente muy sencillos y permitiéndoles una amplia distribución en la naturaleza (Matsumura & Kojima, 2003, p. 100).

P. fluorescens es una bacteria Gram-negativa que forma parte del complejo de especies dentro del género *Pseudomonas*, ampliamente distribuida en suelos y ambientes acuáticos. Es aerobia estricta, móvil por flagelos polares y se caracteriza por producir pigmentos fluorescentes (sideróforos como pioverdina), especialmente en condiciones de carencia de hierro (Kunz et al., 1994, 1705).

Su clasificación taxonómica es: Filo *Proteobacteria*, Clase *Gammaproteobacteria*, Orden *Pseudomonadales*, Familia *Pseudomonadaceae*. Se aisló por primera vez del suelo usando cianuro potásico como única fuente de nitrógeno (Vilo et al., 2012, p. 6618).

a. Características fisicoquímicas

Su metabolismo es quimioorganotrófico, no fermentativo, utiliza oxígeno como aceptor final y muchas cepas son catalasa y oxidasa positivas (Kunz et al., 1994, 1706).

pH. La cepa de *P. fluorescens* puede reproducirse tanto en medios ácidos como en medios básicos, sin embargo, en la degradación de cianuro se busca un medio alcalino para evitar la formación de ácido cianhídrico (HCN); medio al cual *P. fluorescens* es resistente (Morillo Mendoza, 2014, p. 24).

Temperatura. El género *Pseudomonas* son por lo general son mesófilas, y temperaturas entre 25 y 30 °C son ideales para su óptimo

crecimiento. Sin embargo, cepas como *P. fluorescens* puede crecer desde los 4 °C y *P. aeruginosa* hasta los 41 °C (Goldman & Green, 2009 como se citó en Coaquira, 2014).

Adicionalmente, su tolerancia a cianuro en concentraciones elevadas (hasta 100 mM CN^-) en condiciones aeróbicas la hace útil para biorremediación (Kunz et al., 1994, 1707).

b. Degradación de cianuro por *P. fluorescens*

La especie *P. fluorescens*, según sean las condiciones de su ambiente, es capaz de degradar el cianuro por medio de distintas rutas, como la rutas hidrolítica a través de la producción formamida (Fernández et al., 2004, p. 122), la ruta reductora de sustrato por la nitrogenasa (Rivera & Burris, 1975, p. 537), la ruta de sustitución/adición a través de la formación de tiocianato a partir de cianuro y un donador de azufre y la producción de β -cianoalanina a partir de cianuro y diferentes aminoácidos (Raybuck, 1992, p. 4), y la ruta oxidativa donde se utilizan oxigenasas para catalizar la conversión de cianuro en NH_3 y CO .

P. fluorescens NCIMB 11764 puede crecer usando cianuro como su única fuente de nitrógeno, degradándolo para formar CO_2 , NH_3 , ácido fórmico y formamida. En cultivos de fed-batch, esta cepa degradó hasta el 85 % de 50 mM de KCN en solo 6 horas, demostrando su excepcional capacidad de asimilar CN^- en ausencia total de otras fuentes nitrogenadas. La proporción de metabolitos varía según la concentración y disponibilidad de oxígeno (Kunz et al., 1992, p. 2023).

La enzima cyanide oxygenase, inducida solo cuando se crece sobre cianuro, cataliza la oxidación aerobia de CN^- a CO_2 y NH_3 usando NADH y

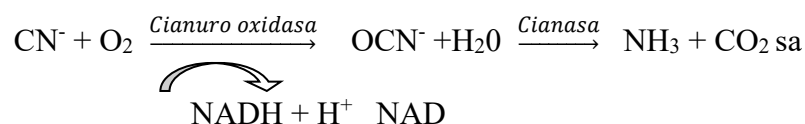
O₂. Estudios indican que 1 mol de oxígeno reacciona por cada mol de cianuro degradado, confirmando la eficiencia bioquímica de esta ruta en condiciones oxigenadas (Wang et al., 1996).

Incluso en ausencia de oxígeno, *P. fluorescens* NCIMB 11764 continúa degradando cianuro mediante rutas independientes de O₂, produciendo formamida y ácido fórmico además de amoníaco. Esto muestra la versatilidad metabólica de la cepa, que activa vías alternativas según el contexto ambiental (Kunz et al., 1992, p. 2024).

La enzyme cyanide oxygenase se ha caracterizado como un complejo multicomponente dependiente de cofactores pterínicos (como tetrahydrobiopterin) y de subunidades NADH oxidasa (Nox), NADH peroxidasa (Npx), nitrilasa (CynD) y anhidrasa carbónica. Estos elementos actúan coordinadamente para asegurar la degradación completa del cianuro (Fernandez, 2004).

El análisis genómico de *P. fluorescens* NCIMB 11764 identificó genes como NADH oxidasa (Nox), NADH peroxidasa (Npx), nitrilasa (CynD) y anhidrasa carbónica, todos relacionados con la degradación oxidativa del cianuro. Este perfil genético respalda su alta capacidad para usar cianuro frente a otras cepas del género (Vilo et al., 2012, p. 6620).

Suh et al., (1994) menciona a la adaptación de *P. fluorescens* la cual involucra la oxidación de cianuro mediante:



En este proceso primero la enzima monooxigenasa convierte el cianuro en cianato, este cianato es transformado a través de catabolización por la enzima cianasa transformándolo finalmente en amonio y CO₂ (p. 530).

2.3. Definición de Términos Básicos

2.3.1. Cianuro de sodio

Compuesto químico sólido, de color blanco y aspecto cristalino. Es altamente tóxico y reacciona con el agua o los ácidos liberando un gas venenoso llamado cianuro de hidrógeno (INSST, 2018, p. 1).

2.3.2. *P. fluorescens*

Bacteria en forma de bastón, que vive en presencia de oxígeno, tiene flagelos para moverse y es conocida por favorecer el crecimiento de las plantas con las que convive (Pérez, et al. 2015, p. 225).

2.3.3. Factores fisicoquímicos

Condiciones como pH, temperatura y nutrientes que afectan el crecimiento de *P. fluorescens* en ambientes con oxígeno (Díaz, 2011, p. 100).

2.3.4. Biodegradación

Transformación de compuestos tóxicos como el cianuro en sustancias menos dañinas por acción de bacterias como *P. fluorescens* (Zambrano Palacios, 2018, p. 21).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización de la Investigación

La investigación se realizó en los laboratorios de Biología, Química y Ambiental de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental – Celendín, donde se contaba con las condiciones necesarias para el manejo de cianuro y la ejecución de los ensayos de biodegradación. La ubicación geográfica se presenta en la figura 1.

3.2. Materiales

3.2.1. *Material experimental*

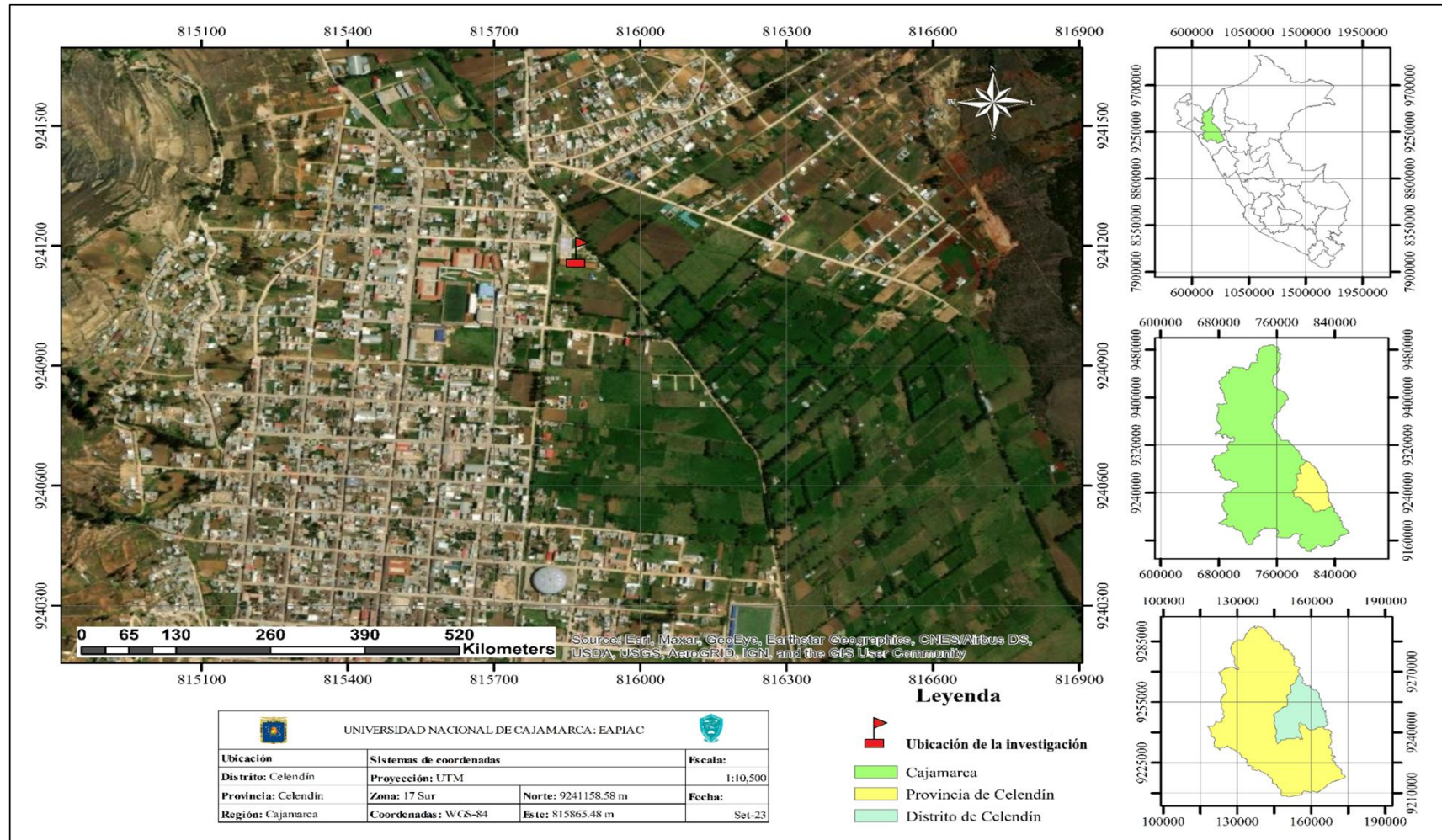
- Cianuro de Sodio (NaCN).
- Cepas de *P. fluorescens* ATCC 49838

3.2.2. *Equipos*

- Balanza electrónica.
- Incubadora.
- Microscopio, contador de colonias.
- Equipo multiparámetro.
- Autoclave.

Figura 1

Mapa de ubicación de la investigación



3.2.3. Otros materiales y reactivos

- Hidróxido de Sodio (NaOH).
- Agua reactiva (H₂O).
- Caldo peptonado [Peptonas (mezcla de péptidos y aminoácidos), cloruro de sodio (NaCl) y agua (H₂O)]
- MBSMG (Medio Mineral Basal con Sales y Glucosa, según su formulación estándar).
- Matraces Erlenmeyer.
- Aza bacteriológica.
- Bomba aireadora.
- Cajas Petri.
- Beakers.
- Probetas, pipetas y piseta
- Espátula.
- Cubre y porta objetos.

3.3. Factores, Variables, Niveles y Tratamientos de Estudio

Para el desarrollo del presente experimento, se consideró un solo factor: el proceso de optimización de las condiciones de biodegradación de *Pseudomonas fluorescens*, con una variable de estudio asociada a la eficiencia bajo diferentes condiciones de pH y tiempo de incubación. Se establecieron nueve tratamientos combinando tres niveles de pH (9, 10 y 11) y tres periodos de incubación (1, 5 y 10 días), como se detalla en la Tabla 5.

Tabla 5

Factores, variable y tratamientos de estudio

Factor	Variable	Tratamiento
Proceso de optimización de condiciones	Condiciones adecuadas de <i>P. fluorescens</i>	T1: Agua cianurada con pH 9; *T _I de 1 día.
		T2: Agua cianurada con pH 9; TI de 5 días
		T3: Agua cianurada con pH 9; TI de 10 días
		T4: Agua cianurada con pH 10; TI de 1 día
		T5: Agua cianurada con pH 10; TI de 5 días
		T6: Agua cianurada con pH 10; TI 10 días
		T7: Agua cianurada con pH 11; TI de 1 día
		T8: Agua cianurada con pH 11; TI de 5 días
		T9: Agua cianurada con pH 11; TI 10 días

*TI: tiempo de incubación

3.4. Diseño Experimental y Arreglo de los Tratamientos

Se empleó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 3×3, en el cual se evaluaron tres niveles de pH (9, 10 y 11) y tres periodos de incubación (1, 5 y 10 días), dando lugar a nueve tratamientos experimentales. A estos se les agregó un tratamiento patrón (T0) sin inoculación bacteriana, cada uno con tres repeticiones, alcanzando así 30 unidades experimentales.

Tabla 6

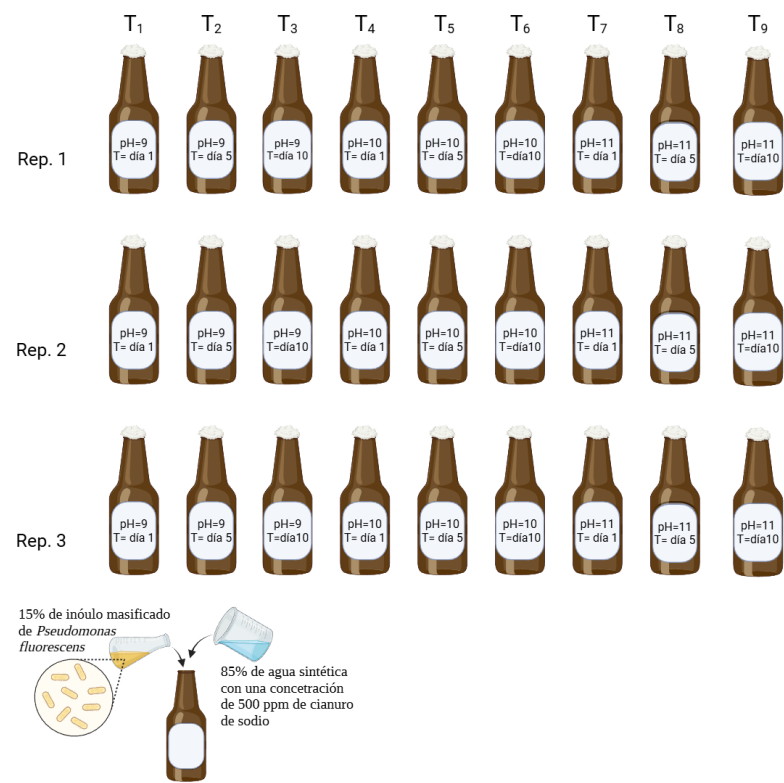
Matriz de diseño experimental

		pH 9	pH 10	pH 11	Donde:
		X ₁	X ₂	X ₃	
Día 1	Y ₁	T ₁ =X ₁ Y ₁	T ₄ =X ₂ Y ₁	T ₇ =X ₃ Y ₁	
Día 5	Y ₂	T ₂ =X ₁ Y ₂	T ₅ =X ₂ Y ₂	T ₈ =X ₃ Y ₂	X= pH del medio de cultivo
Día 10	Y ₃	T ₃ =X ₁ Y ₃	T ₆ =X ₂ Y ₃	T ₉ =X ₃ Y ₃	Y= tiempo de evaluación

3.5. Croquis del Experimento

Figura 2

Disposición de unidades experimentales



3.6. Evaluaciones a Realizar

Tabla 7

Análisis que se realizaron durante la investigación

Análisis	Periodo (días)	Equipo
Cuantificación de cianuro	Día 1 Día 5 Día 10	Analizador de flujo de inyección
pH	Día cero Día 1	Multiparámetro
Temperatura	Día 5 Día 10	

3.7. Procedimiento

El procedimiento seguido se basó en la metodología propuesta por Coaquira Maquera (2014), adaptada a los objetivos y condiciones experimentales de la presente investigación.

3.7.1. Obtención del inóculo de *Pseudomonas fluorescens*

Esterilización inicial

- Se esterilizaron todos los instrumentos y materiales utilizados para asegurar que únicamente *P. fluorescens* estuviera presente en los tratamientos.

Adaptación y activación de *P. fluorescens* en cianuro

- Se obtuvieron cepas puras de **P. fluorescens** desde el Laboratorio de Microbiología del Hospital II EsSalud Cajamarca. La certificación del laboratorio se encuentra detallada en el anexo 5.
- Se sembró con ayuda de una aza bacteriológica 10 colonias de la cepa en 100 mL de caldo peptonado, con pH 9,5 y 50 ppm de cianuro de sodio, y se incubó a 32 °C durante 48 horas.

Figura 3

Siembra y adaptación de la cepa en caldo peptonado



- Se transfirieron 5 mL de la suspensión a 25 mL de medio base sales minerales glucosa (MBSMG), ajustado a pH 9,5 y 75 ppm de cianuro, e incubado durante 48 horas a 32 °C. Posteriormente, el cultivo fue adaptado progresivamente en el mismo medio con concentraciones crecientes de cianuro de sodio (100, 500 y 1000 ppm), manteniendo el pH en 9,5 y la temperatura a 32 °C por 48 horas en cada etapa.
- En cada fase se verificó el crecimiento bacteriano mediante observación en fresco al microscopio y siembras en *Pseudomonas* agar (For Fluorescein) para confirmar la morfología característica de las colonias.

Figura 4

*Verificación del crecimiento bacteriano en el *Pseudomonas* agar*



Masificación del inóculo

- La cepa adaptada fue sembrada en 25 mL de MBSMG con 75 ppm de cianuro de sodio, incubándose 48 horas a 32 °C.
- Se añadió progresivamente 50, 100, 250, 300 y 500 mL de medio fresco con la misma concentración de cianuro, incubando 48 horas tras cada adición.
- Se obtuvo así un volumen final de 1225 mL de inóculo masificado, listo para el tratamiento de las unidades experimentales.

Figura 5

Masificación del inóculo



3.7.2. Tratamiento del agua sintética con el inóculo

Preparación de unidades experimentales

- Se preparó tres soluciones patrón con 300 mL de MBSMG y 500 ppm de cianuro de sodio.
- Se elaboraron 27 soluciones de 255 mL cada una, y pH ajustado a 9, 10 y 11 utilizando NaOH 1N.

- Las unidades fueron organizadas para su análisis en los días 1, 5 y 10, de acuerdo con cada tratamiento.
- El pH de cada solución fue verificado con un equipo multiparámetro.

Inoculación y condiciones de tratamiento

- El agua sintética fue aireada durante 30 minutos antes de aplicar el inóculo, para garantizar disponibilidad de oxígeno.
- A cada unidad de tratamiento se le incorporaron 45 mL de inóculo, correspondiente al 15 % del volumen total; se garantizó que todas tengan una concentración de 500 ppm de cianuro de sodio.
- Las botellas ámbar fueron cubiertas con algodón y gasa para mantener condiciones aeróbicas, y se incubaron a 32 °C, realizando monitoreos a los 1, 5 y 10 días de tratamiento, según el diseño experimental (tabla 5, figura 2).
- La unidad patrón fue incubada en las mismas condiciones, pero sin adición de inóculo.

Figura 6

Adición del inóculo a las unidades experimentales



Análisis del cianuro

- Se tomaron muestras de 100 mL en los días 1, 5 y 10 del tratamiento.
- Las muestras fueron enviadas al laboratorio SGS analizadas para determinar la concentración de cianuro.

Figura 7

Toma de muestras y entrega de muestras



3.7.3. Evaluación de la eficacia

Eficacia en la degradación

Para determinar la eficacia de degradación en los tratamientos se utilizó la siguiente formula:

$$E (\%) = \left[\frac{(C_i - C_f)}{C_i} \right] * 100$$

Donde:

E: Eficacia en %.

Ci: Concentración inicial.

Cf: Concentración final.

3.7.4. Análisis del crecimiento de *P. fluorescens*

Para analizar el crecimiento de *P. fluorescens*, se sembró el inóculo correspondiente al día 1, día 5 y al día 10 en *Pseudomonas*

agar (For Fluorescein). Las muestras fueron incubadas a 32 °C durante 24 horas, tras lo cual se procedió a identificar el crecimiento mediante la observación de colonias características.

Figura 8

Control del crecimiento bacteriano



3.7.5. Tratamiento y análisis de datos

Se utilizó un software para realizar la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA) con la finalidad de evaluar las diferencias entre tratamientos. Además de verificar cuál de los tratamientos es el que cumple o no con la hipótesis. Para el desarrollo estadístico se trabaja en Excel.

Tabla 8

Fórmulas para el cálculo del ANOVA de un factor

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Gdo. de libertad	Cuadrado medio	F calculado
Entre tratamientos	$SC_{entre} = n_i \sum (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2$	$K - 1 = (8)$	$CM_{entre} = \frac{SC_{entre}}{K - 1}$	$F_{cal} = \frac{CM_{entre}}{CM_{intro}}$
Dentro de tratamientos.	$SC_{intro} = \sum (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$N - K = (18)$	$CM_{intro} = \frac{SC_{intro}}{N - K}$	
Total	$SC_{total} = \sum (x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2$	$N - 1 = (26)$		

Fuente: Martínez, 2016.

K=Tratamientos, N=Número de resultados.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Condiciones en las que *P. fluorescens* Presenta Mayor Eficiencia en la Degradación del Cianuro de Sodio en Agua

La Tabla 9 presenta las concentraciones residuales de cianuro (ppm) a diferentes condiciones de pH y tiempos de incubación, mostrando los valores promedio y su desviación estándar. Los resultados reflejaron la variabilidad experimental registrada en tres repeticiones para cada combinación evaluada.

Tabla 9

*Condiciones en las que *P. fluorescens* presenta mayor eficiencia en la degradación del cianuro de sodio en agua*

Tiempo	Control (pH)	pH 9	pH 10	pH 11
Día 1	500.16 (9)	427.4	453.2	485.1
T0	500.23 (10)	423.3	456.2	483.2
	500.19 (11)	425.5	452.4	486.6
$\bar{x} \pm DS$		425.4 ± 2.051	453.93 ± 2.003	484.96 ± 1.703
Día 5	495.95 (9)	191.2	316.5	414.8
T0	496.49 (10)	195.2	318.2	411.3
	496.17 (11)	193.4	321	412.5
$\bar{x} \pm DS$		193.27 ± 2.003	318.56 ± 2.27	412.86 ± 1.77
Día 10	491.75 (9)	26.3	74.3	216.2
T0	492.75 (10)	27.1	77.1	215.4
	492.15 (11)	24.5	75.2	218.2
$\bar{x} \pm DS$		25.97 ± 1.33	75.53 ± 1.42	216.6 ± 1.44

Nota: DS es la desviación estándar de 3 repeticiones, T (tratamiento)

En la Tabla 9 se muestra la variación de la concentración de cianuro en función del pH y del tiempo de incubación, observándose que ambos factores actúan de manera interdependiente en la degradación del compuesto. La reducción más marcada de las concentraciones se presenta a pH 9 conforme transcurren los días, lo que evidencia que el tiempo de exposición potencia el efecto del pH sobre la actividad degradativa de *Pseudomonas fluorescens*.

Este comportamiento coincide con lo planteado por Kunz et al. (1994), quienes señalan que la eficiencia de las enzimas cianuro-oxidativas aumenta en condiciones químicas favorables y se consolida con el tiempo de adaptación bacteriana. De forma complementaria, Huertas et al. (2010) destacan que el mantenimiento del cianuro en su forma iónica bajo pH alcalino favorece su disponibilidad para la acción enzimática a lo largo del proceso de incubación.

Por tanto, la interacción entre el pH moderadamente alcalino y el tiempo de incubación determina el ritmo de disminución del cianuro, ya que ambos factores no actúan de manera aislada, sino de forma conjunta: el pH crea el entorno adecuado para la degradación, mientras que el tiempo permite que dicha actividad enzimática se exprese plenamente.

Tabla 10

Análisis de la varianza de dos factores (tiempo, pH y su interacción) alfa 0.05

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Tiempo	551915.387	2	275957.693	84582.3331	1.7468E-36	3.55455715
pH	111017.52	2	55508.76	17013.6964	3.228E-30	3.55455715
Interacción	25822.3533	4	6455.58833	1978.66824	1.5914E-23	2.92774417
Dentro del grupo	58.7266667	18	3.26259259			
Total	688813.987	26				

Coefficiente de variabilidad: 1 %.

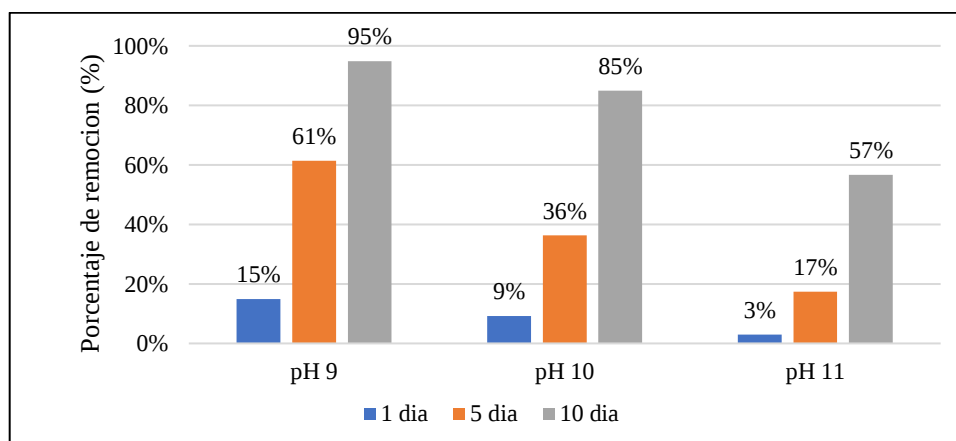
El análisis de varianza mostrado en la Tabla 10 reveló que la interacción entre el pH y el tiempo de incubación ejerció una influencia altamente significativa sobre la concentración de cianuro residual ($F = 1978,67$; $p < 0,001$; $\alpha = 0,05$). Este resultado indicó que el efecto del pH sobre la degradación del cianuro no fue constante en el tiempo, sino que varió dependiendo del periodo de incubación. En otras palabras, los cambios en la concentración de cianuro se explicaron mejor cuando ambos factores actuaron de manera conjunta.

El comportamiento observado sugirió que, en etapas iniciales, las diferencias entre los niveles de pH fueron menos marcadas, pero conforme avanzó el tiempo, estas diferencias se amplificaron, especialmente a pH 9, donde la reducción fue más pronunciada. Esto evidenció una sinergia entre el pH moderadamente alcalino y el tiempo de exposición, que optimizó la actividad degradativa de *P. fluorescens*. El bajo error dentro del grupo y el coeficiente de variabilidad del 1 % reforzaron la fiabilidad del análisis, confirmando que la variación observada provino principalmente del efecto combinado de los tratamientos y no del azar experimental.

4.2. Efecto del pH en la Degradación de Cianuro de Sodio por *Pseudomonas fluorescens*

Figura 9

Eficiencias de degradación de cianuro en función al pH en los periodos analizados



En la figura 9 se muestra la concentración de cianuro total y eficiencia de degradación en función al pH, los resultados experimentales demuestran que el pH es un factor que influye en la eficiencia de degradación de cianuro por *Pseudomonas fluorescens*. A pH 9 se obtuvo el mayor porcentaje de degradación (95 %), seguido de pH 10 (85 %) y finalmente pH 11 (57 %). Esta tendencia confirma que *P. fluorescens* presenta una mayor actividad degradativa en condiciones ligeramente alcalinas, mientras que su eficiencia disminuye a medida que el medio se vuelve más fuertemente alcalino. En el caso del control, la concentración de cianuro se mantuvo prácticamente constante durante los 10 días, lo que indica que el pH del medio, en ausencia de *P. fluorescens*, no tuvo influencia significativa en la degradación del cianuro.

Esta preferencia por pH moderadamente alcalino puede explicarse por la estabilidad estructural de las enzimas implicadas en la biodegradación, así como por la forma química del cianuro en el medio. Según Askeland & Morrison (1983), *P. fluorescens* degrada el cianuro de manera óptima en rangos de pH entre 6.6 y 8.9, rango en el cual también se favorece su metabolismo general. Aunque en este estudio se trabaja por encima de ese rango, los resultados indican que a pH 9 aún se conserva una alta eficiencia, posiblemente por la tolerancia y adaptación de la cepa empleada.

A medida que el pH se eleva, como en el caso de pH 10 y más claramente en pH 11, se observa una disminución de la eficiencia, lo que puede deberse a varios factores: en primer lugar, la inhibición parcial del crecimiento bacteriano en ambientes fuertemente alcalinos, como mencionan Chávez et al. (2022), quienes reportan dificultades en el crecimiento de bacterias a $\text{pH} \geq 10$. Sin embargo, en este

estudio se observó actividad degradativa incluso a pH 11, lo que indica una cierta tolerancia de *P. fluorescens*, aunque con menor rendimiento.

Por otro lado, Huertas et al. (2010) y Agudelo et al. (2010) destacan que un medio alcalino es indispensable para evitar la volatilización del cianuro como HCN, siendo el pH 10 un punto crítico. A este nivel, el cianuro permanece en forma iónica (CN^-), facilitando su captación y posterior degradación por la bacteria. Este efecto también fue respaldado por Acera et al. (2017), quien indicó que a pH entre 9.5 y 10.5 se estabiliza el CN^- , lo que favorece la acción microbiana. No obstante, a pH 11, aunque la volatilización es mínima, la actividad enzimática parece disminuir, posiblemente por desnaturalización o baja eficiencia catalítica en condiciones tan alcalinas.

Los resultados son superiores a los hallazgos de Villanueva (2008), quien trabajó con *P. fluorescens* a pH 9, logrando una eficiencia del 50 %, y con Zambrano Palacios (2018), quien reportó una remoción de 64.55 % a pH 11, aunque usando una mayor concentración de inóculo bacteriano. En este estudio, los porcentajes superaron esos valores, lo que sugiere que el pH 9 representa una condición óptima para maximizar la degradación de cianuro sin comprometer la viabilidad celular ni la estabilidad química del compuesto tratado.

Tabla 11*Análisis Tukey al 5 % de las concentraciones en función al pH*

group 1	group 2	mean	q-stat	lower	upper	p-value	Cohen d
Agua inicial	Control	3.795	0.0947	-158.029	165.620	0.99999	0.0315
Agua inicial	pH 9	285.122	7.1163	123.297	446.947	0.00010	2.3721
Agua inicial	pH 10	217.322	5.4241	55.4970	379.147	0.00377	1.8080
Agua inicial	pH 11	128.522	3.2077	-33.3029	290.347	0.17654	1.0692
Control	pH 9	281.326	7.0216	119.501	443.151	0.00012	2.3405
Control	pH 10	213.526	5.3294	51.7014	375.351	0.00456	1.7764
Control	pH 11	124.726	3.1130	-37.0985	286.551	0.20016	1.0376
pH 9	pH 10	67.8	1.6922	-94.0252	229.625	0.75325	0.5640
pH 9	pH 11	156.6	3.9085	-5.22520	318.425	0.06201	1.3028
pH 10	pH 11	88.8	2.2163	-73.0252	250.625	0.52644	0.7387

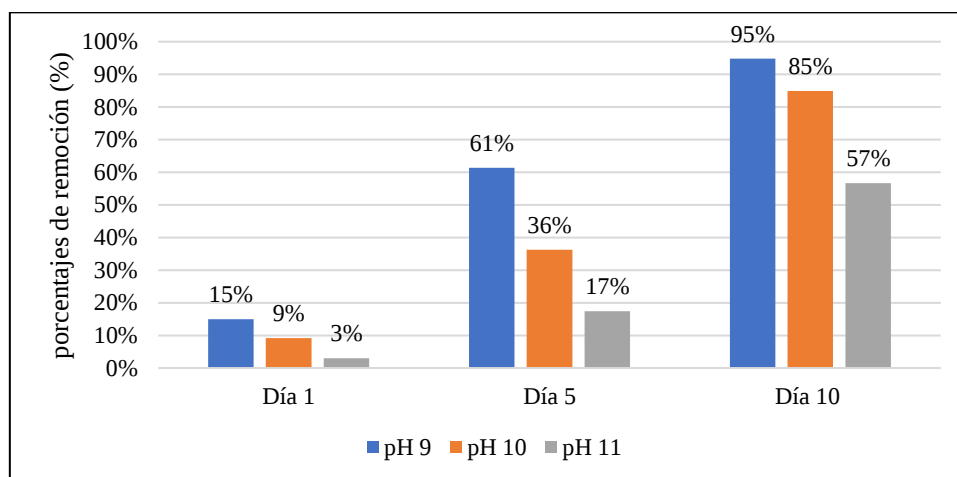
El test de comparaciones múltiples de Tukey al 5 % (Tabla 11) muestra que, en comparación con el agua inicial, los tratamientos a pH 9 ($q = 7.1163$, $p = 0.00010$) y pH 10 ($q = 5.4241$, $p = 0.00377$) presentan diferencias estadísticamente significativas, ya que los valores de Q superan el valor crítico y los intervalos de confianza no incluyen el cero. Estos resultados, junto con tamaños del efecto elevados (Cohen's $d > 1.8$), evidencian una alta eficacia en la degradación de cianuro. Por otro lado, el tratamiento a pH 11 ($q = 3.2077$, $p = 0.1765$) no mostró diferencia significativa frente al agua inicial, dado que su intervalo de confianza incluye valores negativos.

En síntesis, el tratamiento más eficiente fue el de pH 9, con la mayor diferencia media de 285.1 ppm, el mayor valor de “ q ” y el tamaño del efecto más alto (Cohen's $d = 2.37$), consolidándose como el tratamiento más eficaz en la degradación de cianuro en comparación con el agua inicial.

4.3. Efecto del Tiempo en la Degradación de Cianuro de Sodio por *Pseudomonas fluorescens*

Figura 10

Eficiencias de degradación de cianuro en función al tiempo de incubación



La Figura 10 presenta la concentración y la degradación de cianuro total mediante *Pseudomonas fluorescens* en función del tiempo. Los resultados evidencian que el tiempo de incubación influye significativamente en la eficiencia del proceso de biodegradación, observándose una mejora progresiva conforme avanzan los días. Esta tendencia indica que la actividad metabólica de la bacteria se incrementa a medida que se supera la fase de adaptación, lo que favorece la degradación del contaminante.

En particular, a pH 9, se registró una degradación del 15 % al primer día, que se incrementó a 61 % al día 5 y alcanzó una eficiencia del 95 % al día 10. Estos resultados sugieren que a este nivel de pH la actividad enzimática del cianuro oxigenasa (CNO) es óptima, tal como fue reportado por Kunz et al. (1994), quienes describieron que esta enzima cataliza la oxidación del cianuro a compuestos no tóxicos como dióxido de carbono (CO₂) y amoníaco (NH₃). La progresiva reducción

del cianuro a lo largo del tiempo, especialmente a partir del tercer día, confirma la eficacia del metabolismo de *P. fluorescens* bajo estas condiciones.

Este comportamiento concuerda con lo reportado por Chávez et al. (2022), quienes alcanzaron una eficiencia del 92,3 % en apenas tres días, resaltando la alta capacidad de biodegradación en lapsos cortos. Asimismo, los resultados también se alinean con los hallazgos de Correa y Mocha (2021), quienes obtuvieron una eficiencia mayor al 99 % después de 15 días, aunque con una curva de remoción más extendida, lo que indica que la duración del proceso puede ajustarse según las condiciones específicas del medio.

En condiciones de pH 10, si bien se alcanzó una eficiencia del 85 % al décimo día, esta fue inferior a la obtenida a pH 9. Esta disminución podría atribuirse a una ligera inhibición de la actividad bacteriana debido al incremento de la alcalinidad del medio. Dicha inhibición se evidenció con mayor claridad a pH 11, donde la degradación fue solo del 57 %. Este hallazgo coincide con lo señalado por Castillo y Vega (2018), quienes demostraron que niveles de pH superiores a 10 reducen significativamente la actividad de *P. fluorescens*, posiblemente por la desestabilización de su estructura enzimática o la afectación de su entorno osmótico.

El análisis global de los datos sugiere que, a partir del tercer día de incubación, bajo condiciones de pH 9, la degradación del cianuro se acelera considerablemente. Por tanto, se concluye que un tiempo de incubación de 10 días a pH 9 representa una condición óptima para maximizar la eficiencia del proceso de biodegradación del cianuro de sodio por *P. fluorescens*, evitando prolongaciones innecesarias del tratamiento biológico.

Tabla 12

Análisis Tukey al 5 % de las concentraciones en función al tiempo de incubación

group 1	group 2	mean	q-stat	lower	upper	p-value	Cohen d
Agua inicial	control	3.8622	0.1979	-74.929	82.6541	0.99990	0.06599
Agua inicial	Día 1	45.2333	2.3187	-33.558	124.025	0.481829	0.77291
Agua inicial	Día 5	191.766	9.8302	112.974	270.558	2.1437E-07	3.27675
Agua inicial	Día 10	393.966	20.195	315.174	472.758	7.7716E-15	6.73178
control	Día 1	41.3711	2.1207	-37.4207	120.163	0.56875884	0.70691
control	Día 5	187.904	9.6322	109.112	266.696	3.356E-07	3.21076
control	Día 10	390.104	19.997	311.312	468.896	7.9936E-15	6.66579
Día 1	Día 5	146.533	7.5115	67.7414	225.325	4.1408E-05	2.50384
Día 1	Día 10	348.733	17.876	269.941	427.525	2.2427E-14	5.95887
Día 5	Día 10	202.2	10.365	123.408	280.991	6.4234E-08	3.45503

El test de comparaciones múltiples de Tukey al 5 % (Tabla 12) muestra que, en comparación con el agua inicial, los tratamientos a los días 5 ($q = 9.8302$, $p = 2.14E-07$) y 10 ($q = 20.195$, $p = 7.77E-15$) presentan diferencias estadísticamente significativas, ya que los valores de q superan el valor crítico y los intervalos de confianza no incluyen el cero. Estos resultados, junto con tamaños del efecto elevados (Cohen's $d > 3.2$), evidencian una alta eficacia en la degradación de cianuro conforme avanza el tiempo de incubación. Por otro lado, los tratamientos con control ($q = 0.1979$, $p = 0.9999$) y día 1 ($q = 2.3187$, $p = 0.4818$) no mostraron diferencias significativas frente al agua inicial, dado que sus intervalos de confianza incluyen valores negativos. En síntesis, el tiempo de incubación más eficiente fue el día 10, con la mayor diferencia media de 393.966 ppm, el mayor valor de q y el tamaño del efecto más alto (Cohen's $d = 6.73$), consolidándose como el tiempo óptimo para la degradación de cianuro mediante *Pseudomonas fluorescens* en comparación con el agua inicial.

4.4. Crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* Después del Tratamiento

En este subcapítulo del apartado de resultados, se presenta una evaluación visual del crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* bajo condiciones controladas de pH (9, 10 y 11) y distintos tiempos de incubación (1, 5 y 10 días), con el objetivo de caracterizar su comportamiento morfológico frente a un ambiente alcalino. Para ello, se empleó una descripción macroscópica de las colonias desarrolladas en placas de Petri, considerando aspectos como densidad, distribución, tamaño de colonias y formación de estructuras tipo biofilm.

Tabla 13

Crecimiento de P. fluorescens en los niveles de tratamiento

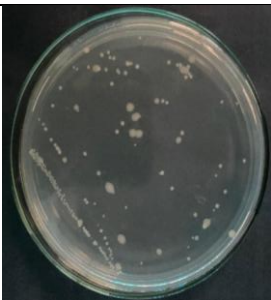
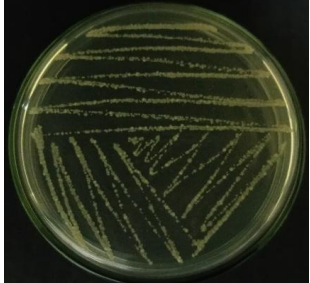
Tiempo (TI)	pH 9	pH 10	pH 11
Día 1			
Día 5			
Día 10			

Tabla 14*Número de colonias en las unidades experimentales*

Tiempo	pH 9	pH 10	pH 11
T1 (día 1)	302	209	176.3333
T2 (día 5)	1300	796	501.3333
T3 (día 10)	913.6667	672	376.3333

En la Tabla 13 se observa que los resultados obtenidos muestran un patrón claro de crecimiento diferencial de *Pseudomonas fluorescens* en función del pH y del tiempo de exposición. En el día 1, se observó un crecimiento incipiente y disperso en los tres tratamientos de pH (9, 10 y 11), con menor densidad y distribución de colonias en pH 10 y pH 11, lo que sugiere un proceso de adaptación temprana a condiciones alcalinas.

Este comportamiento se confirma cuantitativamente en la Tabla 14, donde se registraron 302 colonias en pH 9, 209 en pH 10 y 176 en pH 11, evidenciando un crecimiento reducido en los valores de pH más altos.

Para el día 5, el crecimiento bacteriano se torna más evidente en todos los tratamientos, presentando una mayor cobertura en las placas, especialmente en el medio con pH 9, donde se observa un crecimiento más denso y estructurado. Estos resultados se reflejan también en el número de colonias registradas, con 1300 en pH 9, 796 en pH 10 y 501 en pH 11, lo que demuestra un incremento considerable en la proliferación bacteriana y una mejor adaptación en condiciones alcalinas moderadas.

Al día 10, aunque la presencia bacteriana persiste en todos los tratamientos, se advierte una ligera reducción de la densidad de colonias en pH 11, lo que sugiere

un efecto acumulativo del estrés alcalino prolongado. En coherencia con esto, la Tabla 16 muestra 913 colonias en pH 9, 672 en pH 10 y 376 en pH 11, indicando una tendencia decreciente del crecimiento conforme el medio se vuelve más alcalino.

Estos hallazgos se relacionan directamente con lo reportado por Mozaheb et al. (2023), quienes concluyen que *Pseudomonas* retrasa significativamente su crecimiento en ambientes muy alcalinos o ácidos, aumentando su tiempo de duplicación hasta en un 11 %. Este comportamiento puede explicar la disminución relativa del crecimiento observado en pH 11, particularmente hacia el día 10. Asimismo, Butrón Pinazo (2022) menciona que la actividad biodegradativa de *Pseudomonas aeruginosa* decrece en condiciones de pH extremos, alcanzando su punto óptimo de biodegradación en pH neutro, lo que podría extrapolarse a *P. fluorescens* considerando su fisiología similar, y apoyar la observación de mayor densidad de crecimiento en pH 9, el menos extremo de los valores evaluados.

Por otro lado, la progresión temporal observada en el crecimiento de colonias escasas a biofilms bien definidos concuerda con los estudios de Rossi et al. (2016), quienes evidenciaron una formación de biofilm más robusta en función del tiempo, especialmente tras 48 horas de incubación, aspecto que se refleja en el desarrollo progresivo de las estructuras bacterianas en las placas de cultivo de este estudio. Este efecto también es reforzado por AlKafaween y Abu (2022), quienes determinaron que *P. aeruginosa* forma biofilms más complejos a partir de los tres días de incubación, sugiriendo que la duración del cultivo es crítica para permitir la maduración estructural del crecimiento bacteriano, lo que podría explicar la homogeneidad y solidez visual del biofilm en los días 5 y 10 en el estudio.

En cuanto a la respuesta específica al pH, Hostacká et al. (2010) señalaron que *Pseudomonas aeruginosa* produce mayor cantidad de biofilm en pH alcalinos moderados, alcanzando un máximo en torno a pH 8.5, lo cual respalda la mayor adaptabilidad de *P. fluorescens* al pH 9 en este experimento. A su vez, el estudio de Pérez et al. (2015) menciona que la producción del pigmento fluorescente por *P. fluorescens* puede disminuir en cultivos recientes o tras múltiples subcultivos, lo que explicaría las variaciones de intensidad visual observadas en las placas a lo largo del tiempo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La interacción entre el pH y el tiempo de incubación influye significativamente en la degradación del cianuro por *Pseudomonas fluorescens*, evidenciando que condiciones moderadamente alcalinas y periodos prolongados favorecen su actividad metabólica y la disminución progresiva de la concentración del contaminante.
- El pH 9 es el más óptimo para la degradación del cianuro de sodio por *Pseudomonas fluorescens*, ya que registra la mayor eficiencia de remoción (95 %) y diferencias estadísticamente significativas respecto al agua inicial ($q = 7,1163$; $p = 0,00010$).
- El tiempo de incubación de 10 días es el más adecuado para la degradación del cianuro de sodio por *Pseudomonas fluorescens*, alcanzando una eficiencia máxima de remoción del 95 %, con diferencias estadísticamente significativas respecto al agua inicial ($q = 20,195$; $p = 7,77E-15$).

- El crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* muestra una interacción significativa entre el pH y el tiempo de exposición. La mayor proliferación se observa a pH 9 y 10, alcanzando máximos de 1300 y 796 colonias, respectivamente, al día 5, con mantenimiento de la densidad hasta el día 10. En contraste, el pH 11 presenta el menor número de colonias (376) y un crecimiento reducido, evidenciando que condiciones excesivamente alcalinas afectan negativamente la viabilidad celular.

5.2. Recomendaciones

- Trabajar con diferentes valores de pH para evaluar su influencia en la degradación de cianuro por *Pseudomonas fluorescens*.
- Probar con concentraciones mayores de *Pseudomonas fluorescens* para optimizar la eficiencia en la remoción de cianuro.
- Aplicar los resultados de laboratorio a condiciones reales de tratamiento de aguas residuales.
- Evaluar el proceso y resultados en condiciones aerobias y anaeróbicas, considerando el análisis del oxígeno disuelto.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS

- Acera, F., Carmona, M. I., Castillo, F., Quesada, A., & Blasco, R. (2017). A Cyanide-Induced 3-Cyanoalanine Nitrilase in the Cyanide-Assimilating Bacterium *Pseudomonas pseudoalcaligenes* Strain CECT 5344. *Appl Environ Microbiol.* <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5394316/>
- Agudelo, R. M., Betancur, J., & Jaramillo, C. L. (2010). Biotratamiento de residuos cianurados y su relación con la salud pública. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 28(1), 7-20. <https://www.redalyc.org/pdf/120/12016345001.pdf>
- Akcil, A. (2003). Destruction of cyanide in gold mill effluents: biological versus chemical treatments. *Biotechnology Advances*, 21(6), 501-511. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975003000995>
- AlKafaween, M. A., & Abu, M. H. (2022). Evaluation of the effect of different growth media and incubation time on the suitability of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pyogenes*. *Applied Environmental Biotechnology*, 6(2), 19-26.

https://www.researchgate.net/publication/357781351_Evaluation_of_the_effect_of_different_growth_media_and_incubation_time_on_the_suitability_of_biofilm_formation_by_Pseudomonas_aeruginosa_and_Streptococcus_pyogenes

Aminlari, M., & Vaseghi, T. (2006). Biochemical properties and biological functions of the enzyme rhodanese in domestic animals. *Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz*, 7(2), 1-13.

https://ijvr.shirazu.ac.ir/article_2657_bf52d2378c59c96788861c2d752e25d3.pdf

Angles Betancurt, J. C. (2023). *Evaluación de la cianuración con adición de nitrato de plomo en mineral de oro refractario para mejorar la recuperación en la cooperativa minera Cecomirl L.T.D.A.* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano].

https://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14082/20895/Angles_Betancurt_Juan_Carlos.pdf;jsessionid=D7005E3C3CDA2537163EDE144F40D45F?sequence=1

Arias, V. A., Lovera, D. F., Molina, I., Molina, I., Sanchez, T., & Sanchez, T. (2024).

Degradación de cianuro en efluente de lixiviación de minerales auríferos, mediante *Pseudomonas pseudoalcaligenes* nativas. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica Minera Metalúrgica y Geográfica*, 27(54).

https://www.researchgate.net/publication/389005644_Degradacion_de_cianuro_en_efluente_de_lixivacion_de_minerales_auriferos_mediante_Pseudomonas_pseudoalcaligenes_nativas

Ascuña, V. B., Zela, J. G., Bolaños, H. G., Mamani, P. L., Huamani, R. P., & Huanca, P. K. (2018). Tratamiento de soluciones de cianuro y precipitación de metales

cianicidas por reacción con peróxido de hidrógeno y soda caústica, el método Perso; obtención de lodos económicamente útiles. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 161-167.

<https://www.redalyc.org/journal/4263/426358213005/html/>

Askeland, R. A., & Morrison, S. M. (1983). Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol.*, 45(6), 1802–1807.

Barber, T. R., Lutes, C. C., Doorn, M. R., Fuchsman, P. C., & Timmenga, H. J. (2003). Riesgos ecológicos acuáticos debido a las liberaciones de cianuro por quema de biomasa. *Chemosphere*, 50(3), 343-348.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653502005325>

Broderius, S. J. (1973). *Determinación de ácido cianhídrico molecular en agua y estudios de la química y toxicidad para los peces de complejos metal-cianuro*. https://ir.library.oregonstate.edu/concern/graduate_thesis_or_dissertations/rv042z18m

Butron Pinazo, S. B. (2022). Capacidad de biodegradación de *Pseudomonas aeruginosa* frente al polietileno de baja densidad. *Revista de investigaciones*, 9(3), 134-147. https://www.researchgate.net/publication/364173723_CAPACIDAD_DE_BIODEGRADACION_DE_Pseudomonas_aeruginosa_FRENTE_AL_POLIETILENO_DE_BAJA_DENSIDAD

Camargo. (2015). *Ión cianuro*. Prezi: <https://prezi.com/kyl5tvbtrzcw/ion-cianuro/>

Castillo Rodríguez, F. (2005). *Biotecnología ambiental*. Tébar.

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=19ffPAm3E3kC&oi=fnd&pg=PA13&dq=Biotecnolog%C3%ADa+ambiental&ots=BSrijl0POK&sig=95liAgjPE9>

pAomI-

xift4SMuua4#v=onepage&q=Biotechnolog%C3%ADa%20ambiental&f=false

- Castillo, Y., & Vega, R. L. (2018). *Determinación de parámetros óptimas en la biorremediación de efluente cianurado de minerales auríferos, utilizando Pseudomonas alcalófilas*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Callao].
https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/4003/CASTILLO%20Y%20VEGA_PREGRADO_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Chávez, G. S., Villanueva, C. E., Zevallos, R. Y., & León, R. (2022). Eficiencia biodegradativa de cianuro por *Pseudomonas* sp. *REBIOL*, 42(2), 85-90.
<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/4917/5259>
- Chen, J., & Kunz, D. A. (1997). Cyanide utilization in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764 involves a putative siderophore. *FEMS Microbiology Letters*, 156(1), 61–67.
- Coaquira, J. A. (2014). *Evaluación de parámetros físico-químicos para una eficiente biodegradación de cianuro en relaves cianurados por Pseudomonas fluorescens en un biorreactor aireado*.
- Correa, B. R., & Mocha, J. M. (2021). *Tratamiento de aguas residuales mediante biodiscos en la planta de beneficio Reina del Cisne, el Pache- Portovelo-El Oro*. [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana].
<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/20119>
- Deloya Martínez, A. (2012). Tratamiento de desechos del cianuro por biorremediación. *Tecnología en Marcha*, 25(2), 61-72.

Díaz Silva, E. R. (2023). *Influencia de la unidad minera artesanal San Vicente en la calidad del suelo por cianuro libre, centro poblado de Algamarca - Cajabamba.*

[Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Cajamarca].

<https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/5592/Tesis%20-%20Erick%20Reynado%20D%c3%adaz%20Silva.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Díaz, C. (2011). *Capítulo 5 Caracterización Microbiológica.*

https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2685/5_-_Caracterizaci%C3%B3n_microbiol%C3%B3gica.pdf?sequence=10&isAllowed=y

Dimian, A. C., & Bildea, C. S. (2008). Acrylonitrile by Propene Ammoxidation.

Chemical Process Design, 313-338.

https://www.researchgate.net/publication/316402366_Acrylonitrile_by_Propene_Ammoxidation

Disney, N., Smyth, M., Wharry, S., Moody, T. S., & Baumann, M. (2024). A cyanide-free synthesis of nitriles exploiting flow chemistry. *React. Chem. Eng.*, 9, 349-354. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2024/re/d3re00458a>

Dursun, A. Y., Çalık, U., & Aksu, Z. (1999). Degradación de iones complejos de cianuro ferroso (II) por *Pseudomonas fluorescens*. *Bioquímica de procesos*, 34(9), 901-908. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003295929900014X>

Fernandez, R. (2004). *Cyanide Assimilation in Pseudomonas Fluorescens:*

Characterization of Cyanide Oxygenase as a Pterin-Dependent Multicomponent Enzyme Complex. <https://digital.library.unt.edu/ark%3A/67531/metadc5548/>

Fernández, R. F., Dolgih, E., & Kunz, D. A. (2004). Asimilación enzimática de cianuro mediante escisión oxigenolítica dependiente de pterina en amoníaco y formiato en *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. *Microbiología Aplicada y Ambiental*, 70(1), 121-128.

<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.70.1.121-128.2004>

Freitas, J., & Horta, D. (2023). Impacts of cyanide in gold mining and cyanide removal methodologies in liquid waste from gold processing. *Revista de Metalurgia*, 59(3).

<https://revistademetalurgia.revistas.csic.es/index.php/revistademetalurgia/article/download/1569/2078?inline=1>

Garcés, A. M., Agudelo, L. M., Macías, K. I., & Salinas, N. A. (2006). Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro. *Revista Lasallista de Investigación*, 3(1), 7-12. <https://www.redalyc.org/pdf/695/69530103.pdf>

Gaviria, A., & Meza, L. A. (2006). Análisis de alternativas para la degradación del cianuro en efluentes líquidos y sólidos del municipio de Segovio, Antioquia y en la planta de beneficio de la empresa mineros Nacionales, County of Marmato, Caldas. *Dyna rev.fac.nac.minas*, 73(149).

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=s0012-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=s0012-73532006000200003&script=sci_arttext)

[73532006000200003&script=sci_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=s0012-73532006000200003&script=sci_arttext)

Guerrero Rojas. (2013). *Cianuro: Toxicidad y Destrucción Biológica*.

https://www.researchgate.net/publication/258499252_Cianuro_Toxicidad_y_Destruccion_Biologica

- Hostacká, A., Ciznár, I., & Stefkovicová, M. (2010). Temperature and pH affect the production of bacterial biofilm. *Folia Microbiol (Praha)*, 55(1), 75-78.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20336508/>
- Huertas, M. J., Sáez, L. P., Roldán, M. D., Luque, V. M., Martínez, M., Castillo, F., . . . García, I. (2010). Alkaline cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 in a batch reactor. Influence of pH. *J Hazard Mater*, 179(1-3), 72-78. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20346583/>
- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo [INSST]. (2018). *Cianuro de sodio*.
https://chemicalsafety.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=es&p_card_id=1118&p_version=2
- Kim, D. W., Song, C. E., & Chi, D. Y. (2003). Significantly Enhanced Reactivities of the Nucleophilic Substitution Reactions in Ionic Liquid. *The Journal of Organic Chemistry*, 68, 4281-4285. <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/kolbe-nitrile-synthesis.shtm>
- Kunz, D. A., Nagappan, O., Silva, J., & Delong, G. T. (1992). Utilization of cyanide as nitrogenous substrate by *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764: evidence for multiple pathways of metabolic conversion. *Appl Environ Microbiol*, 58, 2022–2029. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC195721/>
- Kunz, D. A., Wang, C., & Chen, J. (1994). Alternative routes of enzymic cyanide metabolism in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. *Microbiology*, 140(7).
<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/13500872-140-7-1705>

- Lachowicz, J. I., Alexander, J., & Aaseth, J. O. (2024). Cyanide and Cyanogenic Compounds—Toxicity, Molecular Targets, and Therapeutic Agents. *Biomolecules*, 14(11). <https://www.mdpi.com/2218-273X/14/11/1420>
- Leung, A. M., & Lu, J. L. (2016). Environmental Health and Safety Hazards of Indigenous Small-Scale Gold Mining Using Cyanidation in the Philippines. *Environ Health Insights*, 8(10), 125–131. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4978203/>
- Logsdon, M. J., Hagelstein, K., & Mudder, T. I. (2001). *El manejo de cianuro en la extracción de oro*. <https://cdi.mecon.gob.ar/bases/docelec/az2206.pdf>
- Logue, B. A., Hinkens, D. M., Baskin, S. I., & Rockwood, G. A. (2010). The Analysis of Cyanide and its Breakdown Products in Biological Samples. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 40(2), 122-147. https://openprairie.sdstate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1047&context=chem_pubs
- Lovera, D., Quiñones, J., Aramburú, V., Gagliuffi, P., Puente, L., Concepción, L., & Flores, R. (2002). Procesos de tostación- Lixiviación de minerales auríferos con metales cianicidas. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalurgica y Geográfica*, 5(10), 44-51. https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/geologia/v05_n10/proce_to sta.htm
- Luque, V. M., Blasco, R., Huertas, M. J., Martínez, M., Moreno, C., Castillo, F., & Roldán, M. D. (2005). Biodegradación de cianuro alcalino por *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. *Biochem. Soc. Trans.*, 33(1), 168–169.

<https://portlandpress.com/biochemsoctrans/article-abstract/33/1/168/65876/Alkaline-cyanide-biodegradation-by-Pseudomonas>

Luque, V. M., Merchán, F., Blasco, R., Isabel, I., Martínez, M., Moreno, C., & Castillo, F. (2011). Cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 involves a malate:quinone oxidoreductase and an associated cyanide-insensitive electron transfer chain. *Microbiology*, 157(3).

https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.045286-0?utm_source=c.com

Matsumura, M., & Kojima, T. (2003). Elución y descomposición de cianuro en suelo contaminado con diversos cianocompuestos. *Journal of Hazardous Materials*, 97(1-3), 99-110.

Ministerio de Energía y Minas (MINEM). (1996). *Guía Ambiental para el Manejo de Cianuro, Subsector Minería, Volumen XIII, Referencia de aprobación No. 025-96- EM/DGAA*. <http://intranet2.minem.gob.pe/web/archivos/dgaam/publicacion>

Ministerio del Ambiente [MINAM]. (2010). *Decreto Supremo N° 010-2010 Aprueban Límites Máximos Permisibles para la descarga de efluentes líquidos de actividades minero-metalúrgicas*.

Mirizadeh, S., Yaghmae, S., & Ghobad, Z. (2014). Biodegradation of cyanide by a new isolated strain under alkaline conditions and optimization by response surface methodology (RSM). *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 1-9. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1186/2052-336X-12-85.pdf?pdf=button>

Morillo Mendoza, J. J. (2014). *Degradación de cianuro de sodio por Pseudomonas sp. a dos temperaturas y tres pH*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de

- Trujillo]. <https://dspace.unitru.edu.pe/items/4304391a-1e56-4eeb-9a94-468e54d08ae6>
- Mozaheb, N., Rasouli, P., Kaur, M., Van, P., Larrouy, G., & Mingeot, M. (2023). Un entorno ligeramente ácido altera la virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* y provoca la remodelación de la superficie bacteriana. *Espectro microbiológico*, 11(4). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10433952/>
- Naranjo, F. J., & Santa, M. A. (2006). *Evaluación de la inmovilización de Pseudomonas fluorescens para la biodegradación de cianuro en solución acuosa*. [Trabajo de grado, Universidad EAFIT]. <https://core.ac.uk/download/47237255.pdf>
- Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería [OSINERGMIN]. (2017). *La industria de la minería en el Perú: 20 años de contribución al crecimiento y desarrollo económico del país*. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/607053/Osinergmin-Industria-Mineria-Peru-20anios.pdf>
- Pabón, S. E., Benítez, R., Sarria, R. A., & Gallo, J. A. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9-18. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-83672020000100009
- Palacios, S. (2002). Lixiviación de minas auríferas con sales oxidantes en medio ácido mediante el proceso severo. *Rev. IIFGMMYCG*, 5(9). https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/geologia/v05_n9/lixi_menas.htm

- Pérez, S., Coto, O., Echemendía, M., & Ávila, G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? *Rev. Protección Veg.*, 30(3), 225-234.
<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30n3/rpv08315.pdf>
- Pérez, S., Coto, O., Echemendía, M., & Ávila, G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? *Rev. Protección Veg.*, 30(1), 77-86.
https://www.academia.edu/16851312/Pseudomonas_fluorescens_control_biol%C3%B3gico_o_pat%C3%B3geno
- Raimi, A., Begum, S. A., & Egiebor, N. O. (2013). Bioremediation of Complex Cyanide Contaminated Wastewater using *Pseudomonas Fluorescens* Pf-5. *International Journal of Engineering Research & Technology (IJERT)*, 2(9), 1485- 1493.
<https://www.ijert.org/research/bioremediation-of-complex-cyanide-contaminated-wastewater-using-pseudomonas-fluorescens-pf-5-IJERTV2IS90449.pdf>
- Ramírez, A. V. (2010). Toxicidad del cianuro. Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre. *Anales de la Facultad de Medicina*, 71(1), 54-61.
<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v71n1/a11v71n1.pdf>
- Raybuck, S. (1992). Microbios y enzimas microbianas para la degradación del cianuro. *Biodegradación*, 3, 3-18.
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00189632#citeas>
- Redondo, P., Barrientos, C., Largo, A., & Rayón, V. M. (2010). Neutral cyanide complexes of iron: Structure and stability. *Chemical Physics Letters*, 500(1-3), 9-13. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009261410012959>

- Restrepo, O. J., & Montoya, C. A. (2006). Degradación microbiana de cianuro procedente de plantas de beneficio de oro mediante una cepa nativa de *P. fluorescens*. *Dyna*(149), 45-51.
- Rivera, J. M., & Burris, R. H. (1975). Interacciones entre sustratos e inhibidores de la nitrogenasa. *Journal of Bacteriology*, 123(2), 537-545.
<https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/jb.123.2.537-545.1975>
- Rossi, C., Chaves, C., Serio, A., Goffredo, E., Terzo, B., & Paparella, A. (2016). Influence of Incubation Conditions on Biofilm Formation by *Pseudomonas Fluorescens* Isolated from Dairy Products and Dairy Manufacturing Plants. *Ital J Food Saf.*, 5(3). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5090116/>
- Schaffer, D. H., Poole, N. D., & Traylor, J. (2025). Cyanide Toxicity.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507796/>
- Scott, R. A., Schwartz, J. R., & Cramer, S. P. (1985). Effect of cyanide binding on the copper sites of cytochrome c oxidase: an X-ray absorption spectroscopic study. *J Inorg Biochem*, 23(3-4), 199-205. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2991458/>
- Suh, Y. J., Park, J. M., & Yang, J. W. (1994). Biodegradación de compuestos de cianuro por *Pseudomonas fluorescens* inmovilizada sobre zeolita. *Enzyme and Microbial Technology*, 16(6), 529-533.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0141022994900256>
- Vilo, C. A., Benedik, M. J., & Dong, Q. (2012). Draft Genome Sequence of the Cyanide-Utilizing Bacterium *Pseudomonas fluorescens* Strain NCIMB 11764. *J Bacteriol.*, 23, 6618–6619. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3497540/>

- Villanueva, C. (2008). Efecto del pH, Tiempo y Concentración en la eficiencia de Biodegradación de cianuro por *Pseudomonas fluorescens* cepa CPCT-UNT en un Biorreactor de columna de burbujeo. *Revista Ciencia y Tecnología, UNT*.
- Wang, C., Kunz, D. A., & Venables, B. J. (1996). Incorporation of Molecular Oxygen and Water during Enzymatic Oxidation of Cyanide by *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(6).
<https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aem.62.6.2195-2197.1996>
- Zambrano Palacios, A. (2018). *Biodegradación del cianuro en aguas residuales mineras, estudio de caso planta Polecua, de la mina Barraco Colorado del cantón Camilo Ponce Enríquez*. [Trabajo de grado, Universidad Católica de Cuenca. Carrera de Ingeniería Ambiental].
<https://dspace.ucacue.edu.ec/items/cefeafa5-f04a-4996-85a9-fe70392e9704>

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1 Matriz de consistencia

Variable	Formulación del problema	Definición operacional	Objetivos	Hipótesis	Dimensión	Diseño metodológico
Variable independiente	Problemas específicos	La característica fisicoquímica principal para el desarrollo de <i>P. fluorescens</i> es el pH; esta condición variará en las muestras con valores de 9, 10 y 11. El tiempo también es una condición que influye en la degradación de cianuro por <i>P. fluorescens</i> , por lo que la evaluación en el día 1, 5 y 10 determinará la evolución biodegradativa de las bacterias.	Objetivos específicos	Hipótesis general		Investigación experimental, cuantitativa y aplicada.
	¿Cuál es la escala adecuada de pH donde <i>P. fluorescens</i> tiene mayor eficacia sobre la degradación de cianuro de sodio?		Determinar el pH adecuado donde <i>P. fluorescens</i> tiene mayor eficacia en la degradación de cianuro de sodio.	Las condiciones de <i>P. fluorescens</i> para una eficiente degradación de cianuro de sodio en agua es a $\text{pH} \leq 9$, y a un tiempo de tratamiento $\geq$ a 10 días.	pH (9, 10, 11)	Diseño experimental central.
Condiciones de <i>P. fluorescens</i>	¿Cuál es el tiempo adecuado de degradación de cianuro de sodio por <i>P. fluorescens</i> ?		Determinar el tiempo adecuado de degradación de cianuro de sodio por <i>P. fluorescens</i> .		Tiempo en días (1, 5, 10)	Un patrón, 9 tratamientos y 3 repeticiones (30 Und.).
	¿Qué tipo de crecimiento tiene <i>P. fluorescens</i> después de los tratamientos?		Analizar el crecimiento de <i>P. fluorescens</i> después de los tratamientos.		Crecimiento de <i>P. fluorescens</i>	Material experimental
Variable dependiente	Problema general	El cianuro de sodio será utilizado para la elaboración de agua sintética, la cual tendrá una concentración conocida, se inoculará <i>P. fluorescens</i> , y se le dará las características fisicoquímicas que condicionará la biodegradación.	Objetivo general			Equipos
	¿Cuáles son las condiciones de <i>P. fluorescens</i> para una eficiente degradación de cianuro de sodio en agua sintética?		Determinar las condiciones en las que <i>P. fluorescens</i> presenta mayor eficiencia en la degradación de cianuro de sodio en agua.		Concentración de cianuro Total	• Cianuro de Sodio. • Cepas de <i>P. fluorescens</i> ATCC 49838 • Balanza electrónica. • Incubadora. • Microscopio. • Multiparámetro. • Autoclave. • Otros materiales y Reactivos. • Hidróxido de Sodio. • Agua reactiva. • Caldo peptonado. • MBSMG. • Matraces Erlenmeyer. • Bomba aireadora. • Cajas Petri. • Beakers. • Probetas. • EPP.

Anexo 2 Cadenas de custodia 1

DATOS DEL CLIENTE		FACTURAR A:		Análisis requeridos / Preservantes												TIPOS DE AGUA*											
Cliente : <u>Hellen Bianella Lora Marín</u>	Razón Social:	RUC : <u>74396929</u>	Dirección : <u>Jr. Ayacucho N° 1482</u>													AGUA NATURAL ASUB : Agua subterránea AMA : Agua de manantial AT : Agua termal AS : Agua superficial ADR : Agua de río ADL : Agua de lago / laguna ADA : Agua de deposición atmosférica AGUA RESIDUAL ARD : Agua residual doméstica ARI : Agua residual industrial ARM : Agua residual municipal AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO AB : Agua de bebida											
Contacto : <u>977644665</u>	RUC : <u>74396929</u>															AGUA SALINA AM : Agua de mar ASL : Agua salobre SAL : Salmuera AIRS : Agua de inyección y reinyección (salina)											
Teléfono :	Dirección : <u>Jr. Ayacucho N° 1482</u>															AGUA DE PROCESO ACE : Agua de circulación o enfriamiento AAC : Agua de alimentación para calderas AC : Agua de calderas AL : Agua de lavación APR : Agua purificada AIRP : Agua de inyección y reinyección (de proceso)											
E-mail : <u>hellenlora45@gmail.com</u>	Contacto :																										
Proyecto :	Teléfono :																										
Lugar de Inspección : <u>Colendín</u>	Muestreado por : ☐ SGS ☒ El Cliente																										
ENVIAR EL INFORME A:		Frecuencia del Monitoreo:																									
Contacto : <u>977644665</u>	Periódico ☐																										
Dirección : <u>Jr. Ayacucho N° 1482</u>	No Periódico ☐																										
Teléfono :	Especial ☐																										
E-mail :																											
N° de OI : <u>18/01/25</u>	N° de Pre-ACTA :	N° de MA :																									
Fecha de inicio: <u>18/01/25</u>	Fecha de finalización: <u>18/01/25</u>																										
Hora de inicio:	Hora de finalización:																										
Item	Estación	Coordenadas UTM WGS 84 ☐ PSAD 56 ☐	Altitud (msnm)	Tipo de Agua*	Tipo de Muestra Simple ☐ Compuesta ☐	Fecha	Hora	P	V																		
01	T1-Rep.1			APA	X	18/01/25	03:00	X	✓																		
02	T1-Rep.2			APA	X	18/01/25	03:02	X	✓																		
03	T1-Rep.3			APA	X	18/01/25	03:04	X	✓																		
04	T4-Rep.1			APA	X	18/01/25	03:06	X	✓																		
05	T4-Rep.2			APA	X	18/01/25	03:08	X	✓																		
06	T4-Rep.3			APA	X	18/01/25	03:10	X	✓																		
07	T4-Rep.1			APA	X	18/01/25	03:12	X	✓																		
08	T4-Rep.2			APA	X	18/01/25	03:14	X	✓																		
09	T4-Rep.3			APA	X	18/01/25	03:16	X	✓																		
10	T4-Rep.1			APA	X	18/01/25	03:18	X	✓																		
Inspector responsable:		Fecha:	Firma:	N° de Coolers ☐		N° de Frascos ☐		Fecha de Recepción de las Muestras:		Hora:																	
Representante del Cliente:		Fecha:	Firma:	N° de Ice Pack's ☐				Responsable de la Recepción de las Muestras:		Firma																	
Muestra enviada vía:		Responsable del Envío:		Agencia / Persona a cargo del transporte:		RUC / DNI:		Fecha y Hora del envío:		Condiciones en que se recibieron las muestras:		Temperatura (°C):															
Terrestre ☐ Aérea ☐ Fluvial ☐ Marítima ☐										Refrigeradas ☐ Preservadas ☐ Dentro del tiempo de conservación ☐ N° de muestras rotas: ☐ Otros (especifique): ☐		☐ ☐ ☐ ☐															
D-OPE-P-07ENV-01 R07 FA: Abril 2015																		Hoja ____ de ____									



Laboratorio Callao
Avenida Elmer Faucett 3348, Callao 1
Teléfono: (01) 517 1900
E-mail: pe.labambientales@sgs.com

Laboratorio Arequipa
Ernesto Gunther N° 275, Parque Industrial
Teléfono: (054) 213506
E-mail: ada.paredes@sgs.com

Laboratorio Cajamarca
Calle Arnaldo Márquez 257, Barrio San Antonio
Teléfono: (076) 387723
E-mail: jade.huarcaya@sgs.com

CADENA DE CUSTODIA PARA MONITOREO DE AGUA

Nº 236902

DATOS DEL CLIENTE				FACTURAR A*				Análisis requeridos / Preservantes												TIPOS DE AGUA*					
Cliente :	Hellen Gianella Laya Masín			Razón Social :				Cantidad de envases (Plástico / Vidrio)	CIANURO TOTAL													AGUA NATURAL ASUB : Agua subterránea AMA : Agua de manantial AT : Agua termal AS : Agua superficial ADR : Agua de río ADL : Agua de lago / laguna ADA : Agua de deposición atmosférica AGUA RESIDUAL ARD : Agua residual doméstica ARI : Aguas residual industrial ARM : Agua residual municipal AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO AB : Agua de bebida			
Contacto :				RUC :	74396929					AGUA SALINA AM : Agua de mar ASL : Agua salobre SAL : Salmuera AIRS : Agua de inyección y reinyección (salina)															
Teléfono :	917644665			Dirección :	Jr. Ayacucho N° 1482					AGUA DE PROCESO ACE : Agua de circulación o enfriamiento AAC : Agua de alimentación para calderas AC : Agua de calderas AL : Agua de lixiviación															
E-mail :	hellenlaya45@gmail.com			Contacto :						AIRP : Agua de inyección y reinyección (de proceso)															
Proyecto :				Teléfono :																					
Lugar de Inspección :	Celendín			Muestreado por :	SGS ☐ El Cliente ☒																				
ENVIAR EL INFORME A:				Frecuencia del Monitoreo:	Periódico ☐ No Periódico ☐ Especial ☐																				
Contacto :																									
Dirección :	Jr. Ayacucho N° 1482																								
Teléfono :	917644665																								
E-mail :	hellenlaya45@gmail.com																								
N° de Of. :	N° de Pre-Acta :			N° de M.A. :																					
Fecha de inicio :	18/01/25			Fecha de finalización :	18/01/25																				
Hora de inicio :	07:00 am			Hora de finalización :																					
Item	Estación	Coordenadas UTM WGS 84 ☐ PSAD 56 ☐	Altitud (msnm)	Tipo de Agua*	Tipo de Muestra Simple ☐ Compuesta ☐	Fecha	Hora	P	V																
11	TO-Rep-2-9			APR	X	18/01/25	07:20 am	X	✓																
12	TO-Rep-1-10			APR	X	18/01/25	07:22 am	X	✓																
13	TO-Rep-2-10			APR	X	18/01/25	07:29 am	X	✓																
14	TO-Rep-1-11			APR	X	18/01/25	07:26 am	X	✓																
15	TO-Rep-2-11			APR	X	18/01/25	07:28 am	X	✓																
										SGS del Perú S.A.C 18 ENE. 2025 RECIBIDO Data Center - FHS															
Inspector responsable:				Fecha:	Firma:				N° de Coolers ☐		N° de Frascos ☐		Fecha de Recepción de las Muestras:				Hora:								
Representante del Cliente:				Fecha:	Firma:				N° de Ice Pack's ☐		Responsable de la Recepción de las Muestras:				Firma										
Muestra enviada via:				Responsable del Envío:				Condiciones en que se recibieron las muestras:				Temperatura (°C):													
Terrestre ☐ Aérea ☐ Fluvial ☐ Marítima ☐				Agencia / Persona a cargo del transporte: RUC / DNI: Fecha y Hora del envío:				Refrigeradas ☐ Preservadas ☐ Dentro del tiempo de conservación ☐ N° de muestras rotas: ☐ Otros (especifique):				☐ ☐ ☐ ☐													

D-OPE-P-07ENV-01
R07
FA : Abril 2015

Hoja _____ de _____

Anexo 3 Cadenas de custodia 2



Laboratorio Callao
Avenida Elmer Faucett 3348, Callao 1
Teléfono: (01) 517 1900
E-mail: pe.labambientales@sgs.com

Laboratorio Arequipa
Ernesto Gunther N° 275, Parque Industrial
Teléfono: (054) 213506
E-mail: ada.paredes@sgs.com

Laboratorio Cajamarca
Calle Amaldo Márquez 257, Barrio San Antonio
Teléfono: (078) 367723
E-mail: jado.huarcaya@sgs.com

CADENA DE CUSTODIA PARA MONITOREO DE AGUA

Nº 236903

DATOS DEL CLIENTE				FACTURAR A:				Análisis requeridos / Preservantes												TIPOS DE AGUA*			
Cliente : Helén Giovela Lara Maxín Contacto : 917644665 Teléfono : helengiovela45@gmail.com E-mail : Proyecto : Lugar de Inspección : Celendín				Razón Social : RUC : 74396929 Dirección : Jr. Ayacucho N° 1482 Contacto : Teléfono : Muestreado por :				Cantidad de envases (Plástico / Vidrio) CIANURO TOTAL												AGUA NATURAL ASUB : Agua subterránea AMA : Agua de manantial AT : Agua termal AS : Agua superficial ADR : Agua de río ADL : Agua de lago / laguna ADA : Agua de deposición atmosférica AGUA RESIDUAL ARD : Agua residual doméstica ARI : Aguas residual industrial ARM : Agua residual municipal AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO AB : Agua de bebida		AP : Agua de piscina ALA : Agua de laguna artificial AGUA SALINA AM : Agua de mar ASL : Agua salobre SAL : Salmuera AIRS : Agua de inyección y reinyección (salina) AGUA DE PROCESO ACE : Agua de circulación o enfriamiento AAC : Agua de alimentación para calderas AC : Agua de calderas AL : Agua de lixiviación APR : Agua purificada AIRP : Agua de inyección y reinyección (de proceso)	
ENVIAR EL INFORME A: Contacto : 917644665 Dirección : Jr. Ayacucho N° 1482 Teléfono : E-mail : huanan171@university.pe N° de Ofi : N° de Pre-Acta : N° de MA :				Frecuencia del Monitoreo: Periódico ☐ No Periódico ☐ Especial ☐																			
Fecha de inicio: 22/01/2025 Hora de inicio: 07:00 am.				Fecha de finalización: 22/01/2025 Hora de finalización:																			
Item	Estación	Coordenadas UTM WGS 84 ☐ PSAD 56 ☐	Altitud (msnm)	Tipo de Agua*	Tipo de Muestra Simple ☐ Compuesta ☐	Fecha	Hora	P	V														
01	T2-Rep.1			APR	X	22/01/25	07:00 am	X	✓														
02	T2-Rep.2			APR	X	22/01/25	07:02 am	X	✓														
03	T2-Rep.3			APR	X	22/01/25	07:04 am	X	✓														
04	T5-Rep.1			APR	X	22/01/25	07:06 am	X	✓														
05	T5-Rep.2			APR	X	22/01/25	07:08 am	X	✓														
06	T5-Rep.3			APR	X	22/01/25	07:10 am	X	✓														
07	T8-Rep.1			APR	X	22/01/25	07:12 am	X	✓														
08	T8-Rep.2			APR	X	22/01/25	07:14 am	X	✓														
09	T8-Rep.3			APR	X	22/01/25	07:16 am	X	✓														
Inspector responsable: Fecha: Firma:										N° de Coolers ☐		N° de Frascos ☐		Fecha de Recepción de las Muestras:				Hora:					
Representante del Cliente: Fecha: Firma:										N° de Ice Pack's ☐		Responsable de la Recepción de las Muestras:				Condiciones en que se recibieron las muestras:							
Muestra enviada vía: Terrestre ☐ Aérea ☐ Fluvial ☐ Marítima ☐										Responsable del Envío: Agencia / Persona a cargo del transporte: RUC / DNI: Fecha y Hora del envío:										22 ENE. 2025 Firma			
D-OPE-P-07ENV-01 R07 FA : Abril 2015										RECEBIDO 22 ENE. 2025 Temperatura (°C): N° de muestras rotas: Otros (especifique):										Hoja de			

P.18519

Anexo 4 Cadenas de custodia 3

DATOS DEL CLIENTE		FACTURAR A:		Análisis requeridos / Preservantes		TIPOS DE AGUA*	
Cliente : <i>Hellen Gionella Lara Marín</i>	Razón Social :	RUC : <i>74396929</i>				AGUA NATURAL	AP : Agua de piscina
Contacto :		Dirección : <i>Jr. Ayacucho N° 1482</i>				ASUB : Agua subterránea	ALA : Agua de laguna artificial
Teléfono : <i>917644665</i>		Contacto :				AMA : Agua de manantial	
E-mail : <i>hellen.lara.45@gmail.com</i>		Teléfono : <i>917644665</i>				AT : Agua termal	AM : Agua de mar
Proyecto :		Muestreado por : ☐ SGS ☒ El Cliente				AS : Agua superficial	ASL : Agua salobre
Lugar de Inspección : <i>Celodán</i>		Frecuencia del Monitoreo:				ADR : Agua de río	SAL : Salmuera
ENVIAR EL INFORME A:		Periódico ☐				ADL : Agua de lago / laguna	AIRS : Agua de inyección y reinyección (salina)
Contacto :		No Periódico ☐				ADA : Agua de deposición atmosférica	
Dirección : <i>Jr. Ayacucho N° 1482 - Celodán</i>		Especial ☐				AGUA DE PROCESO	
Teléfono : <i>917644665</i>						ACE : Agua de circulación o enfriamiento	
E-mail : <i>hlaran.17-1@unc.edu.pe</i>						AGUA RESIDUAL	
N° de OI : <i>27/01/25</i>	N° de Pre-Acta :					ARD : Agua residual doméstica	AAC : Agua de alimentación para calderas
Fecha de inicio : <i>07:00</i>	Fecha de finalización : <i>07:30</i>					ARI : Aguas residual industrial	AC : Agua de calderas
Hora de inicio :	Hora de finalización :					ARM : Agua residual municipal	AL : Agua de latrinas
						AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO	
						AB : Agua de bebida	APR : Agua purificada
						AIRP : Agua de inyección y reinyección (de proceso)	
OBSERVACIONES							
Item	Estación	Coordenadas UTM WGS 84 ☐ PSAD 56 ☐	Altitud (msnm)	Tipo de Agua*	Tipo de Muestra Simple ☐ Compuesta ☐	Fecha	Hora
01	T3-Rep.1			APR	X	27/01/25	07:00
02	T3-Rep.2			APR	X	27/01/25	07:02
03	T3-Rep.3			APR	X	27/01/25	07:04
04	T6-Rep.1			APR	X	27/01/25	07:06
05	T6-Rep.2			APR	X	27/01/25	07:08
06	T6-Rep.3			APR	X	27/01/25	07:09
07	T9-Rep.1			APR	X	27/01/25	07:12
08	T9-Rep.2			APR	X	27/01/25	07:14
09	T9-Rep.3			APR	X	27/01/25	07:16
10	T6-Rep.1-9			APR	X	27/01/25	07:18
Inspector responsable:		Fecha:	Firma:	N° de Coolers ☐	N° de Frascos ☐	Fecha de Recepción de las Muestras:	
Representante del Cliente:		Fecha:	Firma:	N° de Ice Pack's ☐		Hora:	
Muestra enviada vía:		Responsable del Envío:		Condiciones en que se recibieron las muestras:		Firma	
Terrestre ☐		Agencia / Persona a cargo del transporte:		Refrigeradas ☐			
Aérea ☐		RUC / DNI:		Preservadas ☐			
Fluvial ☐		Fecha y Hora del envío:		Dentro del tiempo de conservación ☐		Temperatura (°C):	
Marítima ☐				N° de muestras rotas:			
				Otros (especifique):			

Hoja ____ de ____

D-OPE-P-07ENV-01
R07
FA : Abril 2015

SGS del Perú S.A.C
27 ENE. 2025
RECIBIDO
Data Center - EHS



Laboratorio Callao
Avenida Elmer Faucett 3348, Callao 1
Teléfono: (01) 517 1900
E-mail: pe.labambientales@sgs.com

Laboratorio Arequipa
Ernesto Gunther N° 275, Parque Industrial
Teléfono: (054) 213506
E-mail: ada.paredes@sgs.com

Laboratorio Cajamarca
Calle Amado Márquez 257, Barrio San Antonio
Teléfono: (076) 367723
E-mail: jade.huarcaya@sgs.com

CADENA DE CUSTODIA PARA MONITOREO DE AGUA

Nº 236906

DATOS DEL CLIENTE				FACTURAR A:				Análisis requeridos / Preservantes												TIPOS DE AGUA*											
Cliente :	Hellen Gianella Lara Marín			Razón Social :				Cantidad de envases (Plástico / Vidrio) CSANURO TOTAL												AGUA NATURAL ASUB : Agua subterránea AMA : Agua de manantial AT : Agua termal AS : Agua superficial ADR : Agua de río ADL : Agua de lago / laguna ADA : Agua de deposición atmosférica AGUA RESIDUAL ARD : Agua residual doméstica ARI : Aguas residual industrial ARM : Agua residual municipal AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO AB : Agua de bebida				AP : Agua de piscina ALA : Agua de laguna artificial AGUA SALINA AM : Agua de mar ASL : Agua salobre SAL : Salmuera AIRS : Agua de inyección y reinyección (salina) AGUA DE PROCESO ACE : Agua de circulación o enfriamiento AAC : Agua de alimentación para calderas AC : Agua de calderas AL : Agua de lixiviación APR : Agua purificada AIRP : Agua de inyección y reinyección (de proceso)							
Contacto :				RUC :	74396929															Cantidad de envases (Plástico / Vidrio) CSANURO TOTAL											
Teléfono :	917644665			Dirección :	Jr. Ayacucho N° 1482																										
E-mail :	hellenlara45@gmail.com			Contacto :																											
Proyecto :				Teléfono :	917644665																										
Lugar de Inspección :	Celendín			Muestreado por :	SGS ☐ El Cliente ☒																										
ENVIAR EL INFORME A:				Frecuencia del Monitoreo:																											
Contacto :				Periódico ☐ No Periódico ☐ Especial ☐																											
Dirección :	Jr. Ayacucho N° 1482																														
Teléfono :	917644665																														
E-mail :	hlaxam17-1@unc.edu.pe																														
N° de OI :	N° de Pre-Acta :			N° de MA :																											
Fecha de inicio :	27/01/2025			Fecha de finalización :				27/01/2025																							
Hora de inicio :	07:00			Hora de finalización :				07:30																							
Item	Estación	Coordenadas UTM WGS 84 ☐ PSAD 56 ☐	Altitud (m.s.n.m.)	Tipo de Agua*	Tipo de Muestra Simple ☐ Compuesta ☐	Fecha	Hora	P	V													OBSERVACIONES									
11	To-Rep.2-9		APR	APR	X	27/01/25	07:20	X	✓																						
12	To-Rep.1-10		APR	APR	X	27/01/25	07:22	X	✓																						
13	To-Rep.2-10		APR	APR	X	27/01/25	07:24	X	✓																						
14	To-Rep.1-11		APR	APR	X	27/01/25	07:26	X	✓																						
15	To-Rep.2-11		APR	APR	X	27/01/25	07:28	X	✓																						
16	To		APR	APR	X	27/01/25	07:30	X	✓																						
																		SGS del Perú S.A.C 27 ENE. 2025 RECIBIDO Data Center - FHS													
Inspector responsable:				Fecha:				Firma:				N° de Coolers ☐				N° de Frascos ☐				Fecha de Recepción de las Muestras:				Hora:							
Representante del Cliente:				Fecha:				Firma:				N° de Ice Pack's ☐								Responsable de la Recepción de las Muestras:				Firma							
Muestra enviada vía:				Responsable del Envío:				Agencia / Persona a cargo del transporte:				RUC / DNI:				Fecha y Hora del envío:				Condiciones en que se recibieron las muestras:				Temperatura (°C):							
Terrestre ☐ Aérea ☐ Fluvial ☐ Marítima ☐																				Refrigeradas ☐ Preservadas ☐ Dentro del tiempo de conservación ☐ N° de muestras rotas: Otros (especifique):											

D-OPE-P-07ENV-01
R07
FA: Abril 2015

Hoja ____ de ____

Anexo 6 Informes de laboratorio 1

INFORME DE ENSAYO
MA2502191 Rev. 0

HELLEN GIANELLA LARA MARIN

JR. AYACUCHO N°1482

ENV / LB-355977-002

Fecha de Recepción SGS : 18-01-2025
Fecha de Ejecución : Del 18-01-2025 al 25-01-2025
Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
T1-Rep.1
T1-Rep.2
T1-Rep.3
T4-Rep.1
T4-Rep.2
T4-Rep.3
T7-Rep.1
T7-Rep.2
T7-Rep.3
T0-Rep.1-9
T0-Rep.2-9
T0-Rep.1-10
T0-Rep.2-10
T0-Rep.1-11
T0-Rep.2-11

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"
Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

INFORME DE ENSAYO MA2502191 Rev. 0

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T1-Rep.1	T1-Rep.2
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025	18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:00:00	07:02:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	427.4000 ± 111.12	423.3000 ± 110.058

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T1-Rep.3	T4-Rep.1
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025	18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:04:00	07:06:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	425.5000 ± 110.63	453.2000 ± 117.83

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T4-Rep.2	T4-Rep.3
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025	18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:08:00	07:10:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	456.2000 ± 118.61	452.4000 ± 117.62

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T7-Rep.1	T7-Rep.2
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025	18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:12:00	07:14:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	485.1000 ± 126.13	483.2000 ± 125.63

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T7-Rep.3	T0-Rep.1-9
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025	18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:16:00	07:18:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	486.6000 ± 126.52	500.1000 ± 130.026

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T0-Rep.2-9	T0-Rep.1-10
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025	18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:20:00	07:22:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	500.2100 ± 130.055	500.1300 ± 130.034

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

INFORME DE ENSAYO MA2502191 Rev. 0

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T0-Rep. 2-10	T0-Rep. 1-11
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025	18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:24:00	07:26:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	500.3200 ± 130.083	500.1900 ± 130.049

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T0-Rep. 2-11
FECHA DE MUESTREO					18/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:28:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales					
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	500.1800 ± 130.047

INFORME DE ENSAYO MA2502191 Rev. 0

CONTROL DE CALIDAD

LC: Límite de cuantificación
MB: Blanco del proceso.
LCS %Recovery: Porcentaje de recuperación del patrón de proceso.
MS %Recovery: Porcentaje de recuperación de la muestra adicionada.
MSD %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados de la muestra adicionada.
Dup %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados del proceso.

Parámetro	Unidad	LC	MB	LCS %Recovery	MS %Recovery	MSD %RPD
Cianuro total	mg/L	0.0008	<0.0008	95%	105%	0%

INFORME DE ENSAYO
MA2502191 Rev. 0

REFERENCIAS DE MÉTODOS DE ENSAYO

Referencia	Sede	Parámetro	Método de Ensayo
EW_ASTMD7511_CX	Cajamarca	Cianuro total	ASTM D7511-12 (Reapproved 2017) E01 Standard Test Method for Total Cyanide by Segmented Flow Injection Analysis, In-Line Ultraviolet Digestion and Amperometric Detection (VALIDADO - Modificado)

INFORME DE ENSAYO MA2502191 Rev. 0

NOTAS

- El reporte de tiempo se realiza en el sistema horario de 24 horas.
- Las muestras recibidas cumplen con las condiciones necesarias para la realización de los análisis solicitados.
- La incertidumbre expandida de medición reportada se ha obtenido multiplicando la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura $k=2$, de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95%.

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

Este documento es emitido bajo las Condiciones Generales de Servicio de SGS del Perú S.A.C, las cuales se encuentran descritas en la página <http://www.sgs.pe/es-ES/Terms-and-Conditions.aspx>. Son especialmente importantes las disposiciones sobre limitación de responsabilidad, pago de indemnizaciones y jurisdicción definidas en dichas Condiciones Generales de Servicio, su alteración o su uso indebido constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones civiles y penales de la materia; queda prohibida la reproducción total o parcial, salvo autorización escrita de SGS del Perú S.A.C.

Los resultados del informe de ensayo sólo son válidos para la(s) muestra(s) ensayadas; no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. La compañía no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas y de la información proporcionada por el cliente.

Última Revisión Enero 2022

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

Página 6 de 6

Anexo 7 Informes de laboratorio 2**INFORME DE ENSAYO
MA2502375 Rev. 0**

HELLEN GIANELLA LARA MARIN

JR. AYACUCHO N°1482

ENV / LB-355977-003

Fecha de Recepción SGS : 22-01-2025

Fecha de Ejecución : Del 22-01-2025 al 25-01-2025

Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
T2-Rep.1
T2-Rep.2
T2-Rep.3
T5-Rep.1
T5-Rep.2
T5-Rep.3
T8-Rep.1
T8-Rep.2
T8-Rep.3

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

Página 1 de 5

INFORME DE ENSAYO MA2502375 Rev. 0

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T2-Rep.1	T2-Rep.2
FECHA DE MUESTREO					22/01/2025	22/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:00:00	07:02:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW_ASTMD7511_CX	mg/L	0.0003	0.0008	191.2000 ± 49.71	195.2000 ± 50.75

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T2-Rep.3	T5-Rep.1
FECHA DE MUESTREO					22/01/2025	22/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:04:00	07:06:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW_ASTMD7511_CX	mg/L	0.0003	0.0008	193.4000 ± 50.28	316.5000 ± 82.29

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T5-Rep.2	T5-Rep.3
FECHA DE MUESTREO					22/01/2025	22/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:08:00	07:10:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW_ASTMD7511_CX	mg/L	0.0003	0.0008	318.2000 ± 82.73	321.0000 ± 83.46

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T8-Rep.1	T8-Rep.2
FECHA DE MUESTREO					22/01/2025	22/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:12:00	07:14:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW_ASTMD7511_CX	mg/L	0.0003	0.0008	414.8000 ± 107.85	411.3000 ± 106.94

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T8-Rep.3
FECHA DE MUESTREO					22/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:16:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales					
Cianuro total	EW_ASTMD7511_CX	mg/L	0.0003	0.0008	412.5000 ± 107.25

**INFORME DE ENSAYO
MA2502375 Rev. 0****CONTROL DE CALIDAD**

LC: Límite de cuantificación
MB: Blanco del proceso.
LCS %Recovery: Porcentaje de recuperación del patrón de proceso.
MS %Recovery: Porcentaje de recuperación de la muestra adicionada.
MSD %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados de la muestra adicionada.
Dup %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados del proceso.

Parámetro	Unidad	LC	MB	LCS %Recovery	MS %Recovery	MSD %RPD
Cianuro total	mg/L	0.0008	<0.0008	95%	105%	0%

INFORME DE ENSAYO
MA2502375 Rev. 0

REFERENCIAS DE MÉTODOS DE ENSAYO

Referencia	Sede	Parámetro	Método de Ensayo
EW_ASTMD7511_CX	Cajamarca	Cianuro total	ASTM D7511-12 (Reapproved 2017) E01 Standard Test Method for Total Cyanide by Segmented Flow Injection Analysis, In-Line Ultraviolet Digestion and Amperometric Detection (VALIDADO - Modificado)

INFORME DE ENSAYO MA2502375 Rev. 0

NOTAS

- El reporte de tiempo se realiza en el sistema horario de 24 horas.
- Las muestras recibidas cumplen con las condiciones necesarias para la realización de los análisis solicitados.
- La incertidumbre expandida de medición reportada se ha obtenido multiplicando la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura $k=2$, de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95%.

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

Este documento es emitido bajo las Condiciones Generales de Servicio de SGS del Perú S.A.C, las cuales se encuentran descritas en la página <http://www.sgs.pe/es-ES/Terms-and-Conditions.aspx>. Son especialmente importantes las disposiciones sobre limitación de responsabilidad, pago de indemnizaciones y jurisdicción definidas en dichas Condiciones Generales de Servicio, su alteración o su uso indebido constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones civiles y penales de la materia; queda prohibida la reproducción total o parcial, salvo autorización escrita de SGS del Perú S.A.C.

Los resultados del informe de ensayo sólo son válidos para la(s) muestra(s) ensayadas; no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. La compañía no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas y de la información proporcionada por el cliente.

Última Revisión Enero 2022

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

Página 5 de 5

Anexo 8 Informes de laboratorio 3**INFORME DE ENSAYO
MA2502806 Rev. 0**

HELLEN GIANELLA LARA MARIN

JR. AYACUCHO N°1482

ENV / LB-355977-004

Fecha de Recepción SGS : 27-01-2025

Fecha de Ejecución : Del 27-01-2025 al 27-01-2025

Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
T3-Rep.1
T3-Rep.2
T3-Rep.3
T6-Rep.1
T6-Rep.2
T6-Rep.3
T9-Rep.1
T9-Rep.2
T9-Rep.3
T0-Rep.1-9
T0-Rep.2-9
T0-Rep.1-10
T0-Rep.2-10
T0-Rep.1-11
T0-Rep.2-11

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

Página 1 de 7

INFORME DE ENSAYO
MA2502806 Rev. 0

Estación de Muestreo
T0

INFORME DE ENSAYO MA2502806 Rev. 0

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T3-Rep.1	T3-Rep.2
FECHA DE MUESTREO					27/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:00:00	07:02:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	26.3000 ± 6.84	27.1000 ± 7.046

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T3-Rep.3	T6-Rep.1
FECHA DE MUESTREO					27/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:04:00	07:06:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	24.5000 ± 6.37	74.3000 ± 19.32

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T6-Rep.2	T6-Rep.3
FECHA DE MUESTREO					27/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:08:00	07:09:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	77.1000 ± 20.046	75.2000 ± 19.55

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T9-Rep.1	T9-Rep.2
FECHA DE MUESTREO					04/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:12:00	07:14:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	216.2000 ± 56.21	215.4000 ± 56.0040

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T9-Rep.3	T0-Rep.1-9
FECHA DE MUESTREO					27/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:16:00	07:18:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	218.2000 ± 56.73	492.3000 ± 128.00

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T0-Rep.2-9	T0-Rep.1-10
FECHA DE MUESTREO					27/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:20:00	07:22:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	491.2000 ± 127.71	487.2000 ± 126.67

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

INFORME DE ENSAYO MA2502806 Rev. 0

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T0-Rep. 2-10	T0-Rep. 1-11
FECHA DE MUESTREO					27/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:24:00	07:26:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	498.3000 ± 129.56	493.9000 ± 128.41

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					T0-Rep. 2-11	T0
FECHA DE MUESTREO					27/01/2025	27/01/2025
HORA DE MUESTREO					07:28:00	07:30:00
CATEGORIA					AGUA DE PROCESO	AGUA DE PROCESO
SUB CATEGORIA					AGUA PURIFICADA	AGUA PURIFICADA
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado ± Incertidumbre	Resultado ± Incertidumbre
Análisis Generales						
Cianuro total	EW ASTM D7511 CX	mg/L	0.0003	0.0008	490.4000 ± 127.50	501.0000 ± 130.26

INFORME DE ENSAYO MA2502806 Rev. 0

CONTROL DE CALIDAD

LC: Límite de cuantificación
MB: Blanco del proceso.
LCS %Recovery: Porcentaje de recuperación del patrón de proceso.
MS %Recovery: Porcentaje de recuperación de la muestra adicionada.
MSD %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados de la muestra adicionada.
Dup %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados del proceso.

Parámetro	Unidad	LC	MB	LCS %Recovery	MS %Recovery	MSD %RPD
Cianuro total	mg/L	0.0008	<0.0008	95%	105%	0%

INFORME DE ENSAYO
MA2502806 Rev. 0

REFERENCIAS DE MÉTODOS DE ENSAYO

Referencia	Sede	Parámetro	Método de Ensayo
EW_ASTMD7511_CX	Cajamarca	Cianuro total	ASTM D7511-12 (Reapproved 2017) E01 Standard Test Method for Total Cyanide by Segmented Flow Injection Analysis, In-Line Ultraviolet Digestion and Amperometric Detection (VALIDADO - Modificado)

INFORME DE ENSAYO MA2502806 Rev. 0

NOTAS

- El reporte de tiempo se realiza en el sistema horario de 24 horas.
- Las muestras recibidas cumplen con las condiciones necesarias para la realización de los análisis solicitados.
- La incertidumbre expandida de medición reportada se ha obtenido multiplicando la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura $k=2$, de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de confianza del 95%.

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

Este documento es emitido bajo las Condiciones Generales de Servicio de SGS del Perú S.A.C, las cuales se encuentran descritas en la página <http://www.sgs.pe/es-ES/Terms-and-Conditions.aspx>. Son especialmente importantes las disposiciones sobre limitación de responsabilidad, pago de indemnizaciones y jurisdicción definidas en dichas Condiciones Generales de Servicio, su alteración o su uso indebido constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones civiles y penales de la materia; queda prohibida la reproducción total o parcial, salvo autorización escrita de SGS del Perú S.A.C.

Los resultados del informe de ensayo sólo son válidos para la(s) muestra(s) ensayadas; no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. La compañía no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas y de la información proporcionada por el cliente.

Última Revisión Enero 2022

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.

Página 7 de 7

Anexo 9 Panel fotográfico

Figura 11

Preparación de botellas de vidrio ámbar



Figura 12

Preparación de placas Petri y material de vidrio



Figura 13

Esterilización de materiales a 180 °C por 30 minutos

**Figura 14**

Siembra de la cepa en caldo Peptonado



Figura 15

Adaptación de Pseudomonas fluorescens en caldo peptonado y MBSMG

**Figura 16**

Preparación de MBSM

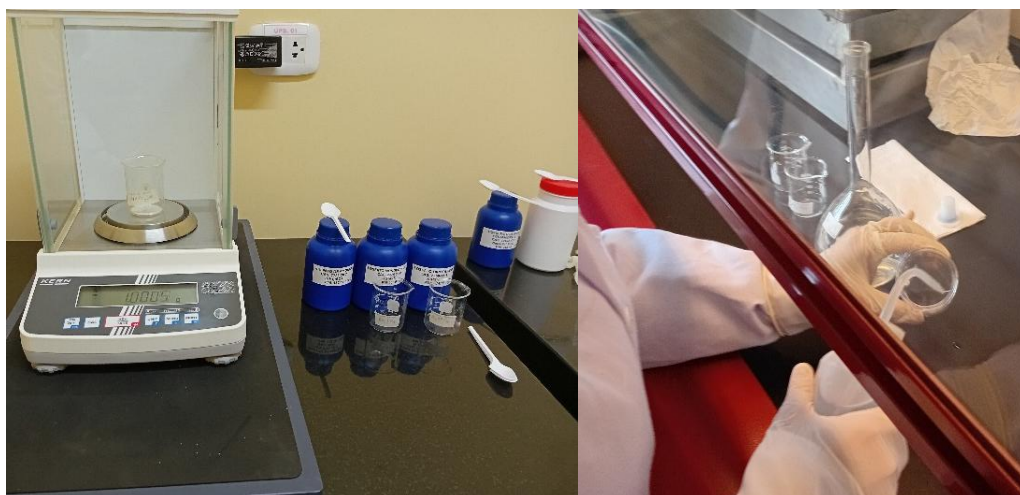


Figura 17

Siembra de P. fluorescens en MBSMG

**Figura 18**

Activación de P. fluorescens en cianuro



Figura 19

Siembra del inóculo activado y adaptado en MBSMG para masificación

**Figura 20**

Masificación del inóculo bacteriano



Figura 21

Verificación de crecimiento durante la masificación

**Figura 22**

Preparación de agua sintética para los tratamientos



Figura 23

Verificación del pH en las unidades experimentales

**Figura 24**

Incorporación del inóculo bacteriano a las unidades experimentales



Figura 25

Incubación de unidades experimentales a 32 °C



Figura 26

Control de crecimiento bacteriano en Pseudomonas agar



Figura 27

Conteo de colonias después del periodo de incubación

**Figura 28**

Toma de alícuotas para análisis de cianuro



Figura 29

Preparación de muestras para su respectivo envío

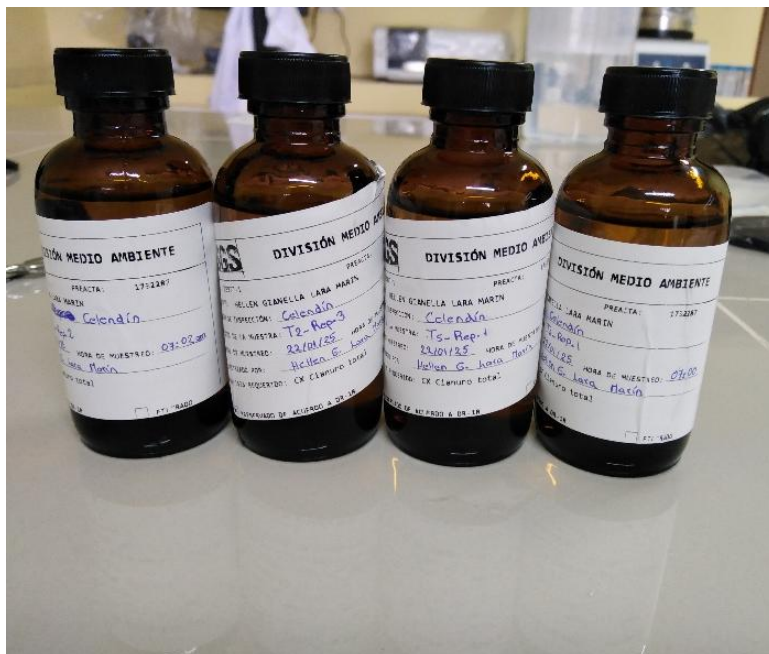


Figura 30

Entrega de muestras al laboratorio para análisis de cianuro total

