

## Biodegradación del cianuro contenido en el lixiviado de un mineral aurífero

*Biodegradation of cyanide contained in the leachate of a gold ore*

Daladier Castillo Cotrina<sup>1</sup>  
Milena Carpio Mamani<sup>2</sup>

ORCID: 0000-0003-0133-5921  
ORCID: 0000-0002-1405-6924

### Resumen

La biodegradación de compuestos cianurados, que se presentan en efluentes de plantas de lixiviación de minerales para la recuperación del oro, es un tratamiento biológico de actualidad que está permitiendo que no se continúe contaminando ecosistemas con vertidos cianurados, asimismo, permite que los ambientes que ya están contaminados se recuperen con la aplicación de microorganismos degradadores del cianuro. En este trabajo se tuvo como objetivo evaluar a *Pseudomonas fluorescens* nativo como degradador del cianuro presente en lixiviados en condiciones de laboratorio, para lo cual fue aislado de un lixiviado de mineral aurífero e inoculado en tres biorreactores aireados con lixiviado cianurado de mineral aurífero que tuvieron 250 ppm de cianuro libre, y un inóculo de  $1.75 \times 10^8$  cel/ml en un primer biorreactor,  $8.75 \times 10^7$  cel/ml en un segundo y  $5.4 \times 10^6$  cel/ml en un tercer biorreactor, que se incubaron a temperatura ambiente durante 168 horas. La evaluación del cianuro libre contenida en los biorreactores, cada 24 horas mediante el método titulométrico, permitió establecer que *P. fluorescens* con  $1.75 \times 10^8$  cel/ml degradó 246.25 ppm (98.5 %) del total de cianuro libre; con  $8.75 \times 10^7$  cel/ml, 240 ppm (96 %); y con  $5.47 \times 10^6$  cel/ml, 237.5 ppm (95 %). Estos resultados muestran que *P. fluorescens* tiene un gran potencial para seguir estudiándola con el propósito de emplearla en la biorremediación de ecosistemas contaminados con lixiviados cianurados o para el tratamiento de efluentes cianurados.

**Palabras clave:** biorremediación, degradación, descianuración, *Pseudomonas*, tratamiento biológico.

### Abstract

*The biodegradation of cyanide compounds that occur in effluents from mineral leaching plants for the recovery of gold is a current biological treatment that is allowing ecosystems to not continue to be contaminated with cyanide discharges, and also the environments that are already contaminated are recovered with the application of cyanide-degrading microorganisms. The objective of this work was to evaluate native *Pseudomonas fluorescens* as a degrader of cyanide present in leachates under laboratory conditions, for which it was isolated from a gold ore leachate and inoculated in three aerated bioreactors with cyanide leachate of gold ore that had 250 ppm of free cyanide, and an inoculum of  $1.75 \times 10^8$  cells/ml in a first bioreactor,  $8.75 \times 10^7$  cells/ml in a second, and  $5.4 \times 10^6$  cells/ml in a third bioreactor, which were incubated at room temperature for 168 hours. The evaluation of the free cyanide contained in the*

<sup>1</sup> Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú. E-mail: dcastilloc@unjbg.edu.pe

<sup>2</sup> Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú. E-mail: mcarpiom@unjbg.edu.pe

bioreactors, every 24 hours by means of the titrimetric method, allowed establishing that *P. fluorescens* with  $1.75 \times 10^8$  cells/ml degraded 246.25 ppm (98.5%) of the total free cyanide; with  $8.75 \times 10^7$  cells/ml, 240 ppm (96%); and with  $5.47 \times 10^6$  cells/ml, 237.5 ppm (95%). These results show that *P. fluorescens* has great potential for further study with the purpose of using it in the bioremediation of ecosystems contaminated with cyanide leachate or for the treatment of cyanide effluents.

**Keywords:** bioremediation, degradation, decyanation, *Pseudomonas*, biological treatment.

---

### Introducción

El cianuro es el agente lixiviante más utilizado en la minería para procesos de extracción de oro y plata (Akcil, 2003a), su presencia en los vertidos residuales son un riesgo para la salud y el ambiente porque por su alta toxicidad contaminan el agua, suelo y aire. El Perú ocupa el primer lugar en la producción de oro en América Latina, y tiene una producción aproximada de 151.1 toneladas/año. En la región de Tacna se producen 3.2 toneladas/año.

La contaminación del ambiente por cianuro se da por encima de 0.1 ppm (Mudder & Botz, 2004), su mitigación se consigue con el uso de tecnologías adecuadas para su tratamiento; a nivel industrial, esto es un problema por la gran cantidad de cianuro que se vierten en las plantas de procesamiento de oro (Shin *et al.*, 2013). Sin embargo, en los últimos años este tipo de contaminación está siendo contrarrestado por la biorremediación con éxito en operaciones a gran escala, de manera fiable y económicamente viable (Akcil, 2003b; Murillo y Montañez, 2022). A pesar que el cianuro y sus derivados en las corrientes de aguas residuales están regulados, estas deben tratarse para reducir la concentración de cianuro total y cianuro libre por debajo de los límites reglamentados (Kuyucak & Akcil, 2013). Para este tratamiento, se tiene la alternativa prometedora del uso de microorganismos (hongos, bacterias, entre otros) para la descontaminación de las zonas afectadas (Avcioglu & Seyis, 2016; Razanamahandry *et al.*, 2018), debido a que pueden resistir el estrés ambiental, a través de una rápida mutación y evolución (Xiong *et al.*, 2008).

Los residuos cianurados generados en el transcurso de todo el proceso de recuperación de oro, en la mayoría de los casos, no son adecuadamente manejados y se convierten en un potencial para generar impactos ambientales que podrían permanecer mucho tiempo después del cierre de operaciones. Los relaves y materiales de desecho mineros pueden contener sulfuros metálicos que, al ser expuestos al oxígeno de la atmósfera, se oxidan y generan un drenaje ácido, ácido sulfúrico y metales en solución, iniciando una fuente de contaminación que luego controlarla es sumamente difícil y costosa.

*Fusarium graminearum*, *Fusarium equiseti* y *Aspergillus parasiticus* (Avcioglu, 2017), son microorganismos que pueden emplearse para degradar cianuro; *Chromobacterium violaceum* puede producir y desintoxicar pequeñas cantidades de cianuro, asimismo, tiene la capacidad de recuperar Au de dispositivos eléctricos desechados (Kita *et al.*, 2006; Correa & Mocha, 2021). Las bacterias *Bacillus* sp., *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcenscens*, *Flavobacterium indicum*, que pueden vivir en una amplia variedad de condiciones ambientales, se están utilizando ampliamente para limpiar contaminantes cianurados, como tratamiento biológico en el medio ambiente (Luque-Almagro *et al.*, 2011; Ntwampe, 2014; Karamba *et al.*, 2016; Mejuto *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2018). La biodegradación de un compuesto requiere la presencia de microorganismos capaces de asimilar dicho compuesto; estos son propios del entorno en el que se lleva a cabo el proceso o pueden ser microorganismos aislados, que posteriormente son adaptados al sitio de contaminación o utilizados en biorreactores (Valera, 2014). Este proceso puede ocurrir de manera espontánea como respuesta del propio ambiente a un impacto específico, o puede ser por microorganismos

que pueden desarrollarse mediante el control de parámetros específicos como los valores de humedad, suministro de nutrientes y oxígeno, pH, parámetros necesarios para el desarrollo de microorganismos, entre otros (Mudder & Botz, 2004).

En este trabajo se tuvo como objetivo aislar y evaluar la eficiencia de *Pseudomonas fluorescens* en la biodegradación del cianuro de un lixiviado de mineral aurífero en condiciones de laboratorio, con el propósito de tener microorganismos degradadores del cianuro para su empleo en la biorremediación de lixiviados cianurados para contribuir con la salud ambiental.

## Materiales y métodos

### Obtención del lixiviado cianurado en condiciones de laboratorio

Se molió con un molino de bolas un mineral aurífero y se le tamizó con una malla 100 (Tyler). El mineral tamizado, 850 g, fue agregado y homogenizado en 2500 ml de agua destilada durante 3 – 5 minutos con un agitador mecánico. A esta suspensión, se agregó cal (0.5 a 5 kg/t) hasta que tuvo un pH de 11, luego cianuro de sodio a razón de 1 g/l (1000 ppm) y se le incubó con agitación durante 24 horas, para que se efectuara la lixiviación. Posteriormente, se le filtró y se le agregó al filtrado 300 g de carbón activado (Calgon Gold Plus, 6X12) que fue agitado a 360 rpm por 24 h y finalmente con una última filtración para obtener una solución llamada Barren. Esta solución, lixiviado cianurado, se conservó para realizar el proceso de biodegradación del cianuro.

### Aislamiento de bacteria biodegradadora de cianuro

Se pesó y agregó 100 g de mineral aurífero a 200 ml de agua destilada estéril, luego se homogenizó por una hora, y se dejó reposar por 5 minutos (Restrepo *et al.*, 2006); después del cual, se tomó 10 ml del sobrenadante que fue agregado a 90 ml de caldo nutritivo. El caldo fue incubado a 30°C durante 24 h; de este tomado inóculo que se diluyeron hasta  $10^{-4}$  y fueron sembrados, todas las diluciones, en placas con agar nutritivo, pH 10, e incubadas a 35 °C por 24 horas (Khamar *et al.*, 2015). Las colonias desarrolladas en las placas Petri representativas se subcultivaron hasta la obtención de cultivos puros, los cuales se mantuvieron en medio de agar nutritivo inclinado a 4 °C. Para la identificación, se realizó coloración Gram, crecimiento bacteriano a 4, 36 y 41 °C, licuefacción de la gelatina, crecimiento en agar glutamato y agar *Pseudomonas P* (MacFaddin, 2003; Garrity, 2010).

### Producción del inóculo biodegradador y biodegradación del cianuro

El cultivo puro aislado de *Pseudomonas* se suspendió en una solución cianurada, pH 10.5, que fue previamente homogenizada durante una hora a 150 rpm a 30 °C, y se sembró e incubó en caldo nutritivo, pH alcalino, a 30 °C por 24 horas. El cultivo se centrifugó y su sobrenadante fue eliminado para la obtención del sedimento como pellet de bacterias, las cuales se emplearon para obtener los inóculos de  $1.75 \times 10^8$ ,  $8.75 \times 10^7$ ,  $5.4 \times 10^6$  cel/ml. Estos fueron inoculados, respectivamente, en tres biorreactores que contuvieron la solución de barren con una concentración de cianuro libre de 250 ppm, pH 10, y que fueron incubados con aireación a temperatura ambiente durante 168 horas para la biodegradación. La evaluación del cianuro libre se hizo cada 24 horas mediante el método titulométrico (Capatinta & Cárdenas, 2020).

Para la determinación de la eficiencia de la biodegradación del cianuro, se utilizó la siguiente fórmula (Kandasamy *et al.*, 2015):

$$DE(\%) = \frac{I_c - F_c}{I_c} \times 100$$

Donde:

$DE$  (%)= Eficiencia de degradación en porcentaje

$I_c$  = Concentración inicial de cianuro (mg/L)

$R_c$  = Concentración final de cianuro (mg/L)

### Análisis Estadístico

En la evaluación de los datos, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para establecer la diferencia entre los tratamientos de diferente concentración celular y la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) para determinar el orden de los mismos.

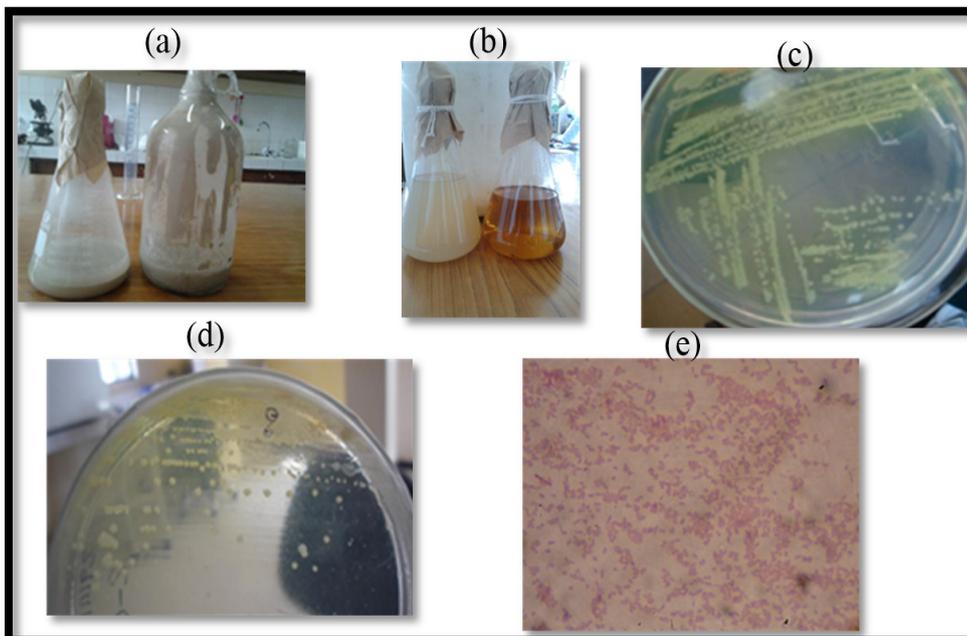
### Resultados

#### Bacterias biodegradadoras del lixiviado cianurado

Se aislaron colonias bacterianas similares capaces de tolerar y degradar el cianuro que correspondió a una sola especie. A una de estas se le subcultivó para obtener el cultivo puro y el inóculo microbiano biodegradador de cianuro. El microorganismo aislado e identificado fue *Pseudomonas fluorescens*.

#### Figura 1

Pasos para el aislamiento e identificación de *Pseudomonas fluorescens*



Nota: Mineral aurífero (a), Enriquecimiento (b), Crecimiento en agar glutamato (c), Bacilo Gram negativo en colonia y coloreado con Gram (d) (e).

#### Biodegradación del cianuro del lixiviado del mineral aurífero

En el proceso de biodegradación (Tabla 1) se muestra que donde más se degradó cianuro fue en el tratamiento que tuvo como inóculo la mayor concentración de células ( $10^8$  cel/ml). En este tratamiento de un total de 250 ppm de cianuro, solo quedó 3.75 ppm (98.5 %). A pesar que no se registraron diferencias significativas entre tratamientos de diferente concentración celular, se logró una elevada degradación del cianuro. Lo que podría indicar que *Pseudomonas fluorescens* es una bacteria potencial para desarrollar procesos de biodegradación del cianuro.

**Tabla 1***Biodegradación de cianuro del lixiviado de mineral aurífero*

TRATAMIENTO	CIANURO LIBRE ppm	EFICIENCIA
A = $1.75 \times 10^8$ cel/ml	$3.75 \pm 1.7^a$	$98.5 \pm 0.7^a$
B = $8.75 \times 10^7$ cel/ml	$9.7 \pm 0.35^a$	$97 \pm 0.6^a$
C = $5.40 \times 10^6$ cel/ml	$12.5 \pm 3.5^a$	$95 \pm 1.41^a$

Nota: ns: No significativo, \* $p < 0.05$ : Significativo, \*\* $p < 0.01$ : altamente significativo. Las letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey al 5%.

La biodegradación obtenida en el tratamiento A (Figura 2) indica que, conforme transcurrió el tiempo, la concentración de cianuro disminuyó, obteniéndose aproximadamente 4 ppm de cianuro libre, que es un valor superior a los límites establecidos por la normativa internacional. Por lo cual, la eficiencia del proceso (Figura 3) fue alto, pero no lo suficiente para que el cianuro no degradado estuviera debajo de los límites establecidos; sin embargo, se evidencia que la bacteria empleada tuvo un gran potencial biodegradador. Lo obtenido en los tratamientos B y C mostraron una tendencia similar al A en la biodegradación, pero con un poco menos de valor, lo que significa que la concentración microbiana es muy importante para la degradación del cianuro.

**Figura 2**

*Curvas de la biodegradación de cianuro según los tratamientos de concentración celular de Pseudomonas fluorescens.*

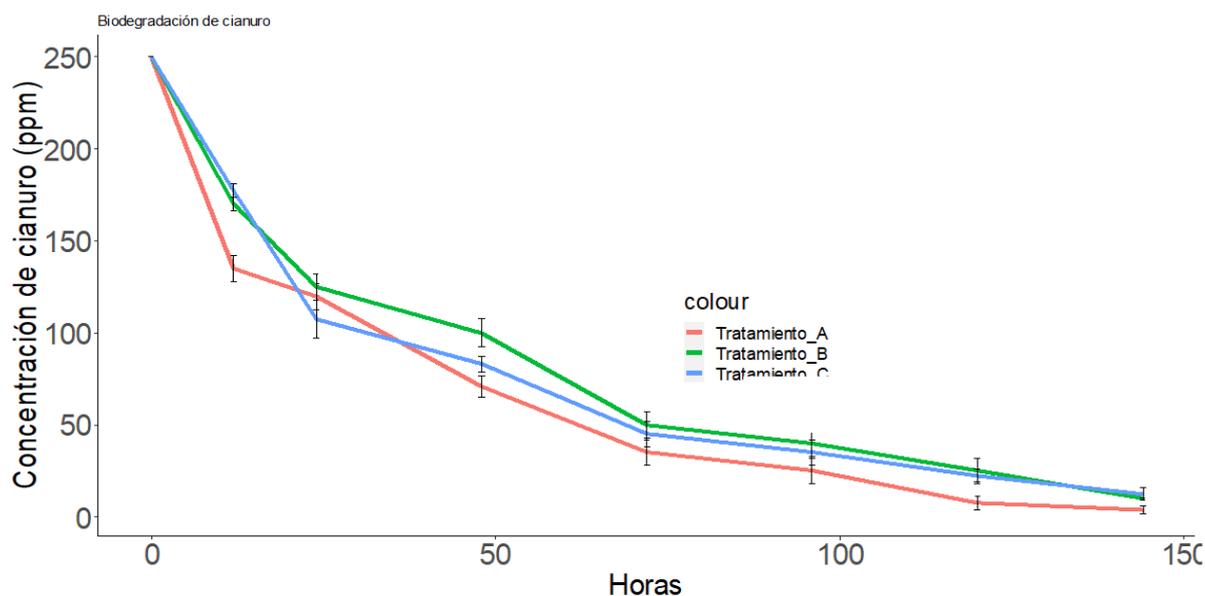
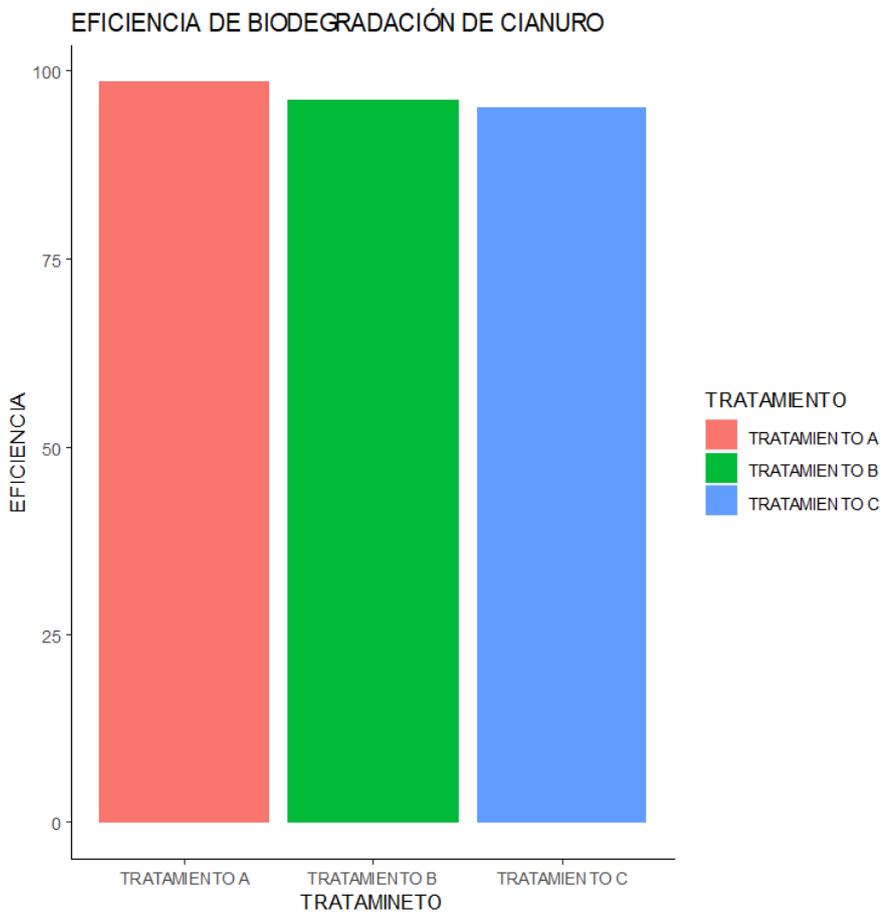


Figura 3  
Eficiencia de la degradación de cianuro del lixiviado del mineral aurífero.



## Discusión

Los resultados muestran que el proceso de biodegradación del cianuro utilizando *Pseudomonas fluorescens* nativo, aislado de lixiviado de mineral aurífero, podría ser considerado como una alternativa para degradar compuestos tóxicos a nivel industrial, considerando que los resultados obtenidos en la eficiencia de degradación del cianuro fueron altos, a pesar que solo se realizó a nivel de laboratorio. *Pseudomonas*, durante su metabolismo, emplea al cianuro como fuente de carbono y nitrógeno, convirtiéndolo en amoníaco y dióxido de carbono (Saavedra, 2018; Copari, 2020).

La eficiencia de degradación del cianuro por *Pseudomonas* se evidenció por la disminución de la concentración de cianuro libre inicial presente en los biorreactores aireados, que de 250 ppm en su inicio disminuyó a 3.75 ppm en el tratamiento A, 10 ppm en el tratamiento B y 12.5 ppm para el tratamiento C; por lo que la curva de concentración de cianuro libre presente en los tratamientos tuvo una pendiente negativa. Esta eficiencia es mejor cuando la concentración de células del inóculo es de  $1.75 \times 10^8$  cel/ml; sin embargo, la capacidad degradadora de *Pseudomonas* no fue suficiente para degradar al cianuro hasta niveles por debajo de los límites permitidos por las normas internacionales (menos de 2 ppm) (Martínez *et al.*, 2016).

El análisis de varianza de degradación de cianuro evidenció que no hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Sin embargo, hubo diferencia significativa en el consumo de sustrato

por día, teniendo en cuenta la concentración bacteriana y el tiempo de evaluación. Para el factor días de evaluación se encontraron diferencias altamente significativas, lo que indica que en uno de los días hubo mayor degradación. Para el factor concentración bacteriana, se evidencia diferencias altamente significativas, es decir, que una de las concentraciones obtuvo un mayor promedio de degradación. Por otro lado, para el factor interacción no se encontraron diferencias estadísticas, lo cual señala que ambos factores actuaron independientemente. Estos resultados son confiables considerando el coeficiente de variación de 4.923 % obtenido, aceptable para las condiciones del experimento desarrollado en laboratorio. Estos resultados muestran la gran capacidad degradadora de *Pseudomonas*, similar a una muestra de agua que tuvo una concentración inicial de 200 ppm de cianuro a un pH 10; *Pseudomonas aeruginosa* degradó cianuro en 15 días hasta una concentración de 11.5 ppm; y cuando se tuvo una concentración inicial de 500 ppm de cianuro a un pH 10, se obtuvo una concentración final de 12.6 ppm en 15 días (Agudelo *et al*, 2010; Soto, 2021)

Restrepo *et al.* (2006) determinaron la biodegradación de cianuro con la cepa nativa de *Pseudomonas fluorescens*, a diferentes concentraciones de cianuro de sodio y en un periodo de evaluación de 236 horas, el resultado fue la degradación de más del 90 % de cianuro de una concentración inicial de 600 ppm, y de aproximadamente 98 % de degradación de cianuro, cuando se tiene una concentración inicial de 200 ppm. En otra investigación, Calisaya & Castillo (2020) obtuvieron una degradación del cianuro con *Klebsiella* en un porcentaje mucho menor al obtenido en este trabajo.

La velocidad de degradación depende tanto del tipo de microorganismo, como de la concentración inicial de cianuro en el medio. A mayor concentración de cianuro, mayor es el tiempo de degradación y por ende la velocidad es menor, esto guarda relación con el pH que se mantiene entre 9.5 y 10, por lo que se garantiza que la reducción de concentración de cianuro por acción de la biodegradación sea por el microorganismo y no por la volatilización del cianuro (Copari & Cáceda, 2020).

## Conclusiones

La bacteria *Pseudomonas fluorescens*, aislada de un lixiviado de mineral aurífero, con una concentración celular de  $1.75 \times 10^8$ ;  $8.75 \times 10^7$  y  $5.47 \times 10^6$  cel/ml degradó respectivamente 246.25 (98.5%), 240 (96%) y 237.5 (95%) ppm de cianuro libre, de una concentración inicial total de 250 ppm; demostrando una alta eficiencia en la degradación del cianuro libre, pH 10, y a temperatura ambiente en condiciones de laboratorio, por lo que se constituye en un microorganismo potencial para ser utilizado en los procesos de tratamiento de descianuración de lixiviados cianurados.

## Referencias

- Agudelo, R.M., Betancur U., J., & Jaramillo C., Carmen L. (2010). Biotratamiento de residuos cianurados y su relación con la salud pública. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 28 (1): 7-20.
- Akcil, A. (2003a). Destruction of cyanide in gold mill effluents: Biological and chemical treatments. *Biotechnology Advances*, 21(6), 501–511. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(03\)00099-5](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00099-5)
- Akcil, A. (2003b). Destruction of cyanide in gold mill effluents: Biological and chemical treatments. *Biotechnology Advances*, 21(6), 501–511. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(03\)00099-5](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00099-5)

- Avcioglu, N. H., & Seyis Bilkay, I. (2016). Biological treatment of cyanide by using *Klebsiella pneumoniae* species. *Food Technology and Biotechnology*, 54(4), 450–454. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4518>
- Calizaya, J., & Castillo, D. (2020). Aislamiento y capacidad degradadora de cianuro de *Klebsiella* sp. de la planta de tratamiento de aguas residuales de Magollo, Tacna-Perú. *Ciencias*, 4.
- Capatinta, F., & Cárdenas, A. (2020). *Análisis de los métodos de degradación de cianuro en los relaves generados por las mineras auríferas* (tesis). Universidad Católica San Pablo. Arequipa. Perú.
- Copari, A., Carpio, M., & Cáceda, C. (2020). Optimización de factores físico químicos en la biodegradación de cianuro por *Klebsiella* sp. ART1, en biorreactor aireado. *Revista Ciencia & Desarrollo* (19), 26 (1) 20 – 31.
- Correa A., Boanerges R., & Mocha A., Joseph M. (2021). *Tratamiento de aguas residuales mediante biodiscos en la planta de beneficio reina del cisne, El Pache-Portovelo-El oro* (tesis). Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca-Ecuador.
- Kita, Y., Nishikawa, H., & Takemoto, T. (2006). Effects of cyanide and dissolved oxygen concentration on biological Au recovery. *Journal of Biotechnology*, 124(3), 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.01.038>
- Kuyucak, N., & Akcil, A. (2013). Cyanide and removal options from effluents in gold mining and metallurgical processes. *Minerals Engineering*, 50–51, 13–29. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2013.05.027>
- Martínez, M., Ferro, E., & De Pablos, F. (2016). Evaluation of free cyanide in superficial waters of river Paraguay nearby a Steel industry. *Revista Boliviana de Química*, 33 (2), 88-94.
- Mudder, T., & Botz, M. (2004). Cyanide and society: a critical review. *European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection*, 4(1), 62–74. [https://doi.org/10.1016/j.mineng.2013.05.027](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.01.038)
- Murillo, A., & Montañez, M. (2022). *Capacidad fitoremediadora del Schoenoplectus americanus y Eichhornia crassipes sobre la concentración de cianuro en el efluente de la mina Paltarumi S.A.C. Barranca, 2020* (tesis). Universidad Católica Sede Sapientiae. Barranca. Perú.
- Razanamahandry, L. C., Andrianisa, H. A., Karoui, H., Podgorski, J., & Yacouba, H. (2018). Prediction model for cyanide soil pollution in artisanal gold mining area by using logistic regression. *Catena*, 162, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.11.018>
- Saavedra, J. (2018). *Degradación del cianuro de sodio por bacterias aisladas de efluentes cianurados de la zona minera artesanal, Huamachuco- La Libertad* (tesis). Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.
- Shin, D., Jeong, J., Lee, S., Pandey, B. D., & Lee, J. C. (2013). Evaluation of bioleaching factors on gold recovery from ore by cyanide-producing bacteria. *Minerals Engineering*, 48, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2013.03.019>

- Xiong, Y., Gao, Y., Yin, W. Ying & Luan, Y. Xia. (2008). Molecular phylogeny of Collembola inferred from ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(3), 728–735. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.09.007>
- Restrepo, O., Montoya, C., & Muñoz, N. (2006). Degradación microbiana de cianuro procedente de plantas de beneficio de oro mediante una cepa nativa de *P. fluorescens*. *Dyna*, 73(149), 46-51. <https://www.redalyc.org/pdf/496/49614905.pdf>
- Soto, K. (2021). *Estudio sobre la capacidad de biorremediación de bacterias Pseudomonas* (tesis). Universidad Estatal Península de Santa Ana. La Libertad. Ecuador.