



## EFICIENCIA BIODEGRADATIVA DE CIANURO POR *Pseudomonas* sp.

### BIODEGRADATIVE EFFICIENCY OF CYANIDE BY *Pseudomonas* sp.

Gaudhy Sujhey Chávez-Pasco<sup>1\*</sup>; Carlos Eduardo Villanueva-Aguilar<sup>2</sup>; Rafael Yerko Zevallos-Bueno<sup>3</sup>  
Robinson León-Zuloeta<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Postgrado, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n - Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Av. Juan Pablo XXIII 391 – Lambayeque, Lambayeque, Perú.

<sup>3</sup>Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

<sup>4</sup>Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.

Gaudhy Sujhey Chávez-Pasco  <http://orcid.org/0000-0002-7676-4117>  
Carlos Eduardo Villanueva-Aguilar  <http://orcid.org/0000-0002-7780-896X>  
Rafael Yerko Zevallos-Bueno  <http://orcid.org/0000-0001-5805-0447>  
Robinson León Zuloeta  <http://orcid.org/0000-0002-5169-7763>

#### Artículo Original

Recibido: 21 de agosto de 2022

Aceptado: 21 de noviembre de 2022

#### Resumen

*Pseudomonas* sp. es una de las bacterias ampliamente estudiada en el manejo del medio ambiente por su capacidad biodegradativa, en ese sentido el objetivo de la presente investigación fue evaluar la eficiencia biodegradativa de cianuro por *Pseudomonas* sp. a diferentes tiempos de incubación. El estudio tuvo un diseño donde 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  $\text{AgNO}_3$  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.

**Palabras clave:** Biodegradación, cianuro, *Pseudomonas* sp., tiempo de incubación

#### Abstract

*Pseudomonas* sp. is one of the bacteria widely studied in environmental management due to its biodegradative capacity, in this sense the objective of the present investigation was to evaluate the biodegradative efficiency of cyanide by *Pseudomonas* sp. at different incubation times. The study had a design, as a control group a physiological outlet solution and a bioreactor with a bubble column were used, each bioreactor contained 450 ml of MBSMG at a concentration of 500 ppm of cyanide and a pH of 8, with an inoculum at a concentration of  $1.5 \times 10^8$  cells per milliliter. The cyanide concentration was assessed by titration with  $\text{AgNO}_3$  and KI. The results obtained show a cyanide biodegradation efficiency of 92.3% at 3 days of incubation, 85.8% at 7.5 days and 75.9% at 12 days; also finding an inverse correlation of 0.985 between the biodegradation efficiency and the incubation time of the bacteria by means of the Pearson Correlation. It is concluded that the highest biodegradative efficiency of *Pseudomonas* sp. after 3 days of incubation.

**Keywords:** Biodegradation, cyanide, *Pseudomonas* sp., incubation time

\*Autor para correspondencia: E. mail: [gaudhychp@gmail.com](mailto:gaudhychp@gmail.com)

DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2022.42.02.03>

Citar como:

Chávez-Pasco, G., Villanueva-Aguilar, C., Zevallos-Bueno, R. & León-Zuloeta R. 2022. Eficiencia biodegradativa de cianuro por *Pseudomonas* sp. REBIOL, 42(2): 85-90.



## 1. Introducción

Justo et al. (2016) señalan que el cianuro es un compuesto extremadamente tóxico para los organismos vivos, ya que actúa como un inhibidor metabólico que forma complejos muy estables con metales de transición, los que son esenciales para el funcionamiento normal de las proteínas. En la naturaleza, hay bacterias, algas, hongos y muchas plantas, que son capaces de producir cianuro; sin embargo, la contaminación del medio ambiente con cianuro se debe principalmente a las actividades humanas (Alvillo-Rivera, 2021); en este sentido, las industrias mineras, de galvanoplastia y joyería emiten efluentes con una alta concentración de cianuro, lo que produce una elevada contaminación ambiental (Igeño et al., 2017; Cornejo, 2016).

La toxicidad del cianuro y la conciencia sobre esta problemática ha provocado que se lleven a cabo investigaciones continuas para reducir o eliminar el nivel de cianuro en las aguas residuales que lo contienen (Morillo y Guevara, 2015). Los tratamientos químicos empleados para la depuración del cianuro incluyen la cloración alcalina, el proceso  $\text{SO}_2/\text{AIR}$  (INCO) y el peróxido de hidrógeno catalizado por cobre. Sin embargo, estos métodos han conducido a un alto consumo de productos químicos y la formación de productos intermedios tóxicos, que son complejos de manejar y de alto costo; por lo tanto, la biodegradación del cianuro por bacterias es una alternativa atractiva más eficiente, ecológica y rentable; habiéndose identificado bacterias y hongos como fuentes para la biodegradación biológica del cianuro (Quispeayala y Zárata, 2020; Zapata, 2020)

Algunos trabajos sobre el aislamiento de varios microorganismos con la capacidad de biodegradar el cianuro proporcionan una mejor plataforma para maximizar el potencial de biodegradación del cianuro (Cardona, 2015). Una investigación utilizó cepas de *Rhodococcus* aisladas de plantas cianogénicas en Malasia peninsular para la biorremediación del cianuro, esta cepa pudo metabolizar hasta 312 mg/L de cianuro (Incacayo y Salas, 2019; Tiong et al., 2015).

Los microorganismos utilizan diferentes vías enzimáticas para biodegradar el cianuro en compuestos menos tóxicos como amoníaco, dióxido de carbono, ácido fórmico o formamida, habiéndose encontrado que varios microorganismos son útiles para biodegradar cianuro; por ejemplo *Burkholderia cepacia*, cepa C-3 utiliza el cianuro como fuente de nitrógeno para el crecimiento produciendo amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ); mientras *Klebsiella oxytoca* es capaz de biodegradar el cianuro en amoníaco y metano (Agencia

para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2006; Apaza et al., 2021).

En tal sentido, el objetivo de la investigación fue evaluar la eficiencia biodegradativa del cianuro por *Pseudomonas* sp. a diferentes tiempos de incubación.

## 2. Materiales y Métodos

**Material biológico:** *Pseudomonas* sp, proporcionada por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

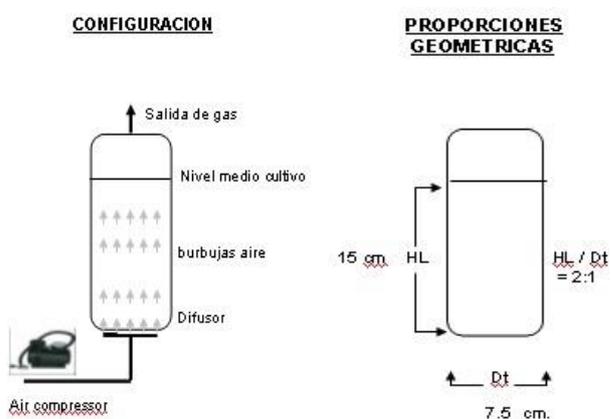
El diseño del estudio correspondió al correlacional, el cual fue evaluado estadísticamente mediante la prueba inferencial de correlación de Pearson (Hernández et al., 2014).

### Preparación del inóculo bacteriano

La bacteria previamente identificada y reactivada en caldo de cultivo fue adaptada aplicando 250 ml de Medio Base Sales Minerales-Glucosa (MBSMG) a un pH de 8 y una concentración de 500 ppm de cianuro en columna de burbujeo, y luego de 24 horas se comprobó su adaptación mediante sembrado en placa, la densidad celular del inóculo fue de  $1,5 \times 10^8$  células por mililitro.

### Fabricación del biorreactor

Los biorreactores empleados fueron fabricados a partir de envases de vidrio con capacidad de 500 mL, ajustados al diseño de un fermentador estándar, como el que se muestra a continuación.



Fuente: Villanueva, 2008

Figura 1. Diseño del Biorreactor

### Inicio de la Biodegradación

Los biorreactores contenían 450 ml de MBSMG con concentraciones de 500 ppm de cianuro y un pH de 8; el inóculo a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  células por mililitro fue agregado en un 15% del volumen total, el equipo opero con agitación constante y aireación por 3; 7,5 y 12 días.

### Determinación de la concentración del cianuro

Para la determinación del cianuro se registró el método volumétrico, tomando como agente titulante  $\text{AgNO}_3$  y KI como indicador, el cambio de incoloro a amarillento indica el final de la titulación (Sogorb y Vilanova, 2016).

### Eficiencia de Biodegradación:

Se aplicó la siguiente fórmula

$$E = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

Donde:

$E$  = Eficiencia de Biodegradación

$C_i$  = Concentración inicial

$C_f$  = Concentración final

## 3. Resultados

Tabla 1. Eficiencia de la biodegradación de cianuro en función del tiempo de incubación

ENSAYOS N°	VARIABLES		EFICIENCIA (%)
	Tiempo de incubación	Cianuro biodegradado	
1	3	462,5	92,5
2	3	456,5	91,3
3	3	466,0	93,2
4	3	462,5	92,5
5	3	459,5	91,9
<b>Promedio</b>		<b>461,4</b>	<b>92,3</b>
6	7.5	432,5	86,5
7	7.5	426,5	85,3
8	7.5	436,5	87,3
9	7.5	425,5	85,1
10	7.5	424,5	84,9
<b>Promedio</b>		<b>429,1</b>	<b>85,8</b>
11	12	379,5	75,9
12	12	384,0	76,8
13	12	375,0	75,0
14	12	374,0	74,8
15	12	386,0	77,2
<b>Promedio</b>		<b>379,7</b>	<b>75,9</b>

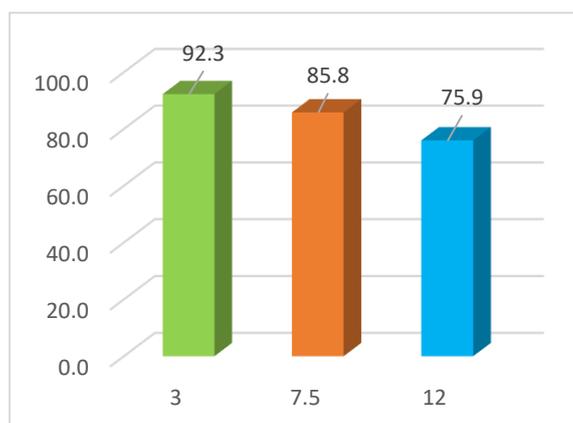


Figura 2. Eficiencia de la biodegradación de cianuro en función del tiempo de incubación a pH = 8 y 500 ppm de cianuro.

En la tabla 1 y figura 1, se muestra la cantidad de cianuro de sodio en ppm biodegradado por *Pseudomonas* sp. en función del tiempo a un pH=8; y una concentración de 500 ppm de cianuro de sodio, la eficiencia de

biodegradación obtenida es mayor a los 3 días de incubación, en tal sentido, se observa que existe una relación inversa entre el tiempo de incubación y la eficiencia de biodegradación.

**Tabla 2.** Porcentaje de la eficiencia de biodegradación (%) en relación al tiempo de incubación de *Pseudomonas* sp.

N° ENSAYOS	VARIABLES			Ci (ppm)	Cf (ppm)	Cd (ppm)	Eficiencia (Ci - Cf)/Ci x 100 (%)
	Tiempo de incubación (días)	pH					
Grupo 1	3	8		500	37,5	462,5	92,5
	3	8		500	43,5	456,5	91,3
	3	8		500	34,0	466,0	93,2
	3	8		500	37,5	462,5	92,5
	3	8		500	40,5	459,5	91,9
Grupo 2	7,5	8		500	67,5	432,5	86,5
	7,5	8		500	73,5	426,5	85,3
	7,5	8		500	63,5	436,5	87,3
	7,5	8		500	74,5	425,5	85,1
	7,5	8		500	75,5	424,5	84,9
Grupo 3	12	8		500	120,5	379,5	75,9
	12	8		500	116,0	384,0	76,8
	12	8		500	125,0	375,0	75,0
	12	8		500	126,0	374,0	74,8
	12	8		500	114,0	386,0	77,2

Ci = cianuro sodio inicial (ppm)

Cf = cianuro sodio final (ppm)

Cd = cianuro sodio biodegradado (ppm)

En la tabla 2, se muestra la cantidad de cianuro de sodio biodegradado en cada ensayo considerando una concentración inicial de cianuro de 500 ppm, a un pH = 8, los valores más altos de cianuro biodegradado

corresponden al grupo 1, donde las cepas de *Pseudomonas* sp. solo tuvieron un periodo de incubación de 3 días, comparado con el resto de los ensayos a mayores tiempos.

**Tabla 3.** Determinación de la distribución normal de los datos recolectados

Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	
Diámetro de inhibición	Grupo 1	0,967	5	0,859
	Grupo 2	0,871	5	0,272
	Grupo 3	0,913	5	0,485

La tabla 3 muestra el análisis de la distribución normal de los datos mediante la prueba de Shapiro - Wilk, donde se observa que el valor de significancia es superior a 0,05;

por tal razón, se confirma que los datos recolectados presentan distribución normal.

Tabla 4. Determinación de la correlación entre las variables de tiempo de incubación y eficiencia de biodegradación

		Correlaciones	
		Eficiencia de Biodegradación CN	Tiempo de incubación
Eficiencia de Degradación CN	Correlación de Pearson	1	-0,985**
	Sig. (bilateral)		0,000
	N	15	15
Tiempo de incubación	Correlación de Pearson	-0,985**	1
	Sig. (bilateral)	0,000	
	N	15	15

\*\* La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

En la tabla 4, se realiza el análisis estadístico de la correlación entre las variables tiempo de incubación y la eficiencia en la biodegradación del cianuro por *Pseudomonas* sp., mediante la prueba de correlación de Pearson, encontrando una fuerte correlación inversa para esta relación entre las variables con nivel de significancia bilateral de 0,00 y una fuerza de correlación de 0,985.

#### 4. Discusión

Dentro de las bacterias que han sido investigadas en los últimos años destaca *Thiobacillus* y *Pseudomonas*, siendo esta última la más estudiada por las condiciones adaptables al medio ambiente, su alta resistencia a diferentes climas y medios, además de su diversidad metabólica como señala Huertas et al. (2010), en tal sentido, se han evaluado los factores de concentración de cianuro, pH, humedad, temperatura, tipo de nutrientes, entre otros, pero existen escasos estudios que evalúen el tiempo de incubación apropiado de la bacteria en relación a su eficiencia de biodegradación (Huertas et al., 2010).

En la presente investigación, se obtuvo una eficiencia de biodegradación de 92,3% para un tiempo de incubación de 3 días, estos resultados obtenidos confirman que existe una relación inversa entre el tiempo de incubación de la bacteria *Pseudomonas* sp. y la eficiencia de biodegradación del cianuro evaluado a un pH=8,0 y una concentración de 500 ppm de cianuro de sodio, con respecto a los tiempos de incubación de 3 días; 7,5 días y 12 días ensayados; lo que explicaría la mayor eficiencia de biodegradación que presenta *Pseudomonas* sp. con un tiempo de incubación menor, por su parte Villanueva

(2008) en su investigación obtuvo una eficiencia de biodegradación del 50%, pero esta investigación se llevó a cabo a un pH de 9,0 y se empleó *Pseudomonas fluorescens*, situación que puede marcar las diferencias entre ambos estudios.

Por otro lado, existe un factor que involucraría evaporación del cianuro en su forma de cianuro de hidrógeno (HCN) como lo afirman Agudelo et al. (2010) y Huertas et al. (2010); indicando que la volatilización del cianuro de hidrógeno tóxico (HCN) se evita mediante el uso de un medio alcalino para el tratamiento, siendo el pH apropiado el de 10, sin embargo, difícilmente se encuentra crecimiento bacteriano a este nivel de pH, por tal razón, debe evaluarse a otros niveles de pH, situación que llevó a plantear el tratamiento a un pH de 8 y mejorar el crecimiento bacteriano lo que pudo mejorar la eficiencia de biodegradación del cianuro (Agudelo et al., 2010; Huertas et al., 2010).

Otros factores, además de la eficiencia de biodegradación del cianuro que presenta *Pseudomonas* sp. se menciona que también biodegrada otros tipos de compuestos de tipo nitrilos como acrilonitrilo, acetonitrilo, adiponitrilo, benzonitrilo, nitrilos saturados alifáticos, alifáticos olefinicos, aromáticos y aralquilos en sus correspondientes ácidos carboxílicos, como lo menciona Li et al. (2010).

Por tal motivo, el presente estudio demuestra que el empleo de *Pseudomonas* sp., es una importante forma para descontaminar mediante el tratamiento del agua de las zonas con altas concentraciones de cianuro, como suele observarse en zonas mineras; así mismo; existe un campo más amplio de aplicación de esta bacteria, como en los tratamientos de los desechos de las industrias que

pueden ser investigados como las industrias de plástico, industrias petroquímicas, entre otras (Piscocya, 2019).

## 5. Conclusiones

La eficiencia biodegradativa del cianuro por *Pseudomonas* sp. presentó a los 3 días de incubación, evaluado a un pH=8 y a una concentración de 500 ppm en cada ensayo.

## 5. Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Trujillo por sus instalaciones y la contribución del material Biológico. Al Q.F. Segundo Martín Silva Romero por brindar el apoyo en material y reactivos al estudio.

## 6. Contribución de los autores

GSCP: En la concepción y el diseño del estudio, RLZ: La adquisición de datos, RYZB: El análisis y la interpretación de los datos, CEVA: La aprobación definitiva de la versión que se presenta.

## 7. Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## 8. Referencias Bibliográficas

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). (2006). Resumen de Salud Pública: Cianuro (Cyanide). [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs8.pdf](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs8.pdf).
- Agudelo, R., Betancur, J., y Jaramillo, C. (2010). Biotratamiento de residuos cianurados y su relación con la salud pública. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 28(1), 7-20.
- Alvillo-Rivera, A., Garrido-Hpyos, S., Buitrón, G., Thangarasu-Sarasvathi, P., Rosano-Ortega, G. (2021). Biological treatment for the degradation of cyanide: A review. *Journal of Materials Research and Technology*, 12, 14189-1433.
- Apaza, H., Rojas, Y., Mamani, E., y Chura, V. (2021). Microorganismos empleados para la biorremediación de efluentes mineros con cianuro. *Aporte Santiaguino*, 14(1), 120-137.
- Cardona, E. (2015). Microorganismos potenciales degradadores de cianuro en residuos de minería de oro. [Tesis para maestro, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia].
- Cornejo, M. (2016). Biorremediación de relaves mineros con un consorcio microbiano nativo caracterizado molecularmente y productor de enzimas degradadoras de cianuro y derivados. [Tesis para maestro, Universidad Nacional de Tumbes, Perú].
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). Metodología de la Investigación. (6ta ed.). México D.F. México. Mc Graw Hill.
- Huertas, M., Sáez, L., Roldán, M., Luque, M., Blasco, R., Castillo, F., Moreno, C., y García, I. (2010). Alkaline cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 in a batch reactor. Influence of pH. *Journal of Hazardous Materials*, 179 (1-3), 72-78.
- Igeño, M., Orovengua, E., Guijo, M., Merchán, F., Quesada, A., y Blasco, F. (2007). Biodegradation of cyanide-containing wastes by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trend in Applied Microbiology*. 1
- Incacayo, C., y Salas, J. (2019). Biodegradación del cianuro de los relaves de lixiviación de oro con bacterias que descomponen la Manihot esculenta (yuca) en la unidad minera Porvenir S.A.C. [Tesis para título. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Perú].
- Justo, S., Saldaña, C., Monge, C., Vallenás, A., Alvarez, C., y Tenorio, J. (2016). Salmonelosis en los cuyes y Contaminación por cianuro. Encuentro Científico Internacional (ECI). <https://eciperu.net/2016/11/16/salmonelosis-en-los-cuyes-y-contaminacion-por-cianuro/>
- Li, T., Liu, J., Bai, R., & Ohandja, D. (2010). Biodegradation of organonitriles by adapted activated sludge consortium with acetonitrile-degrading microorganisms. *Water Research*, 41(15), 3465-3473.
- Morillo, J., Guevara, J. (2015). Degradación de cianuro de sodio por *Pseudomonas* sp a dos temperaturas y tre pH. *Rebiolest*, 1(3),23-32.
- Piscocya, J. (2019). Minería y Contaminación Ambiental en Piura. *Revista ECIPERU*. <https://revistas.eciperu.net/index.php/ECIPERU/article/view/246/237>
- Quispeayala, F., y Zárate, O. E. (2020). «Tratamiento de los relaves con contenido de cianuro por medio de la interacción de bacterias y compuestos inorgánicos en PLH minera S.A.C. Planta opción Chala- Arequipa 2019». [Tesis para título. Universidad Nacional del Centro del Perú].
- Sogorb, M., y Vilanova, E. (2016). Técnicas Analíticas de Contaminantes Químicos. Diaz de Santos S.A.
- Tiong, B., Bahari, Z., Irwan, N., Jaafar, J., Ibrahim, Z., & Shahir, S. (2015). Cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* strain W2 isolated from mining effluent. *Sains Malaysiana*, 44(2), 233-238.
- 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.
- Zapata, E. (2020). Revisión documental de microorganismos capaces de degradar cianuro presente en aguas residuales industriales. *Agricolae & Habitat*, 3(1).