



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
AMBIENTAL – AGUA

BIODEGRADACIÓN DE CIANURO EN RELAVES MINEROS
MEDIANTE REACTORES DE BIOMASA SUSPENDIDA Y
DE LECHO MÓVIL

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN INGENIERÍA

PRESENTA:
M. I. ANGÉLICA JULIETA ALVILLO RIVERA

TUTOR PRINCIPAL
DRA. SOFÍA ESPERANZA GARRIDO HOYOS, FACULTAD DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR
DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA
DR. PANDIYAN THANGARASU SARASVATHI, FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: DR. IVÁN MORENO ANDRADE
Secretario: DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ
1 er. Vocal: DRA. GENOVEVA ROSANO ORTEGA
2 do. Vocal: DR. PANDIYAN THANGARASU SARASVATHI
3 er. Vocal: DRA. SOFÍA ESPERANZA GARRIDO HOYOS

Lugar donde se realizó la tesis:

INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA

TUTOR DE TESIS:

DRA. SOFÍA ESPERANZA GARRIDO HOYOS

FIRMA

DEDICATORIAS

A Dios, por todo lo que me ha dado.

A mis padres Angélica Rivera Gómez y Francisco Félix Alvillo Martínez, por mostrarme el camino que debía de seguir, por su amor, consejos e infinito apoyo.

A mi hermana Mónica Lizette Alvillo Rivera, por apoyarme en cada una de mis decisiones y por estar presente en todos los momentos de mi vida.

A mis hijos Francisco Joel Ríos Alvillo y Máximo Daniel Villegas Mendoza, por ser mis dos grandes ilusiones y motivaciones, por darme la fuerza para salir adelante y por el enorme e incondicional amor que me brindan día con día.

A mi amado esposo Iván Emmanuel Villegas Mendoza por su amistad y cariño, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por devolverme la fe en el amor y darme una hermosa familia.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización del Doctorado en Ingeniería Ambiental.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) por el apoyo brindado para la realización del trabajo de tesis.

A la Dra. Sofía Esperanza Garrido Hoyos, por darme la oportunidad de trabajar bajo su tutoría, por brindarme su amistad, por no descuidar su compromiso con mi persona bajo ninguna circunstancia y por una mujer digna de admirar y considerar un ejemplo a seguir no solo como profesionista, sino también como persona.

A los Dr. Germán Buitrón Méndez y Dr. Pandiyan Thangarasu Sarasvathi, por estar presentes en cada uno de mis seminarios durante estos cuatro años y porque gracias a sus comentarios he logrado ser una mejor profesionista.

A los honorables miembros del jurado la Dra. Genoveva Rosano Ortega y el Dr. Iván Moreno Andrade, por sus valiosas aportaciones al presente trabajo.

A la Ing. Cristina Aráoz Trejo, por su paciencia y asesoramiento en cada duda y trámite realizado.

Al M. I. Iván Emmanuel Villegas Mendoza por su asesoría en los aspectos técnicos y conceptuales, además de ser un modelo ejemplar de profesionista.

A los Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga y Dr. Jesús Hernández Romano por su amistad, por transmitirme parte de sus conocimientos e instruirme con paciencia y dedicación.

A la M. Laura Isabel Carrillo Flores, a la Biol. Lorena Castillo Rodríguez, al M. Manuel Sánchez Lara y al Ing. Ernesto Bahena Castro por el apoyo técnico especializado para el desarrollo de esta tesis.

A los Ingenieros Aceadeth Altamirano Deaquino, Brandon Lagunas Contreras y Amayrani Carmona Ramírez, por su amistad y ayuda en el desarrollo experimental durante mi tema de investigación doctoral.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Posgrado del IMTA/UNAM: Gloribel Vázquez, Sasirot Khamkure, Diana Hernández, Maribel Zuluaga, Salvador Nañez, Amisadai González Aburto, Genaro Balderas, Eulalio Rodríguez Jacobo, Maria Teresa Rodríguez, Ariadna Ocampo y Karina García, por hacer la estancia en el laboratorio más amena, con sus relatos y convivencias.

RESUMEN

La minería es considerada como una actividad básica a nivel mundial y México se encuentra entre los principales países con esta rama industrial, contribuyendo en gran medida a su desarrollo económico. Mundialmente se encuentra en segundo lugar como productor de plata y en octavo como productor de oro. Durante la recuperación de dichos metales preciosos, se lleva a cabo el proceso llamado hidrometalurgia, el cual consiste en la extracción de la roca y su posterior puesta en contacto con soluciones cianuradas ($100\text{-}500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCN o KCN). Una vez recuperado el oro o la plata, mediante técnicas de adsorción con carbón activado o zinc, se generan aguas residuales (relaves mineros o jales) que se caracterizan por estar compuestas por cianuro y metales pesados variables.

El cianuro se encuentra en nuestro entorno de manera natural, ya sea en animales, insectos, plantas y/o frutos. Sin embargo, su uso en la hidrometalurgia ha ido en aumento y con ello la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías para el tratamiento de sus desechos (relaves mineros). Además de su alto contenido de cianuro, los relaves presentan un problema adicional debido al contenido de metales y otros contaminantes. Por lo tanto, se han desarrollado estrategias convencionales (físicoquímicas) para la reducción de la contaminación de los relaves, como lo son sistemas de coagulación floculación, adsorción, membranas y oxidación con ozono o cloro. No obstante, estas presentan altos costos de operación y generación de subproductos no deseados.

Se ha incursionado en el estudio de estrategias no convencionales para el tratamiento de cianuro libre y acomplejado, como es el uso de hongos, consorcios bacterianos alcalófilos y bacterias puras entre las que se encuentran distintas cepas de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Rhodococcus*, *Escherichia coli*, entre otros. Las cuales basan su importancia en los mecanismos que intervienen en la degradación o modificación de los contaminantes a través del cometabolismo a pH elevados y con ello su transformación en productos no nocivos. Dichos estudios se han realizado a nivel laboratorio mediante biomasa suspendida o biomasa inmovilizada. Esta última, ya sea en empaques naturales (roca de granito, cáscaras de cítricos, celulosa, gravilla) o sintéticos (acero inoxidable, geotextiles, alginato, plásticos). Se han estudiado distintas configuraciones de reactores, dependiendo de su forma de trabajo, ya sea en estado estacionario o continuo.

Esta investigación tuvo como objetivo estudiar la biodegradación de cianuro contenido en relaves mineros mediante un consorcio bacteriano aislado de una presa de jales. Para ello, se realizaron varias etapas. La primera de ellas se denominó etapa microbiológica y consistió en la obtención de dos distintos consorcios microbianos, uno previamente aclimatado con $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cianuro y otro sin aclimatar procedente de una planta de tratamiento de aguas residuales. Con estos inóculos se realizó la evaluación de la biodegradación de cianuro, así como pruebas de biodegradabilidad e inhibición. Además, de la implementación de técnicas para llevar a cabo la preservación, propagación y conteo de microorganismos.

En la segunda etapa, llamada etapa experimental, se determinó en reactores en lote el efecto del pH, temperatura y concentración de inóculo y de tres metales (cobre, hierro y níquel) sobre la biodegradación de cianuro con biomasa suspendida. Una vez establecidos los valores óptimos para llevar a cabo el tratamiento del contaminante, se estudió en sistemas en lote la

influencia en la biodegradación del cianuro al adicionar dos tipos de soportes distintos (Kaldnes y cubos de poliuretano, con áreas superficiales de 500 y 700 m²·m⁻³ respectivamente). Finalmente, se evaluó el tratamiento de relaves mineros procedentes de una minera (Don David Gold) de extracción de oro ubicada en el estado de Oaxaca, México. Para ello se utilizaron tres tipos de reactores tipo Eckenfelder, uno con biomasa suspendida (BS) y dos de lecho móvil, uno con biomasa inmovilizada sobre soportes Kaldnes (BK) y otro sobre cubos de poliuretano (BCP). Los reactores fueron operados durante 141 días variando las concentraciones de cianuro total. Se evaluaron tres concentraciones (26 ± 2 mg·L⁻¹, 40 ± 4 mg·L⁻¹ y 55 ± 4 mg·L⁻¹). Durante toda la operación el pH y la temperatura se mantuvieron en 9.5 unidades y 25°C, mientras que el porcentaje de llenado de los reactores con los soportes fue de un 60% y el inóculo fue de 15% v/v.

Los resultados mostraron que el cianuro es un compuesto biodegradable a pesar de ser tóxico generándose amonio al ser tratado por las bacterias. Se evidenció que con el consorcio previamente aclimatado (MC10) se lograron mejores resultados en cuanto al tiempo de tratamiento en comparación con el inóculo obtenido de la PTAR (MC0). La mayor biodegradación de cianuro (85%) se obtuvo al trabajar con pH de 9.5, temperatura de 25°C y 15% v/v de inóculo. Entre las interferencias presentadas para llevar a cabo la biodegradación de cianuro al encontrarse acompañado con metales, se observó que el cobre causa un efecto inhibitorio sobre las bacterias y, por consiguiente, en la biodegradación de cianuro; sin embargo, este efecto inhibitorio en la biodegradación de cianuro no se presentó al encontrarse acompañado con el hierro o con el níquel (ya sea individual o grupalmente). Los valores óptimos para el cobre, hierro y níquel fueron de 0, 7.7 y 0.46 mg·L⁻¹ respectivamente, en ambos casos la degradación biológica del cianuro dio máximas eficiencias de 97% utilizando 30 mg·L⁻¹ de cianuro inicial. Adicionalmente, se obtuvo que los reactores trabajados en continuo operaron de una manera más eficiente que los reactores en lote. Lo anterior se atribuye a que en los reactores en lote la concentración de nutrientes fue disminuyendo con el tiempo, en comparación con los operados en continuo cuya concentración se mantuvo constante e incluso aumentó en cada etapa, permitiendo una mayor disponibilidad para los microorganismos y, por ende, que aumentará su capacidad de adaptación al contaminante tóxico estudiado (cianuro).

La biodegradación del cianuro presente en los relaves mineros durante la tercera etapa del tratamiento en continuo de los reactores de biomasa suspendida y biomasa de lecho móvil fue de un 69% (17 mg·L⁻¹) en el reactor BS, mientras que en el BK fue de 93% (3.9 mg·L⁻¹) y en el BCP de 95% (2.5 mg·L⁻¹). El costo total obtenido para tratar 1 m³ de relave minero mediante un tratamiento biológico fue de \$35, el cual se sitúa por debajo de tratamiento físico-químicos como lo son el uso de ozono seguido de un sistema de coagulación-floculación, de oxidación química con peróxido de hidrógeno y de la cloración alcalina. La caracterización microbiana de la biomasa en esta etapa demostró que las familias predominantes en cada uno de los reactores, así como sus respectivas abundancias relativas, fueron para el BS y para el BK de Cyclobacteriaceae (20.65% y 24.64%) y Rhizobiaceae (18.48% y 14.01%) y Halomonadaceae (46.97%) y Hyphomonadaceae (24.94%) en el BCP, y los géneros en el BS de *Paenochrobactrum* (15.22%); en el BK1 de *Nitrosospira* y *Mongolitalea* (8.70%); y en el BCP de *Halomonas* (46.97%).

ABSTRACT

Mining is considered a basic activity worldwide and Mexico is among the main countries with this industrial branch, contributing greatly to its economic development. Worldwide it is in second place as a producer of silver and in eighth as a producer of gold. During the recovery of these precious metals, a process called hydrometallurgy is carried out, which consists of extracting the rock and putting it in contact with cyanide solutions ($100\text{-}500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of NaCN or KCN). Once the gold or silver has been recovered, through adsorption techniques with activated carbon or zinc, wastewater (mine tailings or tailings) is generated that is characterized by being composed of cyanide and variable heavy metals.

Cyanide is found naturally in our environment, whether in animals, insects, plants and/or fruits. However, its use in hydrometallurgy has been increasing and with it the need to develop new technologies for the treatment of its waste (mine tailings). In addition to its high cyanide content, tailings present an additional problem due to the content of metals and other contaminants. Therefore, conventional (physicochemical) strategies have been developed to reduce tailings contamination, such as coagulation, flocculation, adsorption, membrane and oxidation systems with ozone or chlorine. However, these have high operating costs and generation of unwanted by-products.

It has ventured into the study of unconventional strategies for the treatment of free and complexed cyanide, such as the use of fungi, alkaliphilic bacterial consortia and pure bacteria, among which are different strains of *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Rhodococcus*, *Escherichia coli*, among others. Which base their importance on the mechanisms involved in the degradation or modification of pollutants through cometabolism at high pH and thus their transformation into non-harmful products. These studies have been carried out at the laboratory level using suspended biomass or immobilized biomass. The latter, either in natural packaging (granite rock, citrus peel, cellulose, gravel) or synthetic (stainless steel, geotextiles, alginate, plastics). Different configurations of reactors have been studied, depending on their way of working, whether in steady state or continuous.

The objective of this research was to study the biodegradation of cyanide contained in mining tailings by means of a bacterial consortium isolated from a tailings dam. For this, several stages were carried out. The first of these was called the microbiological stage and consisted of obtaining two different microbial consortia, one previously acclimatized with $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of cyanide and the other without acclimatization from a wastewater treatment plant. With these inoculum, the evaluation of cyanide biodegradation was carried out, as well as biodegradability and inhibition tests. In addition, the implementation of techniques to carry out the preservation, propagation and counting of microorganisms.

In the second stage, called experimental stage, the effect of pH, temperature and concentration of inoculum and of three metals (copper, iron and nickel) on the biodegradation of cyanide with suspended biomass was determined in batch reactors. Once the optimum values were established to carry out the treatment of the contaminant, the influence on the biodegradation of cyanide was studied in batch systems by adding two different types of supports (Kaldnes and polyurethane buckets, with surface areas of 500 and $700\text{ m}^2\cdot\text{m}^{-3}$ respectively). Finally, the treatment of mining tailings from a gold mining company (Don

David Gold) located in the state of Oaxaca, Mexico, was evaluated. For this, three types of Eckenfelder-type reactors were used, one with suspended biomass (BS) and two with moving beds, one with biomass immobilized on Kaldnes supports (BK) and the other on polyurethane cubes (BCP). The reactors were operated for 141 days varying the concentrations of total cyanide. Three concentrations were evaluated ($26 \pm 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $40 \pm 4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $55 \pm 4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Throughout the operation, the pH and temperature were maintained at 9.5 units and 25°C , while the percentage of filling of the reactors with the supports was 60% and the inoculum was 15% v/v.

The results showed that cyanide is a biodegradable compound despite being toxic, generating ammonium when treated by bacteria. It was shown that the previously acclimatized consortium (MC10) achieved better results in terms of treatment time compared to the inoculum obtained from the WWTP (MC0). The highest biodegradation of cyanide (85%) was obtained when working with a pH of 9.5, a temperature of 25°C and 15% v/v of inoculum. Among the interferences presented to carry out the biodegradation of cyanide when complexed with metals, it was observed that copper causes an inhibitory effect on bacteria and, consequently, on the biodegradation of cyanide; however, this inhibitory effect on cyanide biodegradation did not occur when it was complexed with iron or nickel (either individually or in groups). The optimal values for copper, iron and nickel were 0, 7.7 and $0.46 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively, in both cases the biological degradation of cyanide gave maximum efficiencies of 97% using $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of initial cyanide. Additionally, it was obtained that the continuously operated reactors operated more efficiently than the batch reactors. This is attributed to the fact that in batch reactors the concentration of nutrients decreased over time, compared to those operated continuously, whose concentration remained constant and even increased in each stage, allowing greater availability for microorganisms and, therefore, therefore, it will increase its ability to adapt to the toxic pollutant studied (cyanide).

The biodegradation of the cyanide present in the mining tailings during the third stage of the continuous treatment of the suspended biomass and moving bed biomass reactors was 69% ($17 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) in the BS reactor, while in the BK was 93% ($3.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and in BCP it was 95% ($2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). The total cost obtained to treat 1 m^3 of mining tailings through a biological treatment was \$35, which is below physical-chemical treatment such as the use of ozone followed by a coagulation-flocculation system, chemical oxidation with hydrogen peroxide and alkaline chlorination. The microbial characterization of the biomass in this stage showed that the predominant families in each of the reactors, as well as their respective relative abundances, were for the BS and for the BK of Cyclobacteriaceae (20.65% and 24.64%) and Rhizobiaceae (18.48% and 14.01%) and Halomonadaceae (46.97%) and Hyphomonadaceae (24.94%) in the BCP, and the genera in the BS of *Paenochrobactrum* (15.22%); in the BK1 of *Nitrosospira* and *Mongolitalea* (8.70%); and in the *Halomonas* BCP (46.97%).

CONTENIDO

CONTENIDO	I
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VI
GLOSARIO DE ACRÓNIMOS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
1. ANTECEDENTES	5
1.1 LA MINERÍA EN EL MUNDO.....	5
1.2 USO DEL CIANURO EN LA PRODUCCIÓN DE ORO Y PLATA	6
1.3 COMPOSICIÓN DE RELAVES MINEROS	7
1.3.1 PROBLEMÁTICA DE LA PRODUCCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE RELAVES MINEROS (DESASTRES)	11
1.4 QUÍMICA DEL CIANURO Y SUS DIFERENTES ESPECIES	13
1.4.1 CIANURO LIBRE.....	14
1.4.2 COMPLEJOS DE CIANURO	14
1.4.2 SUBPRODUCTOS DERIVADOS DEL CIANURO	16
1.5 TOXICIDAD DEL CIANURO	17
1.5.1 CIANURO	17
1.6 NORMATIVIDAD	18
1.7 TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTOS PARA COMPUESTOS CIANURADOS.....	19
1.8 TRATAMIENTO BIOLÓGICO.....	25
1.8.1 SISTEMAS DE BIOMASA SUSPENDIDA.....	26
1.8.2 SISTEMAS DE BIOMASA INMOVILIZADA.....	28
1.8.3 BIODEGRADACIÓN DE CIANURO	31
1.8.4 BIORREMEDIACIÓN DE METALES.....	36
1.9 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS PARA COMPUESTOS CIANURADOS.....	37
1.9.1 CIANURO LIBRE CON BIOMASA SUSPENDIDA	38
1.9.2 CIANURO LIBRE CON BIOMASA INMOVILIZADA	41
1.9.3 CIANURO ACOMPLEJADO.....	44

1.10	DIVERSIDAD MICROBIANA	46
2.	<u>METODOLOGÍA.....</u>	49
2.1	ETAPA MICROBIOLÓGICA.....	50
2.1.1	OBTENCIÓN, PRESERVACIÓN Y PROPAGACIÓN DE MICROORGANISMOS	50
2.1.2	CURVA DE CRECIMIENTO MICROBIANO	52
2.1.3	PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD Y EVALUACIÓN DE INÓCULOS.....	52
2.1.4	EVALUACIÓN DE DISTINTAS FUENTES DE CARBONO Y PRUEBAS DE INHIBICIÓN A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CIANURO	53
2.2	ETAPA EXPERIMENTAL.....	55
2.2.1	FACTORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUYEN EN LA BIODEGRADACIÓN DE CIANURO	55
2.2.2	PRUEBAS DE SORCIÓN DE METALES EN LA BIOMASA	55
2.2.3	METALES FUERTEMENTE ACOMPLEJADOS CON CIANURO QUE AFECTAN SU BIODEGRADACIÓN	56
2.2.4	METALES FUERTEMENTE ACOMPLEJADOS CON CIANURO QUE AFECTAN SU BIODEGRADACIÓN CON BIOMASA INMOVILIZADA	57
2.2.4	EVALUACIÓN DE REMOCIÓN DE CIANURO TOTAL (EXPERIMENTOS EN CONTINUO) MEDIANTE SISTEMAS DE BIOMASA SUSPENDIDA Y BIOMASA INMOVILIZADA.....	58
2.3	EVALUACIÓN TÉCNICO-ECONÓMICA DEL TRATAMIENTO PROPUESTO.....	62
2.4	TÉCNICAS Y METODOLOGÍAS ANALÍTICAS	62
2.4.1	MODELOS MATEMÁTICOS.....	63
2.4.2	SEGUIMIENTO DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS EN LOS REACTORES	65
2.4.3	DETERMINACIÓN DE CIANURO LIBRE Y TOTAL	66
2.4.4	DETERMINACIÓN DE METALES	70
2.4.5	CONTEO DE MICROORGANISMOS	71
2.4.6	IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS.....	73
3	<u>RESULTADOS</u>	74
3.1	EVALUACIÓN DEL CONSORCIO MICROBIANO.....	74
3.1.1	PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD Y EVALUACIÓN DE INÓCULOS.....	74
3.1.2	CURVAS DE CRECIMIENTO MICROBIANO.....	76
3.1.3	CONTEO DE MICROORGANISMOS	77
3.1.4	EVALUACIÓN DE DISTINTAS FUENTES DE CARBONO Y PRUEBAS DE INHIBICIÓN A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CIANURO	80
3.2	SORCIÓN DE METALES	88
3.2.1	TIEMPO DE EQUILIBRIO	88
3.2.2	COEFICIENTE DE SORCIÓN (QE)	89
3.3	EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE CIANURO LIBRE Y ACOMPLEJADO (EXPERIMENTOS EN LOTE).....	91
3.3.1	FACTORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE AFECTAN LA BIODEGRADACIÓN DE CIANURO CON BIOMASA SUSPENDIDA	91
3.3.2	METALES FUERTEMENTE ACOMPLEJADOS CON CIANURO QUE AFECTAN SU BIODEGRADACIÓN CON BIOMASA SUSPENDIDA	96

3.3.3	METALES FUERTEMENTE ACOMPLEJADOS CON CIANURO QUE AFECTAN SU BIODEGRADACIÓN CON BIOMASA INMOVILIZADA	101
3.4	EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE CIANURO LIBRE Y ACOMPLEJADO (EXPERIMENTOS EN CONTINUO).....	104
3.5	IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS	113
3.6	EVALUACIÓN ECONÓMICA DEL TRATAMIENTO PROPUESTO	117
4	<u>CONCLUSIONES</u>	<u>119</u>
5	<u>RECOMENDACIONES</u>	<u>121</u>
6	<u>REFERENCIAS.....</u>	<u>122</u>
7	<u>ANEXOS.....</u>	<u>136</u>
6.1	ANEXO I- DETERMINACIÓN DE CIANURO	136
6.2	ANEXO II- OBTENCIÓN DE MICROORGANISMOS (LOCALIZACIÓN DE SITIOS DE MUESTREO).....	138
6.3	ANEXO III- CURVAS DE CRECIMIENTO MICROBIANO	139
6.4	ANEXO IV- CONTEO DE MICROORGANISMOS.....	140
6.5	ANEXO V- ILUSTRACIONES CONTEO DE MICROORGANISMOS	141
6.6	ANEXO VI- PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD Y EVALUACIÓN DE INÓCULOS	143
6.7	ANEXO VII- CONCENTRACIÓN DE CIANURO EN PRUEBAS DE INHIBICIÓN.....	145
6.8	ANEXO VIII- CRECIMIENTO DE BIOMASA EN PRUEBAS DE INHIBICIÓN	153
6.9	ANEXO IX- PARÁMETROS MONITOREADOS EN LA EVALUACIÓN DE FACTORES EN LA BIODEGRADACIÓN DE CIANURO ($[CN]_i=30 \text{ MG}\cdot\text{L}^{-1}$)	156
6.10	ANEXO X- TIEMPO DE EQUILIBRIO PARA SORCIÓN DE METALES	178
6.11	ANEXO XI- PARÁMETROS MONITOREADOS EN LA EVALUACIÓN DEL ACOMPLEJAMIENTO DE METALES CON CIANURO PARA SU BIODEGRADACIÓN ($[CN]_i=30 \text{ MG}\cdot\text{L}^{-1}$)	179
6.12	ANEXO XII- PARÁMETROS MONITOREADOS EN LA EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO DE CIANURO ACOMPLEJADO MEDIANTE REACTORES EN LOTE CON BIOMASA SUSPENDIDA Y BIOMASA INMOVILIZADA ($[CN]_i=30 \text{ MG}\cdot\text{L}^{-1}$)	190
6.13	ANEXO XIII- PARÁMETROS MONITOREADOS EN LA EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO DE RELAVES MINERO MEDIANTE REACTORES EN CONTINUO CON BIOMASA SUSPENDIDA Y BIOMASA INMOVILIZADA	192

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Producción de oro en México	6
Figura 1-2. Lixiviación con cianuro para la extracción de metales (hidrometalurgia)	6
Figura 1-3. Modelo simplificado del destino del cianuro en las presas de relaves	8
Figura 1-4. Equilibrio de CN^-/HCN con el pH.....	14
Figura 1.5-1. Procesos de degradación de los compuestos cianurados	32
Figura 2-1. Diagrama metodológico.....	49
Figura 2-2. Vista de las instalaciones de almacenamiento de relaves de la mina El Cubo .	50
Figura 2-3. Geolocalización de puntos de muestreo	51
Figura 2-4. Crecimiento de biomasa en Kaldnes K1 (pH=9.5 unidades, temperatura=27°C, agitación=120 rpm, Vútil=3 L).....	58
Figura 2-5. Crecimiento de biomasa en cubos de poliuretano (pH=9.5 unidades, temperatura=27°C, agitación=120 rpm, Vútil=3 L).....	58
Figura 2-6. Reactor operado en continuo con biomasa suspendida: a) Diagrama esquemático y b) Panel de control.....	59
Figura 2-7. Reactor operado en continuo con biomasa suspendida: a) Vista completa del reactor y b) Reactor en operación.....	59
Figura 2-8. Medios de soporte: a) Kaldnes K1 ($A_{sup}=500\text{ m}^2\cdot\text{m}^{-3}$) y b) Cubos de poliuretano ($A_{sup}=700\text{ m}^2\cdot\text{m}^{-3}$)	60
Figura 2-9. Reactores en continuo con biomasa inmovilizada en medios de soporte Kaldnes-K1, a) vista superior y b) vista lateral	60
Figura 2-10. Reactores en continuo con biomasa inmovilizada en medios de soporte cubos de poliuretano, a) vista superior y b) vista lateral.....	61
Figura 2-11. Equipo para destilación de cianuros por reflujo	67
Figura 2-12. Curva de calibración de cianuro en un rango de 0.02 a $0.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	68
Figura 2-13. Curva de calibración de cianuro en un rango de 1 a $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	69
Figura 2-14. Curva de calibración de cianuro en un rango de 20 a $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	69
Figura 2-15. Validación de lecturas destiladas (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo).....	70
Figura 2-16. Validación de lecturas sin destilar (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo).....	70
Figura 3-1. Biodegradación cianuro libre en pruebas de biodegradabilidad (pH=9.5, T=25°C y $[CN]_i=30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).....	74
Figura 3-2. Evolución de la concentración de cianuro libre y amonio en pruebas de biodegradabilidad (pH=9.5, T=25°C y $[CN]_i=30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).....	75
Figura 3-3. Curvas de crecimiento: a) medio mineral y b) caldo peptonado	76
Figura 3-4. Cinética de crecimiento en la fase exponencial.....	77
Figura 3-5. Relación densidad óptica vs UFC: a) Medio mineral y b) Caldo peptonado ...	78
Figura 3-6. Relación peso seco vs UFC: a) Medio mineral y b) Caldo peptonado.....	79
Figura 3-7. Relación densidad óptica vs peso seco en dos medios de cultivo distintos.....	80
Figura 3-8. Biodegradación de cianuros en pruebas de inhibición (pH=9.5 y T=25 °C): a) CN como única fuente de carbono, b) $CN+C_2H_3NaO_2$ como fuentes de carbono y c) $CN+C_6H_{12}O_6$ como fuentes de carbono	81
Figura 3-9. Controles de volatilización del cianuro	82
Figura 3-10. Ajuste de un modelo de Haldane a la velocidad máxima de consumo de sustrato (pH=9.5 y T=25 °C)	86

Figura 3-11. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición (pH=9.5 y T=25°C), a) CN ⁻ como única fuente de carbono, b) CN ⁻ +C ₂ H ₃ NaO ₂ como fuentes de carbono y c) CN ⁻ +C ₆ H ₁₂ O ₆ como fuentes de carbono	87
Figura 3-12. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición (pH=9.5)	88
Figura 3-13. Tiempo de equilibrio para metales	89
Figura 3-14. Aplicación de modelos cinéticos a los coeficientes de sorción: a) Freundlich y b) Lagmuir	90
Figura 3-15. Diagrama Estandarizado de Pareto en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%)	94
Figura 3-16. Efectos principales en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%).....	94
Figura 3-17. Gráfica de superficie de respuesta en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%): a) pH (10.5 unidades), b) Temperatura (30 °C) y c) Inóculo (12.5%)	95
Figura 3-18. Diagrama estandarizado de Pareto en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales	98
Figura 3-19. Efectos principales en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales	99
Figura 3-20. Gráfica de superficie de respuesta (estimada) en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales: a) Cobre(3 mg·L ⁻¹), b) Hierro (5 mg·L ⁻¹) y c) Níquel (0.75 mg·L ⁻¹)	100
Figura 3-21. Biodegradación de cianuro total y masa seca en reactores en lote	102
Figura 3-22. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición con una relación relave: agua: a) 10:90 y b) 100:0.....	106
Figura 3-23 Absorbancia (600 nm) de las pruebas de inhibición en medio líquido con relave minero	106
Figura 3-24. Comportamiento del pH en reactores en continuo	107
Figura 3-25. Comportamiento de la temperatura en reactores en continuo	108
Figura 3-26. Comportamiento del color aparente en reactores en continuo.....	108
Figura 3-27. Comportamiento de la turbiedad en reactores en continuo	109
Figura 3-28. Comportamiento de la Demanda Química de Oxígeno en reactores en continuo	110
Figura 3-29. Comportamiento del cianuro total en reactores en continuo	110
Figura 3-30. Abundancia relativa de géneros en reactores operados en continuo	115
Figura 3-31. Micrografías electrónicas de barrido de biopelículas en los reactores: a) BS a 5 µm, b) BS a 10 µm, c) BK1 a 5 µm, d) BK1 a 10 µm, e) BCP a 5 µm y f) BCP a 10 µm	117
Figura 6-1. Desarrollo de color en las curvas de calibración para la medición de cianuro mediante espectrofotometría.....	136
Figura 6-2. Destilación por reflujo de muestras cianuradas	136
Figura 6-3. Crecimiento de microorganismos en medio mineral	141
Figura 6-4. Crecimiento de microorganismos en caldo peptonado.....	142

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Caracterización relaves mineros ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).....	9
Tabla 1-2. Accidentes ocurridos en la industria minera	12
Tabla 1-3. Clasificación compuestos del cianuro	13
Tabla 1-4. Análisis de metales en relaves mineros.....	15
Tabla 1-5. Constantes de formación de algunos cianuros metálico	16
Tabla 1.5-1. Dosis letal media (DL50) de cianuro	18
Tabla 1.5-2. Tratamientos físico-químicos para llevar a cabo la eliminación de cianuro (adaptado por Alvillo-Rivera et al., 2020).....	20
Tabla 1.5-3. Principales tecnologías para el tratamiento de relaves mineros (Adaptada por Alvillo-Rivera, 2021)	21
Tabla 1.5-4 Comparación de los principales tratamientos para cianuro libre y acomplejado (Adaptado por Alvillo-Rivera, 2021)	24
Tabla 1.5-5. Parámetros típicos de operación utilizados en procesos de lodos activados... 27	
Tabla 1.5-6. Ventajas y desventajas de las variantes de lodos activados	28
Tabla 1.5-7. Áreas específicas para el crecimiento de bacterias en distintos empaques 30	
Tabla 1.5-8. Métodos de biorremediación de metales pesados	36
Tabla 1.5-9. Biodegradación de cianuro con biomasa suspendida (Adaptada por Alvillo- Rivera, 2021)	39
Tabla 1.5-10. Biodegradación de cianuro con biomasa inmovilizada (Adaptada por Alvillo- Rivera, 2021)	42
Tabla 1.5-11. Biodegradación de complejos de cianuro en lote.....	45
Tabla 1.5-12. Concentración máxima de metales para la inhibición de microorganismos .46	
Tabla 2-1. Soluciones para el estudio de biodegradabilidad	53
Tabla 2-2. Soluciones para la evaluación de distintas fuentes de carbono.....	54
Tabla 2-3. Soluciones para las pruebas de inhibición con relave minero.....	54
Tabla 2-4. Diseño experimental para la evaluación de factores en la remoción de cianuro (factorial 3^3).....	55
Tabla 2-5. Diseño experimental para la evaluación de la remoción de cianuro acomplejado con metales (factorial 3^3).....	57
Tabla 2-6. Métodos de análisis físicos y químicos para pruebas en continuo.....	65
Tabla 2-7. Parámetros en la determinación de metales	71
Tabla 3-1. Cinéticas de crecimiento	77
Tabla 3-2. Concentración de cianuro final y su correspondiente remoción utilizando concentraciones de cianuro y medios minerales distintos.....	82
Tabla 3-3. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN como única fuente de carbono	83
Tabla 3-4. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con $\text{CN}+\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ como fuentes de carbono	83
Tabla 3-5. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con $\text{CN}+$ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ como fuentes de carbono	83
Tabla 3-6. Resultados del análisis de varianza (relación F y valor P) en la biodegradación de cianuro libre utilizando distintas fuentes de carbono.....	84
Tabla 3-7. Resultados del análisis de varianza (relación F y valor P) en la biodegradación de cianuro utilizando distintas concentraciones de cianuro inicial.....	84
Tabla 3-8. Rendimiento biomasa/sustrato (Y_{BM}) con diferentes medios	84
Tabla 3-9. Rendimiento de producción de amonio ($Y_{\text{N-NH}_4^+}$) con diferentes medios	85

Tabla 3-10. Velocidades máximas de degradación y constante de saturación para cuatro concentraciones diferentes de cianuro y tres medios minerales distintos	85
Tabla 3-11. Coeficiente de sorción para metales.....	90
Tabla 3-12. Matriz y resultados del diseño experimental 3 ³ para la evaluación de los factores físico-químicos que afectan la biodegradación de cianuro (Reactores operados en lote con una concentración inicial de cianuro de 30 mg·L ⁻¹)	92
Tabla 3-13. Análisis de varianza en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%).....	93
Tabla 3-14. Matriz y resultados del diseño experimental 3 ³ para la evaluación del acomplejamiento de metales con cianuro (Reactores operados en lote con una concentración inicial de cianuro de 30 mg·L ⁻¹).....	97
Tabla 3-15. Análisis de varianza en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales	98
Tabla 3-16. Constantes de velocidades de biodegradación de cianuro por diferentes modelos cinéticos	101
Tabla 3-17. Parámetros monitoreados al encontrarse inmovilizada la biomasa.....	102
Tabla 3-18. Metales disueltos en reactores en lote	103
Tabla 3-19. Resultados del análisis de varianza (relación F y valor P) en la remoción de metales en sistemas en lote.....	104
Tabla 3-20. Caracterización del relave minero proveniente de la mina Don David Gold, Oaxaca	105
Tabla 3-21. Parámetros monitoreados en reactores en continuo	111
Tabla 3-22. Metales disueltos en reactores en continuo al finalizar cada etapa.....	112
Tabla 3-23. Resultados del análisis de varianza (relación F y valor P) en la remoción de metales en sistemas en continuo.....	112
Tabla 3-24. Morfología de bacterias aisladas	113
Tabla 3-25. Costos de operación del tratamiento biológico de relaves mineros	118
Tabla 6-1. Curva de calibración por espectrofotometría (0.02-0.2 µg·mL ⁻¹).....	136
Tabla 6-2. Curva de calibración por espectrofotometría (1-20 µg·mL ⁻¹).....	137
Tabla 6-3. Curva de calibración por espectrofotometría (20-200 µg·mL ⁻¹).....	137
Tabla 6-4. Curva de calibración con ISE (0.02-0.2 µg·mL ⁻¹)	137
Tabla 6-5. Resultados de la validación del uso del ISE y espectrofotómetro	137
Tabla 6-6. Validación de lecturas destiladas (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo).....	138
Tabla 6-7. Validación de lecturas sin destilar (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo).....	138
Tabla 6-8. Ubicación de puntos de muestreo	138
Tabla 6-9. Curva de crecimiento de microorganismos.....	139
Tabla 6-10. Medición de la densidad óptica (Absorbancia 600 nm).....	140
Tabla 6-11. Medición de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC· mL ⁻¹)	140
Tabla 6-12. Medición de los Sólidos Suspendidos Totales (mg·L ⁻¹)	140
Tabla 6-13. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN como única fuente de carbono	144
Tabla 6-14. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN+C ₂ H ₃ NaO ₂ como fuentes de carbono	144
Tabla 6-15. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN+ C ₆ H ₁₂ O ₆ como fuentes de carbono	144

Tabla 6-16. Concentración y remoción de 15 mg CN · L ⁻¹ inicial en pruebas de inhibición	145
Tabla 6-16. Concentración y remoción de 15 mg CN · L ⁻¹ inicial en pruebas de inhibición (continuación)	146
Tabla 6-17. Concentración y remoción de 20 mg CN · L ⁻¹ inicial en pruebas de inhibición	147
Tabla 6-17. Concentración y remoción de 20 mg CN · L ⁻¹ inicial en pruebas de inhibición (continuación)	148
Tabla 6-18. Concentración y remoción de 30 mg CN · L ⁻¹ inicial en pruebas de inhibición	149
Tabla 6-18. Concentración y remoción de 30 mg CN · L ⁻¹ inicial en pruebas de inhibición (continuación)	150
Tabla 6-19. Concentración y remoción de 50 mg CN · L ⁻¹ inicial en pruebas de inhibición	151
Tabla 6-20. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición a 600 nm	153
Tabla 6-21. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición a 600 nm (continuación)	154
Tabla 6-22. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición a 600 nm (continuación)	155
Tabla 6-23. Monitoreo de pH a 25°C	156
Tabla 6-24. Monitoreo de pH a 30°C	157
Tabla 6-25. Monitoreo de pH a 35°C	158
Tabla 6-26. Monitoreo de Temperatura (25°C)	160
Tabla 6-27. Monitoreo de Temperatura (30°C)	161
Tabla 6-28. Monitoreo de Temperatura (35°C)	162
Tabla 6-29. Monitoreo de Biomasa a 25°C	163
Tabla 6-30. Monitoreo de Biomasa a 30°C	165
Tabla 6-31. Monitoreo de Biomasa a 35°C	166
Tabla 6-32. Monitoreo de Cianuro a 25°C	168
Tabla 6-33. Monitoreo de Cianuro a 30°C	170
Tabla 6-34. Monitoreo de Cianuro a 35°C	171
Tabla 6-35. Remoción de Cianuro a 25°C	173
Tabla 6-36. Remoción de Cianuro a 30°C	175
Tabla 6-37. Remoción de Cianuro a 35°C	176
Tabla 6-38. Tiempo de equilibrio para metales	178
Tabla 6-39. Monitoreo de Biomasa al encontrarse acomplejado el cianuro con metales.	179
Tabla 6-40. Monitoreo de biomasa al encontrarse acomplejado el cianuro con metales (continuación)	181
Tabla 6-41. Monitoreo de cianuro (mg·L ⁻¹) al encontrarse acomplejado con metales.....	183
Tabla 6-42. Monitoreo de cianuro (mg·L ⁻¹) al encontrarse acomplejado con metales (continuación)	185
Tabla 6-43. Monitoreo de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales	187
Tabla 6-44. Monitoreo de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales (continuación)	189
Tabla 6-45. Monitoreo del crecimiento de la biomasa y la biodegradación de cianuro en reactores en lote	191

Tabla 6-46. Monitoreo del pH y temperatura en reactores en continuo 192
Tabla 6-47. Monitoreo de turbiedad en reactores en continuo 194
Tabla 6-48. Monitoreo del color aparente en reactores en continuo 196
Tabla 6-49. Monitoreo de la demanda química de oxígeno en reactores en continuo 198
Tabla 6-50. Monitoreo de cianuro total en reactores en continuo 200

GLOSARIO DE ACRÓNIMOS

Ácido CARO	Ácido peroxisulfúrico
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de Varianza
APS	Adenosina 5'-Fosfosulfato
ARD	Agua Residual Doméstica
ATP	Adenosina Trifosfato
AVR	Acidificación, Volatilización y Reneutralización
CIICAP	Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas
CRT	Cyclic Reversible Termination
DAD	Complejos Disociables en Ácidos Débiles
DAF	Complejos Disociables en Ácidos Fuertes
dNTPs	Deoxinucleótidos Trifosfatados
FESEM	Microscopio Electrónico de Barrido por Emisión de Campo
IMTA	Instituto Mexicano de Tecnología del Agua
INCO	Cobre Soluble
ISA	Ionic Strength Adjuster
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LM	Licor Mezclado
MPS	Massive Parallel Sequencing
NGS	Next Generation Sequencing
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
PCR	Polymerase Chain Reaction
PTAR	Planta De Tratamiento de Aguas Residuales
SAD	Strong Acid Dissociable
SPE	Sustancias Poliméricas Extracelulares
UAEM	Universidad Autónoma del Estado de Morelos
UPAEP	Universidad Popular Autónoma de Puebla
UTO	Unidad Taxonómica Operativa
WAD	Weak Acid Dissociable

INTRODUCCIÓN

La contaminación del ambiente con metales surge como resultado de actividades principalmente industriales, estos contaminantes son descargados principalmente como solutos o partículas en ambientes acuáticos, terrestres y atmosféricos, que pueden alcanzar concentraciones elevadas, especialmente cerca del sitio de descarga. De todos los metales conocidos, el oro es uno de los más utilizados a través de la historia debido a sus propiedades físicas como lo son una alta maleabilidad y un bello aspecto, sin embargo, para llevar a cabo su adecuada recuperación se creó un proceso llamado “cianuración” el cual introdujo un problema adicional, el uso de cianuro, el cual juega un papel clave en la extracción no solo de oro, sino también de otros metales como la plata, el cobre y el zinc, y su toxicidad varía dependiendo de su especiación, siendo las formas más tóxicas el ión cianuro y el ácido cianhídrico. El término cianuro se refiere a un compuesto que contiene un átomo de carbono con estado de oxidación +2 y un átomo de nitrógeno con un estado de oxidación -3; sus moléculas se encuentran unidas por un triple enlace y su carga final es negativa. Los compuestos de cianuro están ampliamente distribuidos naturalmente (ácido cianhídrico, cianuro de sodio, cianuro de potasio y cianuro de zinc; HCN , NaCN , KCN , $\text{Zn}(\text{CN})_2$) sobre la superficie terrestre en pequeñas cantidades, ya sea en plantas (algas, hongos), alimentos, microorganismos (bacterias fotosintéticas) y animales (ciempiés, escarabajos, mariposas) (Dash et al., 2009; Kuyucak y Akcil, 2013). Algunas de las concentraciones contenidas en plantas y alimentos son: sal de mesa, $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; haba, $1,000\text{-}3,000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; yuca, $46\text{-}1,040 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; cerezas silvestres, $1,400\text{-}3,700 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; sorgo, máximo $2,500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; almendra, $280\text{-}2,500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; bambú, máximo $8,000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y judía, $2,100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Kuyucak y Akcil, 2013; Fernández-Pérez, 2007).

Las mayores cantidades de cianuro proceden de actividades antropogénicas (minería, acabados de metales, plantas de coque, pinturas, refinación de petróleo, fabricación de explosivos y automóviles, industrias manufactureras, químicas, pesticidas, sintéticas, entre otras) (Dash et al., 2008). Adicionalmente, los humanos se encuentran expuestos a ciertos niveles de cianuro por el humo del tabaco ($0.5 \text{ mg}/\text{cigarro}$), escapes de automóviles ($7\text{-}9 \text{ mg}\cdot\text{km}^{-1}$), pesticidas, plaguicidas, fertilizantes, uso de cosméticos (lápiz para ojos o lipstick) y algunas drogas farmacéuticas para el tratamiento de cáncer y presión arterial alta (Kuyucak y Akcil, 2013).

La producción de cianuro de estas industrias se estima en más de 14 millones $\text{kg}\cdot\text{año}^{-1}$ (Dash et al., 2008;), de lo cual un 90% procede de actividades mineras (Akcil, 2003; Kuyucak y Akcil, 2013). En este tipo de actividades, el cianuro es utilizado durante el proceso de extracción de oro y plata de los minerales (Abdoul-Raimi et al., 2013), debido a su capacidad para disolverlos y a que éstos no pueden ser extraídos por procesos físicos como lo son: la trituración y la separación por gravedad, este proceso es llamado hidrometalurgia (Logsdon et al., 2001).

La hidrometalurgia, al igual que todos los procesos, tiene dos tipos de productos: los deseados, los cuales se refieren a la recuperación de metales preciosos (oro y plata) y los no deseados, que son los residuos generados, líquidos y sólidos (relaves mineros). Los relaves mineros, se caracterizan por la presencia de complejos de cianuro con metales pesados como lo son el plomo, cobre, hierro, níquel, arsénico y cadmio (Pb, Cu, Fe, Ni, Zn, As y Cd); sin

embargo, su formación y concentración depende de la naturaleza de procedencia del oro y a los elementos metálicos que se encuentren presentes, los cuales de manera general se caracterizan por tener densidades relativamente altas y ser tóxicos a bajas concentraciones. Se clasifican en tres grandes grupos, los metales tóxicos (mercurio, cromo, plomo, zinc, cobre, níquel, cadmio, arsénico, cobalto, estaño; Hg, Cr, Pb, Zn, Cu, Ni, Cd, As, Co, Sn, entre otros), los metales preciosos (Pd, Pt, Ag, Au, Ru, entre otros) y los radionucleidos (uranio, torio, radio, americio; U, Th, Ra, Am, entre otros) ([Acheampong et al., 2010](#)).

Al utilizarse el método de lixiviación en pila para la recuperación de oro y plata, una parte de los relaves mineros puede ser recirculada a la planta después de adicionarle una concentración extra de cianuro, mientras que para la restante se han desarrollado diversos tratamientos físicos, químicos y biológicos como lo son la coagulación-floculación, sistemas de membranas, sistemas de oxidación mediante la adición de peróxido de hidrógeno u oxígeno y la oxidación biológica. Adicionalmente, en la actualidad la legislación ambiental en el tema de descargas de aguas residuales se ha vuelto más estricta en las industrias, especialmente en las mineras que utilizan cianuro y/o compuestos relacionados.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Las hipótesis por probar se plantean a continuación:

- Las bacterias aisladas de relaves mineros serán capaces de tolerar el cianuro y trabajar en condiciones alcalinas para llevar a cabo su biodegradación.
- La presencia de hierro, cobre y níquel en relaves mineros tiene un efecto estadísticamente significativo en la biodegradación de cianuro.
- El tipo de soporte influye en la inmovilización de la biomasa y por ende tiene un efecto en la biodegradación de cianuro contenido en relaves mineros.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la biodegradación de complejos de cianuro presentes en relaves mineros mediante el uso reactores de biomasa suspendida y biomasa de lecho móvil.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Los objetivos específicos son:

- 1 Comparar las capacidades de dos consorcios microbianos distintos, uno adaptado al cianuro por encontrarse en presencia de relaves mineros y otro sin adaptar (lodos procedentes de una planta de tratamiento de aguas residuales) para llevar a cabo la biodegradación de compuestos simples de cianuro en sistemas en estado estacionario.
- 2 Optimizar los valores de los factores físico-químicos experimentales (pH, temperatura y concentración de inóculo) en sistema en lote con biomasa suspendida para la obtención de la máxima eficiencia de biodegradación de compuestos simples de cianuro.
- 3 Evaluar las interferencias que se presentan en la biodegradación de cianuro al encontrarse acompañado con tres metales (hierro, cobre y níquel) de manera individual y en conjunto en sistemas en lote, así como sus efectos inhibitorios en el crecimiento de los microorganismos.
- 4 Determinar la influencia en la biodegradación de compuestos simples de cianuro, al utilizar dos medios de soporte distintos para llevar a cabo la inmovilización de la biomasa en estado estacionario y con agua sintética; utilizando los factores físico-químicos experimentales óptimos y las concentraciones de metales a las cuales no se presentó una inhibición en el crecimiento de los microorganismos.
- 5 Comparar dos configuraciones de reactores, uno de biomasa suspendida y otro de biomasa de lecho móvil, operados de manera continua para llevar a cabo la biodegradación de cianuro presente en relaves mineros.
- 6 Evaluar la factibilidad técnico-económica del tratamiento propuesto, para brindar a las industrias mineras una estrategia amigable con el ambiente para llevar a cabo el tratamiento de las aguas residuales procedentes de la extracción de oro y plata.

JUSTIFICACIÓN

Las aguas residuales procedentes de la industria minera de oro y plata deben ser tratadas antes de ser descargadas al medio ambiente, debido a la presencia de sustancias tóxicas para los organismos acuáticos y terrestres. Las exposiciones a altas concentraciones de cianuro en un corto tiempo pueden llegar a causar paros respiratorios o incluso la muerte. A pesar de los estudios realizados acerca de la remoción de cianuros y complejos cianurados mediante diversas técnicas físico-químicas, la investigación sobre su degradación biológica y su posterior utilización de subproductos por los mismos consorcios microbianos, en sistemas continuos, ya sea con biomasa suspendida o biomasa inmovilizada no ha sido explorada a fondo, motivo por el cual es imperativo el evaluar este tipo de tratamiento para encontrar el mecanismo fundamental para su remoción, así como su factibilidad técnica y económica.

Los estudios biológicos previamente reportados presentan eficientes tasas de remoción de cianuro, por lo cual, en este estudio, se desea conocer el efecto inhibitor de los cianuros con complejos metálicos sobre los microorganismos para llevar a cabo su degradación. Los cubos de poliuretano, al poseer una alta área específica y porosidad son una alternativa prometedora para evaluar la remoción de complejos cianurados. La propuesta del presente estudio sobre el tratamiento biológico para los efluentes de las industrias mineras puede ser una alternativa para mejorar la calidad de vida de las comunidades aledañas a las mineras y de las especies que habitan cercana a ésta. El tratamiento propuesto tiene como finalidad el generar conocimiento científico acerca de la degradación del cianuro acomplejado con distintos metales, los cuales se caracterizan por ser uniones fuertemente estables entre ellos, así como la influencia de éstos en la biodegradación de cianuro. Además, de llevar a cabo la identificación de las bacterias contenidas en el consorcio inoculado para el tratamiento de los relaves mineros.

1. ANTECEDENTES

1.1 LA MINERÍA EN EL MUNDO

La minería ha influido en el desarrollo económico mundial debido a la gran demanda de metales que existe, de acuerdo a la [Secretaría de Economía \(2016a\)](#) los países con una mayor producción de oro en el mundo son China, Australia, Rusia, E.U.A., Canadá, Perú, Sudáfrica, México, Indonesia, Ghana y Brasil; mientras que en México, los estados con mayor producción de oro son Sonora, Zacatecas, Chihuahua, Durango, Guerrero, San Luis Potosí, Sinaloa, Baja California, Guanajuato, Oaxaca y el Estado de México ([Secretaría de Economía, 2016b](#)).

En los últimos diez años, se ha hecho mucho por establecer marcos propicios para la inversión minera, sobre todo en los países en desarrollo. En gran medida esto, se ha logrado gracias a la intervención del Banco Mundial. Lo anterior ha generado un importante flujo de inversión, lo que crea nuevas oportunidades como también nuevos desafíos. Las oportunidades incluyen el ingreso de divisas fuertes en economías donde éstas son escasas, mayores ingresos del Estado, puestos de trabajo, mayor calidad en la educación y los conocimientos técnicos, además del desarrollo de infraestructura tal como carreteras, tendido eléctrico y telecomunicaciones.

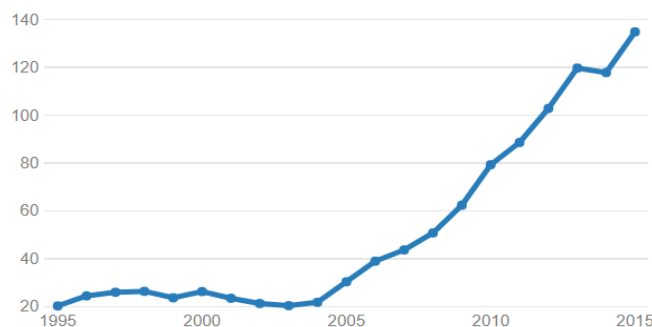
México se mantiene como una potencia en la producción de minerales a nivel mundial, ya que de las 22 principales materias primas que se extraen del subsuelo nacional -excluyendo petróleo-, en 19 de ellas México se coloca entre los primeros 10 lugares a nivel mundial. Siendo el oro, la plata, el cobre, el zinc y el plomo los minerales que más se producen. La minería en México ha sido una fuente importante de ingresos, aportando el 8.9% del PIB Industrial y 3% del PIB Nacional. En la actualidad, se tienen registradas 1,558 minas en operación, 19 plantas metalúrgicas y 1,156 proyectos en exploración ([CAMIMEX, 2018](#)).

De acuerdo a [CAMIMEX \(2018\)](#), los principales metales producidos en el país y sus estados productores son oro (Zacatecas, Sonora, Chihuahua, Durango y Guerrero), plata (Zacatecas, Chihuahua, Durango, Sonora y Oaxaca), Plomo (Zacatecas, Chihuahua, Durango, Estado de México y Sinaloa), Cobre (Sonora, Zacatecas, San Luis Potosí, Chihuahua y Durango), Zinc (Zacatecas, Durango, Chihuahua, Estado de México y San Luis Potosí) y Hierro (Coahuila, Michoacán, Durango, Colima y Sonora).

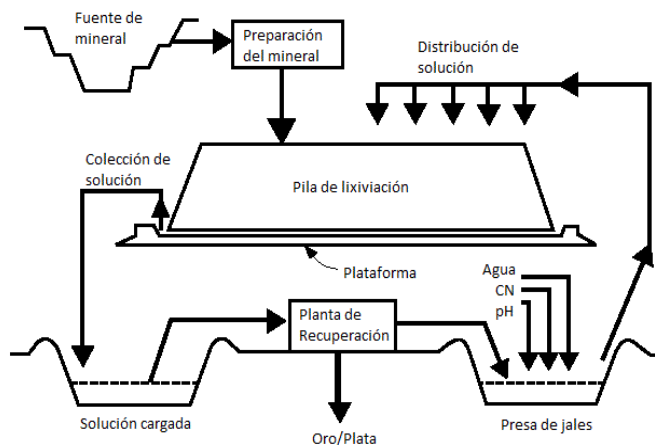
Con una producción de 191.5 millones de onzas en 2015, México se consolidó como el mayor productor de plata a nivel mundial, superando a naciones como China, Perú, Australia y Chile ([Secretaría de Economía, 2016b](#)). Este nivel de producción es el mayor en la historia de la minería nacional. En cuanto a la producción de oro, México ha incrementado su producción a través del tiempo (**Figura 1-1**) y actualmente se ha consolidado como el octavo productor de oro a nivel mundial con una producción de 4.3 millones de onzas. Más de la mitad de la producción de oro a nivel nacional se concentró en tres empresas: Goldcorp, Fresnillo PLC y Minera Frisco.

Producción de oro de México

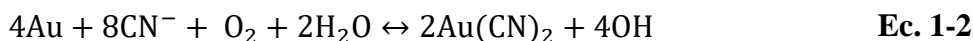
Cifras anuales, en miles de kilos

**Figura 1-1.** Producción de oro en México**Fuente:** Cámara Minera de México, Informe Anual 2016**1.2 USO DEL CIANURO EN LA PRODUCCIÓN DE ORO Y PLATA**

La hidrometalurgia se basa en el uso del agua para la extracción y recuperación de metales (**Figura 1-2**) (Álvarez-García, 2005). El método de cianuración ha sido aplicado desde hace más de 120 años, debido a los bajos costos y la capacidad de formar complejos estables con el oro ($[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$), plata ($[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$) y otros metales para su recuperación (Kanayev et al., 2016; Kuyucak y Akcil, 2013). El 52% de las minas que operan utilizan el cianuro como método para la recuperación de metales (Gurbuz et al., 2009). Es necesario utilizar 1 kg de cianuro (NaCN o KCN) para recuperar 1.5 g de oro, con lo cual se generan grandes cantidades de residuos en comparación con la cantidad de metales preciosos que son recuperados (Fernández-Pérez, 2007).

**Figura 1-2.** Lixiviación con cianuro para la extracción de metales (hidrometalurgia)**Fuente:** National Wildlife Health Center (1999).

Durante dicho proceso, el cianuro es diluido con agua entre 0.01-0.05% (100 a $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (**Ec. 1-1**) para posteriormente entrar en contacto con el mineral y disolver el oro/plata a condiciones ligeramente oxidantes, esta solución es denominada “solución cargada” (**Ec. 1-2** y **Ec. 1-3**) (Logsdon et al., 2001; Kanayev et al., 2016).



Uniendo ambas reacciones, tenemos para la recuperación de oro (Ecuación de Elsener):



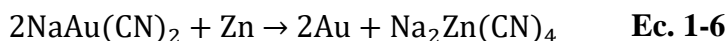
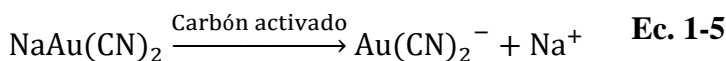
Mientras que, para la recuperación de la plata, la reacción se muestra en la **Ec. 1-4**.



A medida en que estas reacciones se desplacen a uno u otro lado depende casi exclusivamente del pH de la solución. Es indispensable el trabajar con pH elevados (>10) en los procesos de cianuración, puesto que solo el ión cianuro (CN^-) forma complejos con metales y únicamente el HCN puede volatilizarse fácilmente (punto de ebullición del ácido cianhídrico de 25.7°C y presión de vapor de 100 KPa a 25°C), lo cual implicaría pérdidas económicas por la inadecuada preservación del cianuro y aumentaría el riesgo de inhalación por parte de los trabajadores ([Álvarez-García, 2005](#); [Kuyucak y Akcil, 2013](#)).

A continuación, se agrega carbón activado (adsorción) o zinc (precipitación) a la “solución cargada” para llevar a cabo la recuperación del oro/plata, dejando una solución residual o “estéril” (carente de oro), la cual contiene tres tipos principales de compuestos de cianuro (cianuro total, cianuro débilmente acomplejado y cianuro fuertemente acomplejado), juntos constituyen el “cianuro total” (relave minero) ([Kuyucak y Akcil, 2013](#); [Logsdon et al., 2001](#)).

En el proceso de carbón activado, los complejos de cianuro de oro y plata, se adsorben en los sitios de carbón activo, con lo cual se elimina el oro y la plata de la solución (**Ec. 1-5**); posteriormente, el oro y la plata se desorben del carbón cargado utilizando NaCN (0.1%) y NaOH (1%) a temperaturas elevadas. Mientras que, en el proceso de precipitación con zinc, el zinc elemental reduce los iones de oro a su forma metálica libre en ausencia de oxígeno (**Ec. 1-6**) ([Gurbuz et al., 2009](#)).



1.3 COMPOSICIÓN DE RELAVES MINEROS

Los relaves mineros, también llamados jales o colas ([Corrales-Pérez y Martín-Romero, 2014](#)), provienen del empleo de cianuro en el tratamiento de minerales para la recuperación de metales valiosos ([Hurtado y Berastain, 2012](#)) y son grandes depósitos de desechos y subproductos de los procesos mineros, usualmente son una mezcla de tierra, minerales, agua y roca que contienen altas concentraciones de químicos, así como de arsénico, plomo, mercurio y sales de cianuro ([Astete et al., 2009](#)).

La peligrosidad de los relaves, depende de la naturaleza tóxica del residuo, determinada por la geología del yacimiento, las concentraciones de metales y metaloides, y la acción que tienen los factores biológicos y geoquímicos sobre los residuos (Corrales-Pérez y Martín-Romero, 2014). El lugar donde son depositados este tipo de residuos, es llamado presa de relaves y se considera que las concentraciones de cianuro en la parte superior son menores que a mayores profundidades, debido a la degradación natural de éste (Figura 1-3). Además, en las presas abandonadas, se forma una costra de sales de cianuro (similar al proceso de salinización del suelo), las cuales son acción del viento y/o lluvia, pueden arrastrarse e infiltrarse en el subsuelo (Shehong et al., 2005).

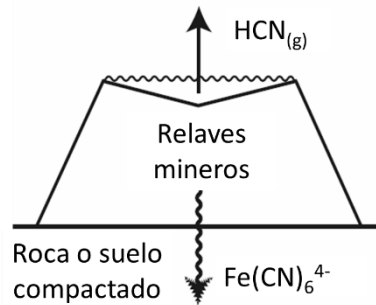


Figura 1-3. Modelo simplificado del destino del cianuro en las presas de relaves

En la **Tabla 1-1** se enlistan las concentraciones reportadas por distintos autores de las publicaciones más recientes de los elementos contenidos en los relaves mineros, los cuales se encuentran contenidos en presas de relaves. Dicha tabla se dividió en dos partes para su mejor apreciación, la primera de ellas, con la caracterización de relaves en México y la segunda a nivel mundial. Además, es importante mencionar que el orden en que aparecen en ella los distintos lugares es cronológico, siendo las primeras de años más recientes.

Tabla 1-1. Caracterización relaves mineros ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Lugar y mineral	México					Mundial			
	Oaxaca Ag, Zn	Gto. Au	Guerrero Ag	Durango Ag, Au	Chihuahua Ag, Au	Gto. Ag	Ghana Au	Nariño Au	Turquía Au
Parámetros físicos ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)									
Color Aparente (UPt-Co)	16,600	37	3,308	N.R.	117.5	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Color verdadero (UPt-Co)	182	56	104	N.R.	243.5	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Conductividad ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	34.7	3.89	2.04	N.R.	12.63	7.5	N.R.	N.R.	N.R.
OD	0	5.31	5.43	N.R.	N.R.	3.3	N.R.	N.R.	N.R.
pH (unidades)	10.2	9.5	3	N.R.	8.5	9	7.4	N.R.	9.85
Potencial REDOX (mV)	-2	647	-83.2	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
SDF	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
SDT	11,202	3,243	4,955	3,730	8.09	4,600	2.9	N.R.	N.R.
SDV	209	555	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
SS	7.67	2,688	70	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
SSF	2.95	27	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
SST	212	27	3,613	N.R.	15	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
SSV	209	0	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
STF	11,202	2,715	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
ST	14,490	3,270	8,568	N.R.	23	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
STV	3,288	555	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Turbiedad (NTU)	4,968	46	N.R.	N.R.	112,000	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Parámetros químicos ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)									
Alcalinidad total	622	N.R.	139.81	430	N.R.	800	N.R.	N.R.	N.R.
Cianuro total	20	N.R.	0.04	176	0.008	40	9	433	77-144

Lugar y mineral	México					Mundial			
	Oaxaca Ag, Zn	Gto. Au	Guerrero Ag	Durango Ag, Au	Chihuahua Ag, Au	Gto. Ag	Ghana Au	Nariño Au	Turquía Au
COT	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	9	N.R.	N.R.	N.R.
DQO	2,276	85.5	61	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Dureza (CaCO ₃)	1,132	1,480	558	56	880	1,813	N.R.	N.R.	N.R.
Fosfatos	0.02	N.R.	N.R.	N.R.	0.56	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Nitratos	187	N.R.	N.R.	9.36	41	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Nitritos	70	N.R.	N.R.	1.97	39	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Nitrógeno Total	N.R.	240	319	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Sodio	N.R.	287	N.R.	1,070	2,570	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Sulfatos	6,525	13,000	1,683	1,500	6,900	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Metales (mg·L⁻¹)									
Aluminio	51	N.R.	N.R.	0.085	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Arsénico	2.05	N.R.	0.14	1.02	0.022	0.04	7.35	N.R.	2
Berilio	N.R.	N.R.	N.R.	<0.000002	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Cadmio	N.R.	<0.1	0.975	0.000036	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	<0.03
Cobre	N.R.	0.13	1,064	29.9	0.76	<0.10	5.06	190.5	6
Cromo	N.R.	0.87	<0.10	0.0008	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	<0.08
Hierro	11.97	7.31	16.75	77.8	1.79	0.52	0.11	12	3.85
Mercurio	N.R.	0.04	<0.01	<0.01	N.R.	<0.01	N.R.	N.R.	<0.01.
Níquel	N.R.	0	0.12	1.18	0.02	N.R.	N.R.	3.84	N.R.
Potasio	N.R.	120	N.R.	<0.0009	244	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Plomo	N.R.	0.12	0.163	<0.00002	0.03	<0.010	0.14	0.24	<0.45
Zinc	N.R.	0.215	N.R.	0.001	0.215	N.R.	0.04	910	2.9
Fuente	Hernández & Zuluaga, 2019	Carrillo-Flores, 2018			Rojano, 2018	Ramírez-Cardoso, 2015	Acheampong et al., 2010	Fajardo et al., 2010	Gurbuz et al., 2009; Akcil, 2002

Los procesos para la extracción de metales en la mina de Durango son de lixiviación de cianuro, mientras que los de Guanajuato y Chihuahua son de un proceso de flotación (Carrillo-Flores, 2018; Rojano, 2018). De acuerdo a Carrillo-Flores (2018) el proceso de flotación cuenta con menor impacto negativo al ambiente, en comparación con el proceso de lixiviación, sin embargo, éste último es el más comúnmente usado y seguirá siendo empleado, ya que es más eficiente para la extracción de acuerdo a la composición del suelo. Por otra parte, los relaves procedentes de Nariño, Colombia no cuentan con tratamiento previo a su descarga y son colocados en el suelo sin acondicionar (Fajardo et al., 2010).

A continuación, se mencionan los relaves mineros que sobrepasan los LMP de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996 y a los Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua CE-CCA 01/89, sin embargo, es importante mencionar que en varios relaves no se cuenta con una completa caracterización de los contaminantes, es por ello que no se mencionan como que sobrepasan dichos límites. De acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996, para el caso del pH, el único relave que se encuentra fuera del rango de los LMP (5-10 unidades) son los procedentes de Guerrero; para la conductividad los que excedieron los LMP ($1\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$) fueron los procedentes de Oaxaca, Guanajuato (Au), Guerrero y Chihuahua; en el nitrógeno total tanto los relaves de Guanajuato (Au) y Guerrero sobrepasaron los LMP ($60\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); y para sulfatos ($130\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) fueron todos los procedentes de México.

Mientras que, los relaves que excedieron los LMP en el caso de los metales fueron: Arsénico ($0.25\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Oaxaca, Durango y Ghana; Cadmio ($0.4\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Guerrero; Cobre ($6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Guerrero, Durango Chihuahua, Guanajuato (Ag), Ghana, Nariño y Turquía; Mercurio ($0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Guanajuato (Au); y Níquel ($4\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Durango y Nariño.

En el caso de los sólidos, se tomaron en cuenta los Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua CE-CCA 01/89 y aquellos que sobrepasan el LMP como SDT ($500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) son los relaves procedentes de Oaxaca, Guanajuato (Au), Guerrero, Durango y Guanajuato (Ag); en los SS ($0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) los de Oaxaca, Guanajuato (Au) y Guerrero, y para los SST ($50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) fueron los relaves de Oaxaca y Guerrero.

1.3.1 PROBLEMÁTICA DE LA PRODUCCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE RELAVES MINEROS (DESASTRES)

Los desastres dentro de la industria minera pueden ser ocasionados debido a las condiciones atmosféricas propias del lugar en el que se encuentren ubicadas como lo son huracanes, lluvias torrenciales o deshielos, sin embargo, también existen los desastres ocasionados por la falta o incorrecto estudio del impacto ambiental, el fallo de las estructuras de almacenamiento de residuos (fallas en la geomembrana, falla en la presa de jales, ruptura de tuberías y fugas diversas), la no aplicación de las mejores técnicas disponibles en las explotaciones mineras, errores en el diseño, el no usar las medidas de protección adecuadas en función de los riesgos existentes, la mala operación y/o mantenimiento (fallas eléctricas), así como por fallas humanas (Rodríguez et al., 2009). Algunos de los ocurridos a nivel mundial se muestran en la **Tabla 1-2**. Sin embargo, la presencia de cianuro en el ambiente no es exclusiva de la industria minera, ya que, Ortiz-Sayavedra y Tejeda-Gil (2018) reportan

la presencia de este contaminante en ríos como el Atoyac o en la presa Atoyac-Valsequillo, debido a fuentes no puntuales.

Tabla 1-2. Accidentes ocurridos en la industria minera

Año	Lugar	Incidente
2016	Veladero, Argentina	Derrame de más de un millón de litros de cianuro al río Las Taguas.
2015	Sonora	Desborde de 84 mil litros de solución cianurada sobre el patio de lixiviación al interior de la minera.
2014	Buena Vista del Cobre, Cananea	Derrame de 40 mil metros cúbicos de sulfato de cobre mezclados con ácido sulfúrico y altas concentraciones de metales pesados al río Sonora.
2014	Magistral, Durango	Derrame de mil metros cúbicos de agua cianurada al arroyo La Cruz y Penmont.
2014	Mount Polley, Canadá	Derrame de millones de litros de agua y relaves tóxicos a los lagos cercanos.
2011	Goldfields, Ghana	Vertimiento de decenas de miles de metros cúbicos de agua contaminada con cianuro y metales pesados.
2007	Zamboanga, Filipinas	Vertimiento de compuestos cianurados al río Siocon.
2001	Lihir, Nueva Guinea	Vertimiento continuo al mar de compuestos cianurados.
2000	Papua Nueva Guinea	Derrame de 150 kg de NaCN (sólido) en un río local por un accidente de transportación.
2000	Rumania	Falla en la presa de jales debido a la fuerte lluvia y nieve. Derrame de 100,000 m ³ de compuestos cianurados. Contaminación del agua de abastecimiento de >2 millones de personas.
1999	Grouse Greek, Estados Unidos	Vertimiento de más de 40 millones de litros de solución cianurada fueron en el arroyo Little.
1998	Kumtor, Kyrgystan	Envenenamiento de 2,550 personas al derramarse 1,762 kilos de cianuro al río Barskaun.
1998	Homestake, Estados Unidos	Vertimiento de 7 toneladas de aguas cianuradas en dos arroyos.
1995	Omai, Guyana	Vertimiento de más de 3.200 millones de litros de aguas residuales cianuradas al río de Guyana.
1995	Northparkes, Australia	Derrame de 45,000 m ³ de desechos cianurados. Muerte de 2,700 aves debido a los vertidos cianurados.

Año	Lugar	Incidente
1979-1998	Zortman-Landusky, Estados Unidos	Continuos derrames de cianuro y metales tóxicos en más de 27 km del río Alamosa.

Fuente: Adaptada por Alvillo-Rivera (2021) de Mckinley (2015), Informe Anual de Corpwatch (2007), Alfie-Cohen, 2015, Lottermoser (2007)

1.4 QUÍMICA DEL CIANURO Y SUS DIFERENTES ESPECIES

El cianuro es el término general que se aplica a un grupo de sustancias químicas que contienen un átomo de carbono con un enlace triple con un átomo de nitrógeno ($C\equiv N$), los compuestos orgánicos que poseen grupo funcional $-C\equiv N$ adosado a un residuo alquilo son denominados nitrilos según la nomenclatura IUPAC (Abdoul-Raimi et al., 2013). Las principales formas de cianuro producidas por el hombre son el cianuro de hidrógeno (HCN) gaseoso y el cianuro de sodio (NaCN) y de potasio (KCN), ambos en estado sólido, el cual es una sustancia tóxica que puede ser letal si se ingiere o inhala en cantidades suficientes (Dash, 2009). De acuerdo a Smith y Mudder (1991), los compuestos de cianuro presentes en los efluentes mineros u otros procesos de cianuración son el cianuro libre, las sales alcalinotérreas y los complejos cianurados metálicos. La **Tabla 1-3** muestra la clasificación de dichos compuestos y depende de la concentración del ion cianuro libre (Fernández-Pérez, 2007; Lottermoser, 2007).

Tabla 1-3. Clasificación compuestos del cianuro

Nombre común	Grupo de cianuro	Compuesto
Complejos Disociables en Ácidos Débiles (DAD) o WAD (Weak Acid Dissociable, por sus siglas en inglés). Son disociables normalmente a pH de 4.5	1. Cianuro libre	CN^- , HCN
	2. Cianuros simples	
	2.1 Fácilmente solubles 2.2 Sales neutras insolubles	NaCN, KCN, $Ca(CN)_2$, $Hg(CN)_2$ $Zn(CN)_2$, $Cd(CN)_2$, Cu(CN), $Ni(CN)_2$, Ag(CN)
Complejos Disociables en Ácidos Fuertes (DAF) o SAD (Strong Acid Dissociable, por sus siglas en inglés). Son disociables en torno a un pH de 2.	3. Cianuros complejos débiles	$Zn(CN)_4^{2-}$, $Cd(CN)_3^-$, $Cd(CN)_4^{2-}$
	4. Cianuros complejos moderadamente fuertes	$Cu(CN)_2^-$, $Cu(CN)_3^{2-}$, $Cu(CN)_4^{3-}$, $Ni(CN)_4^{2-}$, $Ag(CN)_2^-$
	5. Cianuros complejos fuertes	$Fe(CN)_6^{4-}$, $Co(CN)_6^{4-}$, $Au(CN)_2^-$, $Fe(CN)_6^{3-}$

Nombre común	Grupo de cianuro	Compuesto
Subproductos	6. Tiocianato	SCN ⁻
	7. Cianato	CNO ⁻
	8. Nitratos	NO ₃ ²⁻
	9. Nitritos	NO ₂ ⁻
	10. Amoniaco	NH ₃

1.4.1 CIANURO LIBRE

El término cianuro libre es utilizado para el ion de cianuro (CN⁻) y para el cianuro de hidrógeno o ácido cianhídrico (HCN), únicamente el HCN es volátil en soluciones acuosas y solo el ion CN⁻ tiene la capacidad de formar complejos con distintos iones metálicos (Tuya, 2014). En condiciones ácidas o con un pH < 8, casi todo el cianuro libre se encuentra presente como HCN, debido a que hay abundantes iones de hidrógeno presentes, los cuales pueden volatilizarse y dispersarse; mientras que al contar con un pH > 10.5 hay pocos iones de hidrógeno presentes y casi todo el cianuro libre está presente como CN⁻ (Logsdon et al., 2001) (Figura 1-4). El HCN es un ácido débil, altamente soluble, con una constante de disociación de 4.365×10^{-10} y una pKa=9.31 a 20°C, disminuyendo hasta una pKa=8.88 a 40°C (Fernández-Pérez, 2007). Estas formas de cianuro libre son importantes ya que son consideradas como los cianuros más tóxicos, sin embargo, también son los que más fácilmente pueden llegar a eliminarse mediante la volatilización (Logsdon et al., 2001).

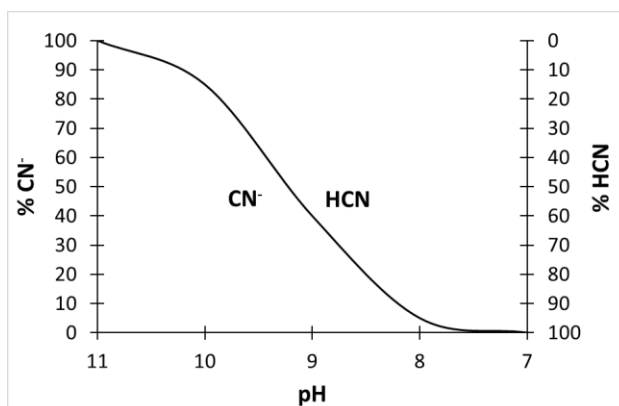


Figura 1-4. Equilibrio de CN⁻/HCN con el pH

Fuente: Logsdon et al., 2001

1.4.2 COMPLEJOS DE CIANURO

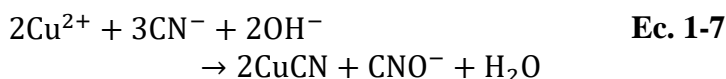
El mineral acuífero casi siempre contiene otros metales, entre los que se encuentran el hierro, cobre, zinc, níquel y plata, así como elementos tales como el arsénico. En la mayoría de los cuerpos mineralizados, las concentraciones de otros metales, en general, son mayores que la concentración del mineral de interés en varios órdenes de magnitud (Tabla 1-4) (Logsdon et al., 2001; Álvarez-García, 2005). Al utilizar soluciones con cianuro para extraer oro, ocurren reacciones entre el cianuro y otros metales (p.ej. hierro, cobre, zinc, níquel, plata y arsénico) los cuales pueden disolverse en cantidades significativas formando complejos débiles o fuertes (Hanela et al., 2015).

Tabla 1-4. Análisis de metales en relaves mineros

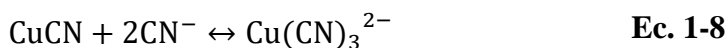
Metal	Rango de concentración (mg·L⁻¹)
Cianuro total	50-2,000
Arsénico	0-115
Cobre	0.1-300
Hierro	0.1-100
Plomo	0-0.1
Molibdeno	0-4.7
Níquel	0.3-35
Zinc	13-740

Fuente: Logsdon et al. (2001)

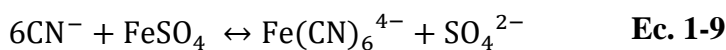
El cobre, al tener dos estados de oxidación en solución (cuproso y cúprico) y a que el ion cúprico es inestable en presencia del cianuro, se reducirá y precipitará como cianuro cuproso (**Ec. 1-7**) (Fernández-Pérez, 2007):



En cambio, si existe suficiente cianuro en la solución, el ion no precipitará y se estabilizará en la solución como complejo triciano cuprito (**Ec. 1-8**) (Fernández-Pérez, 2007):



El hierro (férrico y ferroso) forman complejos estables con el cianuro dependiendo de su estado de oxidación: ferrocianuros o ferricianuros. Tanto los ferricianuros y ferrocianuros alcalinotérreos son solubles en agua, mientras que los ferricianuros y los ferrocianuros de metales pesados no lo son (**Ec. 1-9**). Existen además formas estables mixtas de ambos complejos, como lo son el ferrocianuro de potasio cuproso ($\text{Cu}_2\text{K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$) o el ferricianuro de potasio de zinc ($\text{ZnKFe}(\text{CN})_6$), entre otros (Fernández-Pérez, 2007; Álvarez-García, 2005).



Otra clasificación existente es como compuestos simples, que son aquellos compuestos iónicos que se disocian directamente en el agua liberando un catión y un anión, éstas son las sales que provienen de reacciones ácido-base, como lo son: cianuro de sodio y de potasio (NaCN y KCN) respectivamente (Tuya, 2014), los cuales a su vez pueden convertirse en cianatos (CNO^{-}) al someterse a procesos de oxidación o formar tiocianatos (SCN^{-}), al reaccionar entre compuestos reducidos de azufre y cianuro (Fernández-Pérez, 2007). La velocidad de disociación de los complejos depende de varios factores, entre ellos, el pH de las soluciones, la concentración inicial del complejo de cianuro, la temperatura y la radiación ultravioleta (Logsdon et al., 2001).

El grado y velocidad en que se disocian estos complejos depende en gran medida del pH de la solución, así como también de otros factores como la concentración inicial del complejo de cianuro, la temperatura, el potencial REDOX (Eh) de la solución, las constantes de formación (K) (**Tabla 1-5**) y la intensidad de luz (UV) ([Álvarez-García, 2005](#)).

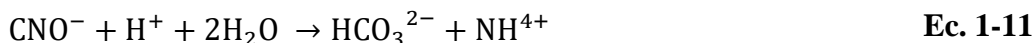
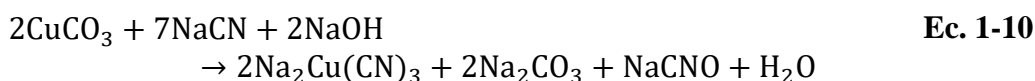
Tabla 1-5. Constantes de formación de algunos cianuros metálico

Reacción	Log K (25°C)
$H^+ + CN^- \leftrightarrow HCN$	9.2
$Cd^{2+} + CN^- \leftrightarrow CdCN^+$	5.6
$Cu^+ + 2CN^- \leftrightarrow Cu(CN)_2^-$	18.8
$Cu^+ + 3CN^- \leftrightarrow Cu(CN)_3^{2-}$	23.5
$Cu^+ + 4CN^- \leftrightarrow Cu(CN)_4^{3-}$	30.3
$Fe^{2+} + 6CN^- \leftrightarrow Fe(CN)_6^{4-}$	35.4
$Co^{3+} + 6CN^- \leftrightarrow Co(CN)_6^{3-}$	64.0
$Fe^{3+} + 6CN^- \leftrightarrow Fe(CN)_6^{3-}$	43.5
$Ni^{2+} + 4CN^- \leftrightarrow Ni(CN)_4^{2-}$	31.8
$Zn^{2+} + CN^- \leftrightarrow Zn(CN)^+$	5.3
$Zn^{2+} + 2CN^- \leftrightarrow Zn(CN)_2$	11.1

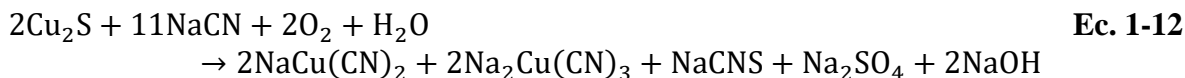
Fuente: [Álvarez-García, 2005](#)

1.4.2 SUBPRODUCTOS DERIVADOS DEL CIANURO

Los principales compuestos derivados del cianuro generados como subproductos son el cianato (CNO^-), tiocianato, iones nitrato y nitrito y amoníaco. El CNO^- es un producto de la reacción entre un ión cianuro y un ión metálico, o durante el tratamiento de efluentes que contienen cianuro por medio de un agente oxidante como el peróxido de hidrógeno o el ión hipoclorito. En la **Ec. 1-10** se describe la formación de cianato el caso específico en el cual se encuentra presente el carbonato cúprico a partir de un mineral, el cual puede hidrolizarse para producir el ión amonio (**Ec. 1-11**).



El tiocianato (SCN^-) es un pseudohalógeno, ya que forma sales insolubles con plata, mercurio, plomo, cobre y zinc, además de formar complejos similares con los metales de transición, sin embargo, estos últimos pueden disociarse en la solución en mayor medida que los complejos equivalentes de cianuro. Se forma por la reacción entre el cianuro, oxígeno y sustancias con azufre, ya sea en forma de minerales o polisulfuros. En la **Ec. 1-12** **Ec. 1-11** se muestra el caso específico de la formación de SCN^- a partir de calcocita (Cu_2S).



Por otra parte, el cianuro puede hidrolizarse lentamente en el agua a pH de 10.5 para formar ión formiato y amonio (**Ec. 1-13**). En solución acuosa, el amoniaco libre (NH_3) existe en equilibrio con el ión amonio (**Ec. 1-14**).



1.5 TOXICIDAD DEL CIANURO

1.5.1 CIANURO

El cianuro no es acumulativo, por lo cual, no causa enfermedades crónicas, además al no contar con bioensayos o estudios epidemiológicos suficientes para determinar los efectos carcinógenos del cianuro, se considera “no clasificable como carcinógeno humano” (Ramírez, 2010). Sin embargo, actualmente existe un riesgo a la salud humana, mamíferos, reptiles, anfibios, aves, peces y otros integrantes de la vida acuática por la exposición a éste (Logsdon et al., 2001). El cianuro entra en el cuerpo mediante diversas vías (inhalación, ingestión o absorción) y se caracteriza por ser un inhibidor enzimático no específico, ya que puede actuar inhibiendo varias enzimas, como la succinildeshidrogenasa, la superóxidodismutasa, la anhidrasa carbónica, la citocromooxidasa, entre otras (Ramírez, 2010).

La exposición a este contaminante puede provocar que el cianuro forme complejos con el hierro en la sangre, con lo cual la síntesis de ATP en las mitocondrias es inhibida y trae como consecuencia enfermedades como hipoxia en los tejidos y cianosis (decoloración azulada de la piel), al inhibir la transferencia de oxígeno a las células (Kuyucak y Akcil, 2013; Dwivedi et al., 2015). En estudios realizados en animales se ha demostrado que puede producir fetotoxicidad y efectos teratógenos, como encefalocele, exencefalia y anomalías en el desarrollo de los arcos costales (Ramírez, 2010).

A pesar de que existen numerosos estudios sobre los efectos no carcinogénicos de la exposición a cianuros (toxicidad sobre el sistema reproductor y el desarrollo fetal, sobre órganos blancos primarios y órganos blancos secundarios) en este trabajo no se hará mención de todos ellos ya que no es el objetivo principal, sin embargo, en la **Tabla 1.5-1** se mencionan algunos de los estudios que se han realizado para conocer la dosis letal media de distintas especies de cianuro (Ramírez, 2010). El cianuro libre por ingestión o inhalación varía entre 50 y 200 mg (1 a 3 mg de cianuro libre kg^{-1} de masa corporal), en cuanto a la dosis letal por absorción dérmica es de aproximadamente 100 mg kg^{-1} de masa corporal (Logsdon et al., 2001; NJHealth, 2017). La inhalación de 100-300 mg·L⁻¹ de HCN produce una muerte dentro de los primeros 60 minutos, mientras que si la concentración inhalada es de 2,000 mg·L⁻¹, puede causar la muerte en un minuto (Kuyucak y Akcil, 2013).

Tabla 1.5-1. Dosis letal media (DL50) de cianuro

Animal	Compuesto	Dosis	Tiempo de exposición (min)
Ingestión (mg·kg⁻¹)			
Ratas	HCN	8.5	Sin información
	NaCN	6.4	
	KCN	10.0	
	CaCN	39.0	
Humanos	CNK o CNNa	200.0	
Inhalación (mg·L⁻¹)			
Ratones		323	5
		142	30
Gatos		182	30
Cabra	HCN	410	30
Monos		87-196	30
Humanos		110-135	60
		546	10
Adsorción (mg·kg⁻¹)			
Conejos	HCN	1.09	3-12
	KCN	7.87	
	NaCN	5.05	

Fuente: Ramírez (2010)

1.6 NORMATIVIDAD

En México, las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) establecen los Límites Máximos Permisibles (LMP) de contaminantes, en este caso cianuro. La [NOM-001-SEMARNAT-1996](#) establece los LMP en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, en cuanto a los LMP de cianuros como promedio diario en embalses naturales y artificiales para uso en riego agrícola es de 3 mg·L⁻¹, para uso público urbano y en ríos para la protección de vida acuática es 2 mg·L⁻¹; en cuanto a la [NOM-127-SSA1-1994](#), el LMP para cianuro en agua potable es de 0.07 mg·L⁻¹. Mientras que la [NOM-052-SEMARNAT-2005](#), establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos, en el listado 5 se encuentra la clasificación por tipo de residuos sujetos a condiciones particulares de manejo y en ella se encuentra el cianuro con las claves E1/01 al cianuro (complejos), E9/10 cianuro (complejos), NE 07-11 al cianuro (sales) como residuos CRETIB (por presentar características de Corrosividad, Reactividad, Explosividad, Toxicidad, Inflamabilidad o Biológico-Infecioso); un residuo es considerado reactivo cuando posee en su constitución cianuros que cuando se exponen a condiciones ácidas generan gases en cantidades mayor a 250 mg de ácido cianhídrico por kg de residuo.

De acuerdo a la **Norma Chilena Oficial NCh1333.Of87** establece los requisitos de calidad del agua para diferentes usos, el LMP de cianuro para agua de riego es de 0.20 mg·L⁻¹ y en la **Norma Chilena Oficial NCh409/1.Of84** se establece como LMP de cianuro libre para

agua potable de $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En Colombia de acuerdo al **Decreto Supremo No. 010-2010-MINAM**, se establece como LMP para la descarga de cianuro en $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para efluentes líquidos de actividades minero-metalúrgicas y de acuerdo al **Decreto Número 475 de 1998** (normas técnicas) se establece como LMP $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cianuro libre y $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cianuro total en agua potable. La **Agencia de Protección Ambiental** (EPA, Environmental Protection Agency por sus siglas en inglés) establece como LMP de cianuro libre en cuerpos de agua dulce para la vida acuática es $50 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y para agua potable es de $200 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Mientras que la **Organización Mundial de la Salud** (OMS) establece como LMP $0.07 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en el agua potable y en Canadá el límite de cianuro total en agua potable es de $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ([Ministry of Environment Ontario, 2013](#)).

La **UE 2006/21/CE** sobre la gestión de los residuos de industrias extractiva en el artículo 13 (6), exige que "la concentración de cianuro WDA en las balsas se reduzca al nivel más bajo posible utilizando las mejores técnicas disponibles", y por lo menos todas las minas que comenzaron después del 1 de mayo de 2008 no pueden descargar desechos que contengan más de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cianuro WAD, minas construidas o autorizadas antes de esa fecha se les permite no más de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ inicialmente, bajando a $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2013 y $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en 2018. Mientras que la legislación española establece como límite en aguas superficiales continentales $40 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ([Real Decreto 817/2015](#)). El HCN gaseoso tiene como límite máximo permisible (LMP) $4.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para la Conferencia Estadounidense de Higienistas Industriales Gubernamentales y el **Instituto Nacional para la Salud y Seguridad en el Trabajo** (ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists y NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health) y de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para la **Administración de Salud y Seguridad en el Trabajo** (OSHA, Occupational Safety and Health Administration).

Es posible observar que la normatividad mexicana tanto para descargas de aguas residuales como de agua potable es en extremo laxa en comparación con Estados Unidos Americanos o la Unión Europea, motivo por el cual a pesar de ser indispensable el tratar los residuos generados de la industria minera es imperativa la revisión de la legislación en nuestro país.

1.7 TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTOS PARA COMPUESTOS CIANURADOS

Una vez que es extraído el oro de la solución cargada, el agua presenta cianuro residual el cual debe de ser tratado previamente a su disposición. Existen diversas tecnologías de tratamiento entre las que se encuentran la degradación natural en lagunas, la recirculación, la oxidación química, la precipitación y la biodegradación ([Fernández-Pérez, 2007](#)).

Los procesos químicos consisten en la cloración alcalina, la oxidación con peróxido de hidrógeno, el proceso INCO (SO_2 /aire), la radiación ultravioleta, el ozono, entre otros ([Kuyucak y Akcil, 2013](#)), los cuales se basan fundamentalmente en la estabilización y en la oxidación química, sin embargo, generalmente suelen ser efectivos solamente con cianuro libre y complejos cianuro-metálicos débiles, siendo difícil la eliminación del cianuro unido fuertemente a metales. La estabilización es un proceso donde se mezclan diversos reactivos con el cianuro para minimizar tanto su velocidad de migración como su toxicidad, mientras que la oxidación química destruye el cianuro e imposibilita su reutilización. La **Tabla 1.5-2**

muestra las reacciones ocurridas en los tratamientos más utilizados para llevar a cabo la eliminación de cianuro.

La **Tabla 1.5-3** muestra las principales tecnologías fisicoquímicas disponibles para el tratamiento cianuros procedentes de relaves mineros, así como ventajas y desventajas de cada una de ellas, mientras que la **Tabla 1.5-4** Comparación de los principales la capacidad de oxidación de cada uno de ellos.

Tabla 1.5-2. Tratamientos físico-químicos para llevar a cabo la eliminación de cianuro
(adaptado por Alvillo-Rivera et al., 2020)

Método	Reacciones
Volatilización	$\text{HCN} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{CN}^-$
Cloración alcalina	$\text{CN}^- + \text{Cl}_2 \rightarrow \text{CNCl} + \text{Cl}^-$ $\text{CNCl} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CNO}^- + 2\text{H}^+ + \text{Cl}^-$
Ozonación	$\text{CN}^- + \text{O}_3 \rightarrow \text{CNO}^- + \text{O}_2$ $2\text{CNO}^- + 3\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{N}_2 + 3\text{O}_2$
Peróxido de hidrógeno	$\text{CN}^- + \text{H}_2\text{O}_2 \leftrightarrow \text{CNO}^- + \text{H}_2\text{O}$ $\text{CNO}^- + 3\text{H}_2\text{O}_2 \leftrightarrow \text{NO}_2^- + \text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$ $\text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2 \leftrightarrow \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$
UV-H ₂ O ₂	$\text{H}_2\text{O}_2 + \nu(\text{UV}) \leftrightarrow 2 \text{OH}$ $\text{CN}^- + 2 \text{OH} \leftrightarrow \text{CNO}^- + \text{H}_2\text{O}$
Dióxido de azufre (INCO)	$\text{CN}^- + \text{SO}_2 + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CNO}^- + \text{H}_2\text{SO}_4$ $\text{M}(\text{CN})_x^{y-x} + \text{SO}_2 + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CNO}^- + \text{H}_2\text{SO}_4$
Ácido CARO	$\text{CN}^- + \text{H}_2\text{SO}_5 + 2\text{OH}^- \leftrightarrow \text{CNO}^- + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{SO}_4^{2-}$ $\text{M}(\text{CN})_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{SO}_5 + 10\text{OH}^- \leftrightarrow \text{M}(\text{OH})_2 + 4\text{CNO}^- + 8\text{H}_2\text{O} + 4\text{SO}_4^{2-}$

Tabla 1.5-3. Principales tecnologías para el tratamiento de relaves mineros (Adaptada por Alvillo-Rivera, 2021)

Tecnología	Proceso	Ventajas	Desventajas	Referencia
Degradación natural	Degradación natural	<ul style="list-style-type: none"> Se lleva a cabo la transformación de los complejos débiles del cianuro y se incorporan a la atmósfera. 	<ul style="list-style-type: none"> Se requiere de grandes superficies para llevar a cabo los mecanismos de volatilización No trata los complejos de cianuro fuertemente ligados 	Cornejo, 2016; Logsdon et al., 2001; Tuya, 2014
Recirculación	Recirculación	<ul style="list-style-type: none"> Reduce las concentraciones de cianuro en las aguas residuales Disminución en el costo de su tratamiento Disminución en el costo del cianuro como materia prima 	<ul style="list-style-type: none"> Se requiere de un tratamiento para el agua pueda ser dispuesta 	Logsdon et al., 2001
Oxidación biológica	Oxidación biológica	<ul style="list-style-type: none"> Bacterias y hongos tienen enzimas capaces de degradar el cianuro y sus complejos Formación de compuestos menos tóxicos (nitrógeno, ácido fórmico, CO₂) Los microorganismos utilizan el cianuro como fuente de carbono y nitrógeno 	<ul style="list-style-type: none"> Se requieren estudios específicos por sitio de estudio No puede tratar elevadas concentraciones 	Dash et al., 2009; Kuyucak y Akcil, 2013
Oxidación química	SO ₂ /aire	<ul style="list-style-type: none"> Se logra la oxidación del cianuro libre y el cianuro WAD. El cianuro de hierro es precipitado Reacciones rápidas 	<ul style="list-style-type: none"> No se puede oxidar subproductos intermediarios del cianuro Se requiere licencia para utilizar el proceso 	Logsdon et al., 2001; Ramírez-Cardoso, 2015
	H ₂ O ₂	<ul style="list-style-type: none"> Oxidación del cianuro libre y cianuro WAD para su conversión en amonio y carbonato Precipitación de cianuros de hierro 	<ul style="list-style-type: none"> No es posible adaptar el tratamiento de lodos mediante la adición de H₂O₂ debido a la presencia de sólidos Se requiere un pretratamiento para la eliminación de sólidos 	Logsdon et al., 2001; Ramírez-Cardoso, 2015

Tecnología	Proceso	Ventajas	Desventajas	Referencia
	UV-H ₂ O ₂	<ul style="list-style-type: none"> • La irradiación de luz ultravioleta a soluciones que cuentan con H₂O₂ causa la rotura de la molécula y la formación de radicales ·OH • Elevado potencial de oxidación en los radicales ·OH⁻ (E₀=2.8 V) 	<ul style="list-style-type: none"> • Concentraciones muy altas pueden presentar un efecto inhibitorio en la reacción, ya que puede atacar los radicales ·OH⁻ producidos • Los radicales producidos tienen una vida útil corta 	<p>Quispe et al., 2011; Ramos-García, 2016; Malhotra et al., 2005; Dabrowsky et al. (2005)</p>
	O ₃ y H ₂ O ₂	<ul style="list-style-type: none"> • Son capaces de oxidar todos los compuestos de cianuro, incluidos los más estables de Fe • Se puede regenerar el cianuro 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado costo debido al requerimiento de H₂O₂ y a la energía requerida para la producción de ozono • Variación en el pH del efluente al aplicar ozono 	<p>Beltrán et al., 1997; Beltrán et al., 1999; Logsdon et al., 2001; Dash et al., 2009</p>
	O ₃	<ul style="list-style-type: none"> • Oxida fenoles y cromóforos, transformándolos en productos no tóxicos e incoloros 	<ul style="list-style-type: none"> • Altos costos debido al equipo y reactivos. • Generación de ozono in situ. 	<p>Fernández-Pérez, 2007; Dash et al., 2009</p>
	Cloración alcalina	<ul style="list-style-type: none"> • Destrucción de complejos WAD y tiocianatos 	<ul style="list-style-type: none"> • Uso de cloro, el cual puede crear residuos tóxicos que requieren un tratamiento posterior • No trata los complejos de hierro • Producción de lodos 	<p>Dumestre et al., 1997; Kuyucak y Akcil, 2013; Dash et al., 2009</p>
	Oxidación anódica	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente efectiva 	<ul style="list-style-type: none"> • Costosa • Requiere un postratamiento 	<p>Dash et al., 2009</p>
	Oxidación catódica	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente efectiva en la presencia de cobre 	<ul style="list-style-type: none"> • No es un tratamiento completo 	<p>Dash et al., 2009</p>
Adsorción	Carbón activado	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente efectivo 	<ul style="list-style-type: none"> • Bajas concentraciones. • Se requiere pretratamiento • Costoso 	<p>Tuya, 2014; Dash et al., 2009</p>
	Resinas	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente efectivo • Alta capacidad de adsorción (quelante o en intercambio iónico) 	<ul style="list-style-type: none"> • Se requiere pretratamiento • Difícil de sustituir 	<p>Tuya, 2014; Dash et al., 2009; Young & Jordan, 1993</p>

Tecnología	Proceso	Ventajas	Desventajas	Referencia
Membranas	Ósmosis inversa	<ul style="list-style-type: none"> • Es efectiva para la remoción simultánea de un gran número de contaminantes 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevados costos tanto en la inversión como en la operación • Disposición de salmueras generadas 	Sharma et al., 2008
	Coagulación convencional-precipitación	<ul style="list-style-type: none"> • Bajos costos de inversión • Bajos tiempos de reacción 	<ul style="list-style-type: none"> • La precipitación es ineficiente si existen metales formando complejos o si se encuentran presentes en forma de aniones • Elevada producción de lodos 	Sharma et al., 2008; CICA, 2013; Zhe-Hao et al., 2013
Otros	Oxidación avanzada (Ozono)-Coagulación convencional	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente eficiente • Bajos tiempos de reacción • Formación de compuestos de cianuro estables (ferricianuros y ferrocianuros) 	<ul style="list-style-type: none"> • Se requiere de personal capacitado para la operación del equipo ozonador. • Elevada producción de lodos 	Ramírez-Cardoso, 2015; Carrillo-Flores (2018)
	AVR*	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción en los costos energéticos • Aumento de la volatilización 	<ul style="list-style-type: none"> • Altos consumos de ácido • Se requiere de reactores especiales • Elevada producción de lodos 	Dash et al., 2009
	Ácido CARO	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente eficiente 	<ul style="list-style-type: none"> • No se encuentra bien establecida la metodología • No es aplicable a todos los sitios • Personal especializado 	Dash et al., 2009
	Fotólisis	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente eficiente • No genera productos indeseables 	<ul style="list-style-type: none"> • Alto requerimiento de energía • Difícil de operar • Altamente costoso 	Dash et al., 2009

*AVR: Acidificación, volatilización y reneutralización

Tabla 1.5-4 Comparación de los principales tratamientos para cianuro libre y acomplejado (Adaptado por Alvillo-Rivera, 2021)

Proceso	¿Requiere pre-tratamiento?	¿Requiere post-tratamiento?	Efectividad para oxidar				
			Cianuro libre	Complejos débiles		Complejos fuertes	
				Cd/Zn (II)	Cu (II) /Ni (II)	Fe	Otros Cu (III)
Degradación natural	No	Si	Si	Si	Si	No	No
Recirculación	No	Si	No	No	No	No	No
Oxidación biológica	Si	Poco	Sí	La mayoría	La mayoría	Sí	Sí
SO ₂ /aire	Si	Poco	Si	Algunos	Si	Si	Si
H ₂ O ₂	Si	Sí	Sí	Sí	Algunos	Algunos	No
UV-H ₂ O ₂	Si	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
O ₃ -UV	Si	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
O ₃	Si	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No
Coagulación/floculación	No	Algunas	No	Si	Si	Si	Si
Cloración alcalina	Algunas	Si	Sí	Sí	Sí	No	No
Oxidación anódica	Algunas	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No
Oxidación catódica	Algunas	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Algunos
Carbón activado	Algunas	Poco	No	La mayoría	La mayoría	Sí	Sí
Resinas	Algunas	Poco	Algunos	Sí	Sí	Sí	Sí
Ósmosis inversa	Si	Poco	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
AVR	Si	Algunas	Sí	Sí	Sí	Algunos	Algunos
Ácido CARO	Si	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Fotólisis	Si	Poco	No	No	Algunos	Sí	Algunos

Todas las tecnologías necesitan un post-tratamiento, ya sea un menor o mayor medida (Álvarez-García, 2005), sin embargo las tecnologías de tratamiento fisicoquímicas son generalmente más costosas que el empleo de sistemas de tratamiento biológicos (Rangabhashiyam et al., 2016; Panigatti et al., 2012), y dicho costo depende directamente de la concentración presente de cianuro en el agua, lo cual las vuelve inviables cuando la concentración de cianuro a remover es elevada, o si la zona a remediar es amplia; por otra parte, los procesos biológicos han sido útiles para descontaminar acuíferos en áreas extensas, cuando el tratamiento fisicoquímico no es económicamente viable (Guertin et al., 2005).

1.8 TRATAMIENTO BIOLÓGICO

Los métodos biológicos, también llamados métodos de biorremediación, son el uso de organismos vivos (biomasa), componentes celulares o enzimas libres con el fin de transformar residuos o agentes contaminantes, así como alterar el estado redox de los metales. Dependiendo de la forma de aglomeración microbiana que utilicen los procesos biológicos, éstos se pueden dividir en: sistema de biomasa suspendida y sistemas de biomasa inmovilizada (biopelícula) (Nava-Urrego et al., 2014; Dash et al., 2008). A su vez, pueden clasificarse dependiendo de la disponibilidad de oxígeno en ellos: aerobios, anaerobios o anóxicos (Metcalf & Eddy, 2003). La biorremediación puede realizarse de dos maneras distintas, *in situ* (lugar donde se encuentra la contaminación) o *ex situ* (se retira el suelo/agua contaminada y se traslada a una unidad de tratamiento). En el caso de la biorremediación *in situ*, existen dos estrategias, la primera de ellas es agregando nutrientes para estimular las poblaciones naturales y con ello aumentar su actividad para la degradación del contaminante; mientras que la segunda se basa en la introducción de microorganismos adaptados al contaminante para llevar su biodegradación (Garcés-Molina et al., 2006).

La biomasa se conforma de numerosas especies, entre las que se encuentran bacterias, hongos y parásitos. Por su parte, existen diferentes tipos de bacterias dependiendo el ambiente en el que se encuentren, destacando entre ellas aquellas llamadas extremófilas, que se caracterizan por desarrollarse bajo condiciones que podrían matar a la mayoría de las especies (Ramírez et al., 2006).

La clasificación de las bacterias se lleva a cabo de acuerdo a su:

- *Fuente de oxígeno*- Aerobias estrictas, dependen de oxígeno para su crecimiento; anaerobias estrictas, se desarrollan en ausencia total de oxígeno; y anaerobias facultativas, pueden desarrollarse en presencia o ausencia de oxígeno.
- *Temperatura*- Termófilas (25-80°C, óptima 50-60°C), mesófilas (10-45°C, óptima 20-40°C) y psicrófilas (-5 a 30°C, óptima 10-20°C).
- *pH*- Acidófilas (1.0-5.0 unidades), neutrófilas (5.5-8.5 unidades) y alcalófilas (9.0-11.0 unidades).
- *Forma de nutrición*- Autótrofas quimiosintéticas (compuestos inorgánicos), fotosintéticas (luz UV) y heterótrofas (fuente de carbono orgánico).

Para llevar a cabo el tratamiento de los relaves mineros es necesario que se mantenga el pH básico para evitar la volatilización del cianuro, es por ello, que los microorganismos que se

pretende se encuentren presentes son los alcalófilos; los cuales se caracterizan por aislar el interior de la célula del medio alcalino exterior, mediante extremoenzimas (peptidoglicana) que se localizan cerca de la pared celular o por medio de secreciones externas, además tienen en su pared celular polímeros cargados negativamente, los cuales pueden reducir la densidad de la carga en la superficie de la célula y ayudar a estabilizar la membrana de la célula, además utilizan un gradiente de Na^+ en vez del habitual gradiente de protones para suministrar la energía para el transporte, la movilidad y la síntesis respiratoria de ATP (Ramírez et al., 2006).

Existen otros tipos de bacterias extremófilas como los xerófilos que pueden sobrevivir a una extrema desecación durante largos periodos de tiempo, los barófilos (piezófilos) que requieren condiciones de alta presión, los halófitos que crecen en ambientes salinos y los metalófilos, que pueden crecer en la presencia de altas concentraciones de metales (Ramírez et al., 2006).

La biodegradación depende de la degradabilidad que tiene cada compuesto y la biomasa contenida en el reactor (Flores-Velázquez, 2017). El proceso de degradación depende de la presencia de microorganismos con las habilidades físicas y metabólicas para degradar el ambiente contaminado. Los microorganismos encargados de llevar a cabo la degradación de cianuro, generalmente se dividen en dos clases: bacterias y hongos (Dash et al., 2009). En el caso particular de la biodegradación de los compuestos de cianuro, ésta depende directamente de la disponibilidad de nutrientes y de oxígeno, ya que los mecanismos de degradación de cianuro lo consumen. Otro factor importante que afecta la biodegradación de cianuro es la presencia de contaminantes adicionales (Dash et al., 2009), como la presencia de metales, ya que sus efectos tóxicos sobre los microorganismos se encuentran determinados por a) el desplazamiento de iones metálicos esenciales de biomoléculas y bloqueo de sus grupos funcionales, b) la modificación de la conformación activa de biomoléculas (enzimas y polinucleótidos), c) la ruptura de la integridad de biomoléculas y d) la modificación de otros agentes biológicamente activos (Cañizares-Villanueva, 2000).

Existe un factor adicional a tomar en cuenta al trabajar con reactores, el cual es la recirculación, debido a que ésta es usualmente aplicada para diluir los compuestos en la corriente del influente, sin embargo, ocasiona una reducción en la materia orgánica y vuelve a las bacterias nitrificantes más competitivas, trayendo como consecuencia un incremento en la nitrificación y en el oxígeno disuelto. Es importante tomar en cuenta el flujo de entrada, ya que, al aumentarse, se puede llegar a provocar el desprendimiento excesivo de la biopelícula (en sistema de biomasa inmovilizada), sin embargo, si es la velocidad es la adecuada la biopelícula desprendida será aquella que se encuentre en exceso y traerá como beneficios una distribución más homogénea del sustrato y del oxígeno y se mejorará la transferencia de masa del sustrato a la biopelícula (Flores-Velázquez, 2017; Wuertz et al., 2008).

1.8.1 Sistemas de biomasa suspendida

Dentro de los sistemas de biomasa suspendida encontramos los lodos activados y sus variantes, los reactores secuenciales batch y las lagunas. Las principales variantes de los lodos activados son completamente mezclados, donde la mezcla es homogénea en todo el

reactor mediante el uso de mezclado o agitación, y de flujo pistón, donde se alimenta al reactor de frente y el mezclado es llevado a cabo por difusores de aire o aireación mecánica; sin embargo, existen otros como la aireación modificada, la aireación con alimentación escalonada, contacto y estabilización, aireación prolongada, de alta carga, entre otros (Metcalf & Eddy, 2003).

Los más utilizados son los lodos activados que se pueden dividir en dos partes esenciales: un reactor biológico y una fase de separación. En el reactor biológico se pone en contacto la población microbiana (bacterias, hongos y protozoarios) con el agua residual para con ello oxidar los contaminantes y materia orgánica presentes, estos dos componentes al mezclarse forman el licor mezclado. La fase de separación consiste en remover los lodos del agua mediante un proceso de sedimentación (Metcalf & Eddy, 2003). Una parte de este lodo separado se debe regresar (recirculación) al reactor biológico para mantener la concentración de lodos (inóculo bacteriano) necesaria para llevar a cabo un tratamiento efectivo (Flores-Velázquez, 2017).

Los principales factores que afectan el proceso de lodos activados son:

- Edad del lodo
- Concentración de sólidos suspendidos en el licor mezclado (SSLM)
- Concentración de oxígeno disuelto
- Tiempo de retención hidráulica (TRH)
- Tiempo de retención celular (TRC)

En este tipo de sistemas, los microorganismos se encuentran constantemente provistos de materia orgánica y oxígeno, para que puedan desarrollarse formando flóculos y transformando a su vez los contaminantes presentes en sustancias menos tóxicas. Debido a que los lodos activados presentan muchas variantes, cada una de ella presenta distintos parámetros de operación (Tabla 1.5-5) lo cual permite la flexibilidad de los procesos.

Tabla 1.5-5. *Parámetros típicos de operación utilizados en procesos de lodos activados*

Variante	TRC (d)	Relación F/M (kg DBO · kg SSVLM ⁻¹ · d ⁻¹)	Carga volumétrica (kg DBO · m ⁻³ · d ⁻¹)	SSLM (mg · L ⁻¹)	TRH (h)	Qr/Q*
Convencional	3-15	0.2-0.4	0.3-0.7	1,000-3,000	3-6	0.25-0.75
Reactor de mezcla completa	3-15	0.2-0.6	0.30-1.6	1,500-4,000	3-5	0.25-1.0
Aireación con alimentación escalonada	3-15	0.2-0.4	0.7-1.0	1,500-4,000	3-5	0.25-0.75
Contacto y estabilización	5-10	0.2-0.6	1.0-1.30	1,000-3,000	0.5-1.0	0.50-1.50
Aireación extendida	20-40	0.04-0.10	0.10-0.30	2,000-4,000	20-30	0.50-1.50
Aireación de alta carga	0.5-2	1.5-2.0	1.20-2.40	500-1,500	1-2	1.0-5.0

Fuente: Metcalf & Eddy, 2014; *Metcalf & Eddy, 2003

Tal como se mencionó anteriormente existen diversas variantes de los sistemas de lodos activados, las cuales han sido desarrolladas para tratar determinado tipo de aguas residuales. Algunas de las ventajas y desventajas que presentan estas variantes se muestran en la **Tabla 1.5-6**.

Tabla 1.5-6. Ventajas y desventajas de las variantes de lodos activados

Variante	Ventajas	Desventajas
Convencional	<ul style="list-style-type: none"> Se puede adaptar a varios esquemas de operación 	<ul style="list-style-type: none"> El diseño de aireación es complicado
Reactor de mezcla completa	<ul style="list-style-type: none"> Se puede adaptar a varios tipos de aguas residuales 	<ul style="list-style-type: none"> Es susceptible a la acumulación de lodos
Aireación con alimentación escalonada	<ul style="list-style-type: none"> Distribuye la carga orgánica para proporcionar una demanda de oxígeno más uniforme 	<ul style="list-style-type: none"> El diseño del proceso y la aireación de este es complicado
Contacto y estabilización	<ul style="list-style-type: none"> Áreas pequeñas para aireación 	<ul style="list-style-type: none"> No es posible llevar a cabo la nitrificación
Aireación extendida	<ul style="list-style-type: none"> Es capaz de tratar cargas altamente variables y compuestos tóxicos 	<ul style="list-style-type: none"> Tanques de aireación relativamente largos
Aireación de alta carga	<ul style="list-style-type: none"> La transferencia de oxígeno es mayor que en sistemas de aireación convencional 	<ul style="list-style-type: none"> Se requiere personal altamente capacitado para su operación

Fuente: Metcalf & Eddy, 2014

Los mecanismos de remoción de metales en este tipo de procesos consisten en la reducción y posteriormente la adsorción en los sólidos suspendidos (Ramírez-Díaz et al., 2008 y Stasinakis et al., 2004), para ello es necesario proporcionar sitios de nucleación adecuados asociados a las superficies celulares (Cascart-Carmentay et al., 2014) y una fuente de carbono continua, debido a que la falta de ésta, impide que la reducción de metales sea efectiva (Molokwane y Chirwa, 2013). Es indispensable llevar a cabo la aclimatación y adaptación de los microorganismos al contaminante en cuestión, para poder contar con buenas eficiencias de remoción y valores de mortandad bajos (Klimek et al., 2013), ya que gracias a ésta se seleccionan los microorganismos que son resistentes o que están adaptados metabólicamente a metales pesados (Stasinakis et al., 2002).

1.8.2 Sistemas de biomasa inmovilizada

Los sistemas de biomasa inmovilizada pueden dividirse en dos tipos: sistemas estacionarios o de medio fijo (el agua se mueve a lo largo del medio estacionario) y sistemas de medio en movimiento o reactores de lecho móvil (el medio sólido se mueve a través del líquido) (Bassin et al., 2011; Ibrahim et al., 2012). En los reactores de lecho móvil o MBBR (Reactor de biomasa en lecho móvil o Moving Bed Biofilm Reactor, por sus siglas en inglés) el crecimiento de la biomasa (biopelícula) en los soportes que se encuentran en el reactor se realiza de dos maneras: sobre la superficie de los soportes y dentro de éstos (Quan et al., 2012). Los soportes se mueven mediante la agitación generada por sistemas de aireación (aerobios) o mecánicos (anóxicos o anaerobios), por lo que deben contar con una densidad menor a la del agua, generalmente son de $1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ y los porcentajes de llenado son menores al 70% (Zalakain y Manterola, 2011; Rusten et al., 2006), McQuarrie & Boltz (2016) señalan

que los porcentajes de llenado óptimos en reactores anaerobios es del 57% mientras que en los aerobios del 60%.

El desarrollo de la película microbiana consiste en diversas etapas ([Smith-Nava, 2016](#)), las cuales se describen a continuación:

- *Adsorción*- Se forma una capa superficial sobre el soporte debido a la adsorción de macromoléculas (proteínas, polisacáridos, ácidos nucleídos y húmicos) y moléculas más pequeñas (ácidos grasos, lípidos y contaminantes)
- *Colonización*- Los microorganismos se adhieren por medios de flajelos o sustancias poliméricas extracelulares (SPE).
- *Crecimiento*- Después de que algunos microorganismos se adhieren a la superficie, éstos se propagan rápidamente, generalmente se forma una capa delgada que cubre toda la superficie.
- *Oportunismo*- Los microorganismos de lento crecimiento, utilizan la delgada biopelícula formada como soporte para llevar a cabo su propio crecimiento.
- *Estabilización*- En esta fase se alcanza el llamado equilibrio trófico, que es aquel donde las relaciones entre los organismos y el número de individuos de cada grupo es estable.
- *Acumulación*- El material particulado, así como la síntesis de residuos por parte de la biomasa se acumula, excediendo el espesor crítico, generando con ello los ambiente anóxicos y anaerobios.
- *Desprendimiento*- Los microorganismos inferiores pierden su capacidad para adherirse a la superficie del medio debido a la desestabilización por la incapacidad de adquirir los nutrientes solubles, lo que origina el desprendimiento de algunas porciones de la biopelícula.

La biopelícula se desarrolla sobre la superficie de los soportes, gracias a la producción de sustancias poliméricas extracelulares ([Nava-Urrego et al., 2014](#)) que las mantienen unidas entre sí y adheridas ella ([Bassin et al., 2011](#); [Ibrahim et al., 2012](#); [Srinandan et al., 2012](#)). Por otra parte, el desarrollo de la biopelícula dentro de los soportes, se lleva a cabo mediante el depósito o al quedar atrapadas en los espacios vacíos interiores del mismo ([Quan et al., 2012](#)).

La biopelícula puede estar formadas por una o varias especies de microorganismos (interactuando de forma simbiótica o compitiendo por los sustratos disponibles) ([González-Brambila y López-Isunza, 2008](#)) y su grosor varía de 70 μm a 10 mm ([Metcalf & Eddy, 2003](#); [Vesilind, 2003](#); [Ibrahim et al., 2012](#)). Los microorganismos con la más alta tasa de crecimiento (bacterias heterótrofas) se encuentran en el exterior de la biopelícula mientras que los microorganismos de más lento crecimiento (bacterias nitrificantes) en el interior ([Ibrahim et al., 2012](#)). La densidad y grosor de la biopelícula influyen en la difusión del oxígeno disuelto, carbón orgánico y otros compuestos. De manera general la biopelícula incrementa con la profundidad, mientras que la porosidad y diámetro de poro disminuyen con ella; esto ocasiona que exista una disminución de la difusividad efectiva de sustratos y nutrientes en la biopelícula, con lo cual decrece la actividad metabólica mientras se alcanza una mayor profundidad en la biopelícula ([Flores-Velázquez, 2017](#); [Wuertz et al., 2008](#)).

En una película gruesa o densa, las colonias bacterianas crecen juntas y esto genera canales de pequeños diámetros en la estructura, dificulta la transferencia de elementos como oxígeno

disuelto o carbón orgánico. En las biopelículas delgadas ($<300 \mu\text{m}$) el oxígeno puede penetrar totalmente hasta llegar a su interior, mientras que conforme se aumenta el espesor de la biopelícula, la profundidad de penetración del oxígeno disminuye (Hibiya et al., 2004; Flemming et al., 2000).

Las principales ventajas de los reactores de lecho móvil sobre los sistemas con microorganismos suspendidos son:

- Remoción simultánea de compuestos carbonados y nitrogenados (Quan et al., 2012).
- Altas tasas de nitrificación y desnitrificación debido a la coexistencia de actividad metabólica anóxica y aerobia dentro del mismo reactor (Nava-Urrego et al., 2014).
- Configuración mecánica simple (Guo et al., 2010).
- Requerimiento de espacios pequeños (Guo et al., 2010; Karamba et al., 2017; Metcalf & Eddy, 2003).
- Bajos costos de operación y energía (Quan et al., 2012; Guo et al., 2010).
- Grandes tiempos de retención celular (Guo et al., 2010).
- Gran superficie para colonización (Guo et al., 2010).
- Alta concentración de biomasa, debido a la disponibilidad de mayor área de superficie específica (Karamba et al., 2017; Metcalf & Eddy, 2003)
- Alta biomasa específica, por lo tanto, existe una alta resistencia a compuestos tóxicos y una mayor tolerancia a las altas cargas de contaminantes (Srinandan et al., 2012; Guo et al., 2010)
- Protección de microorganismos de crecimiento lento (Guo et al., 2010).

Existen muchos materiales para llevar a cabo la inmovilización de la biomasa, sin embargo, los materiales de empaque más estudiados son piedras (tezontle, granito), arcilla y materiales sintéticos (polipropileno, polietileno, poliuretano, poliestireno, residuos plásticos) (Smith-Nava, 2016). Éstos empaques deben poseer ciertas características, como lo son el ser estructuralmente resistente (resistencia a la degradación por UV, erosión o degradación, ataque de hongos y bacterias), no ser tóxicos para los microorganismos, ligeros, con una gran área superficial (influenciada por el tamaño y configuración del empaque) (Tabla 1.5-7), superficies rugosas, precio reducido y propiciar la rápida colonización de los microorganismos (Quan et al., 2012; Metcalf & Eddy, 2003; CONAGUA, 2014; Camargo-Rodríguez, 2011; Rusten et al., 2006).

Tabla 1.5-7. Áreas específicas para el crecimiento de bacterias en distintos empaques

Empaque	Área superficial ($\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$)
Cinta de polietileno	1,210
Cubos de poliuretano	700
Kaldnes K-1	500
Kaldnes K-3	500
Kaldnes K-2	350
Biocascada R	300

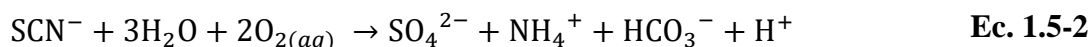
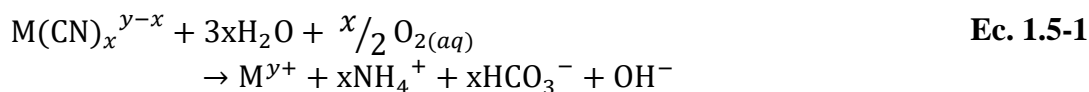
Fuente: Adaptada por Alvillo-Rivera (2021)

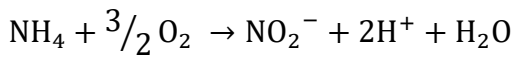
Los cubos de poliuretano presentan un alto porcentaje de porosidad del medio (99%) y una elevada área superficial, lo que los hace ideales para promover la auto inmovilización microbiana, permitiendo alcanzar los más altos tiempos de retención celular (39 días) (Mijaylova et al., 2008), además de contar con una buena resistencia y ser de bajo costo (Quan et al., 2012). Estudios realizados probando distintos tamaños de cubos han demostrado que existe una mayor remoción de nitrógeno amoniacal cuando los cubos son más pequeños (1-2 cm), debido a la presencia de mayor área específica de superficie externa disponible para el crecimiento de la biomasa, mientras que a un mayor porcentaje de llenado de los soportes (20%) la eliminación de compuestos como los emergentes se incrementa (Flores-Velázquez, 2017). El crecimiento microbiano en cubos de poliuretano con alta carga orgánica volumétrica ($>4.0 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$) es compacta y gruesa; mientras que si la carga orgánica es baja ($2.0\text{-}3.5 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), la biopelícula es delgada y porosa; sin embargo, si la carga orgánica es menor a $2.0 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, algunas partes de los soportes no son cubiertas por los microorganismos (Quan et al., 2012).

La nitrificación en MBBR con soportes tipos Kaldnes, medio de soporte sintético, ha sido ampliamente estudiada y se encuentra influenciada por la carga orgánica, el oxígeno disuelto, la temperatura, el pH y la alcalinidad (Rusten et al., 2006). En estudios realizados por Quan et al., (2012) se logró remover un 96% de amonio con reactores empacados con 40% del volumen final del reactor, mientras que Andreottola et al. (2000) al trabajar con un porcentaje de llenado del 70% lograron remociones del 92% de amonio. Dale et al. (2015) utilizaron soportes K1 para llevar a cabo un proceso de nitrificación-desnitrificación con un volumen de llenado de soportes K1 del 55 y 50% respectivamente. Por otra parte, Zhao et al. (2019) evaluaron tres diferentes porcentajes de llenado (20, 30, 40 y 50 %) para llevar a cabo la desnitrificación de un agua residual doméstica, las remociones de amonio fueron de 28, 39, 35 y 19 % y de nitrógeno total de 75, 42, 43 y 80% respectivamente, obteniendo los mejores resultados al encontrarse empacado el reactor al 30% de su capacidad para el amonio y con 50% para el nitrógeno total.

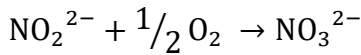
1.8.3 Biodegradación de cianuro

De acuerdo a Abdoul-Raimi et al. (2013), Akcil (2003) y Akcil et al. (2003), la degradación biológica del cianuro se realiza en dos pasos, el primero de ellos es la oxidación del cianuro a amoníaco, carbonatos y sulfatos (Ec. 1.5-6 y Ec. 1.5-7), mientras que en el segundo paso el amoníaco es convertido a nitrato y nitrito (Ec. 1.5-8 y Ec. 1.5-9). Las vías involucradas en la biodegradación microbiana del cianuro incluyen reacciones de hidrólisis, oxidación, reducción, sustitución y transferencia correspondiente a genes codificantes para varias enzimas (Ebbs, 2004); su degradación se lleva a cabo por las enzimas cianuro-oxigenasas, cianuro-dihidratas y nitrogenasas, en las bacterias, mientras que en los hongos la enzima involucrada en la degradación del cianuro es la cianuro-hidratasa (Cornejo, 2016).





Ec. 1.5-3



Ec. 1.5-4

Las condiciones aerobias son más favorables para la degradación del cianuro que las condiciones anaerobias, sin embargo, si las concentraciones son muy elevadas, los organismos anaerobios pueden ser más eficientes que los aerobios. En este caso, los microorganismos utilizan el oxígeno para transformar el cianuro en nitratos, bicarbonatos y sulfatos, este proceso microbiano es capaz de oxidar los complejos de cianuro metálicos, los iones metálicos de los complejos débiles y los subproductos intermedios de la oxidación de cianuro (Logsdon et al., 2001). Los principales parámetros que afectan la degradación de cianuros son el pH, la temperatura, el oxígeno disuelto y la disponibilidad del sustrato para su crecimiento (Dash et al., 2009; Mekuto et al., 2015).

La **Figura 1.5-1**, muestra el ciclo proceso de degradación de los compuestos cianurados, en ella se puede observar que los principales mecanismos responsables de esta transformación son adsorción en superficies minerales, reacciones de hidrólisis, oxidación biológica mediante bacterias aerobias y anaerobias, precipitación y volatilización.

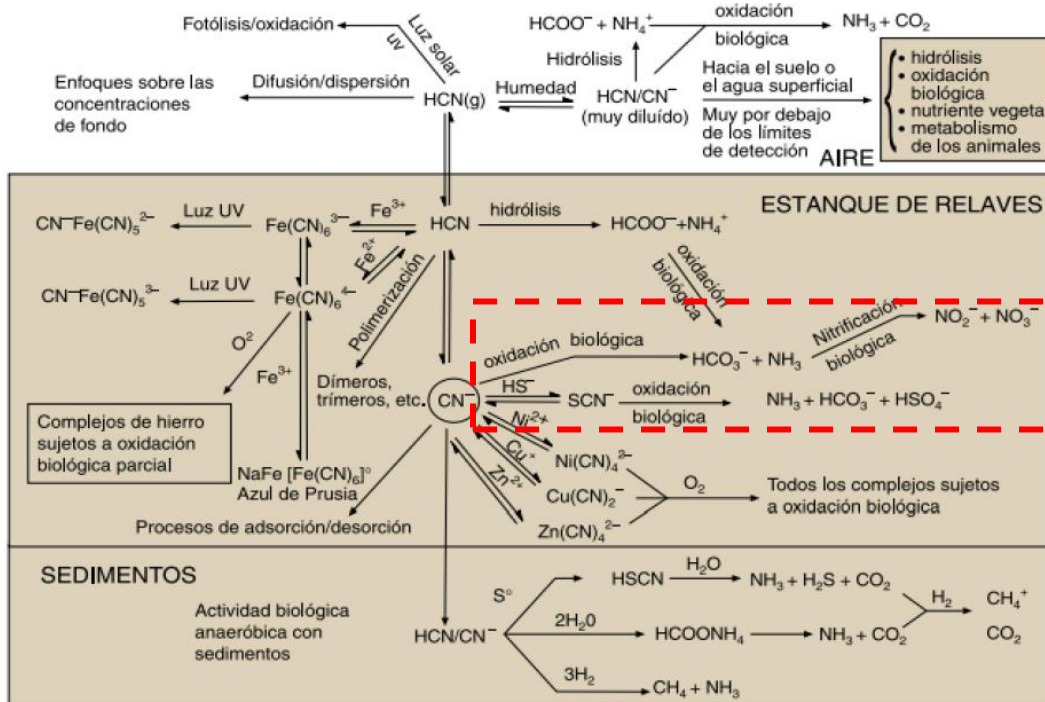


Figura 1.5-1. Procesos de degradación de los compuestos cianurados

Fuente: Logsdon et al., 2001

De acuerdo a Akcil (2003) y Dash et al. (2009) existen diversos sistemas de degradación biológica del cianuro, estos incluyen discos biológicos rotativos, lechos empacados, filtros biológicos, reactores discontinuos de secuenciación, lagunas facultativas y sistemas de lodos activados. Los microorganismos utilizan el cianuro como fuente de carbono y nitrógeno

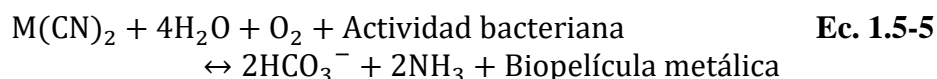
(Luque-Almagro et al., 2016) motivo por el cual es importante el tomar en cuenta los tratamientos que utilizan bacterias nitrificantes en su proceso de crecimiento y desarrollo, ya que adicionalmente este tipo de bacterias son capaces de cometabolizar una gran variedad de contaminantes orgánicos (Batt et al., 2006). El género más comúnmente reconocido de bacterias oxidantes de amoníaco en la nitrificación es el de *Nitrosomonas*; sin embargo, *Nitrosococos*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio* y *Nitrosobolus* son también capaces de oxidar el amoníaco a nitrito. Los nitritos pueden ser oxidados a nitratos por el género *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococos* y *Nitrocistis* (Rittman y McCarty, 2001; Metcalf & Eddy, 2003). Al utilizar sistemas con biomasa inmovilizada, o también llamado de biopelícula adherida, se favorece el crecimiento de bacterias de lento desarrollo como lo son las nitrificantes (Metcalf & Eddy, 2003).

1.8.1.1 VÍAS DE BIODEGRADACIÓN DEL CIANURO

La degradación microbiana del cianuro en compuestos menos tóxicos involucra distintas vías enzimáticas como lo son la hidrólisis, oxidación (dos pasos) y reducción. Por otra parte, para facilitar la asimilación del cianuro como fuente de nitrógeno en el metabolismo primario de un organismo es utilizada la sustitución/transferencia (Akçil y Mudder, 2003; Dash et al., 2009; Gupta et al., 2010; Park et al., 2017). El uso de enzimas tiene como ventajas que no se requiere de cofactores y que sus actividades específicas son altas (Martínková et al., 2015).

Algunas veces se utiliza más de una vía para la degradación de cianuro. En las vías de degradación que utilizan la hidrólisis, la oxidación y la reducción, las enzimas catalizan al cianuro en compuestos orgánicos e inorgánicos más simples, los cuales pueden posteriormente convertirse en amoníaco, metano, CO₂, ácido fórmico o ácido carboxílico. Mientras que, en las vías de sustitución y síntesis, los microorganismos asimilan el cianuro como fuente de carbono y nitrógeno (Gupta et al., 2010).

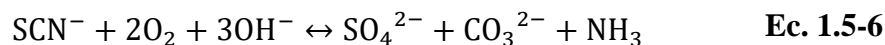
La degradación del cianuro y sus derivados principalmente corresponde, en las bacterias a las enzimas cianuro-oxigenasas (cianasas), cianuro-dihidratasas (cianidasa) y nitrogensas, y en los hongos a la enzima cianuro-hidratasa. Las enzimas cianuro oxigenasas catalizan la oxidación completa hasta dióxido de carbono y amoníaco; las cianuro-dihidratasas convierten el cianuro a formiato y las nitrilasas, catalizan la hidrólisis de nitrilos a ácido carboxílico y amonio sin la formación de amidas libres intermediarias (Cornejo, 2016). Mientras que, la mayoría de los cianuros metálicos son también eficazmente oxidados, y los metales adsorbidos, ingeridos y/o precipitados por la acción de las bacterias, mediante el siguiente proceso (Ec. 1.5-5):



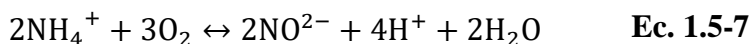
donde M representa un metal divalente (Fe, Zn, Ni, Cu).

El régimen de degradación de los complejos de cianuro metálicos decrece en el siguiente orden (Marsden y House, 1993): Zn>Ni>Cu>Fe, aunque incluso los ferricianuros más estables llegan a ser degradados por esta vía. A su vez, el tiocianato que pueda haber en la

solución también se oxidará de forma instantánea (**Ec. 1.5-6**) según la siguiente expresión (Fernández-Pérez, 2007):



Posteriormente se genera ion nitrito e ion nitrato, lo cual se denomina “nitrificación”, y se logra mediante la actividad de ciertas bacterias aerobias. Las reacciones más relevantes de la descomposición son: **Ec. 1.5-7** y **Ec. 1.5-8**

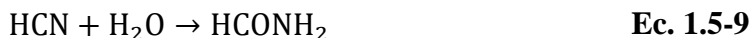


1.8.1.1.1 REACCIONES HIDROLÍTICAS

Las reacciones hidrolíticas son generalmente catalizadas por enzimas como la cianuro hidratasa, cianuro dihidratasa (cianidasa), la nitrilo hidratasa y nitrilasa. La cianuro hidratasa y la cianidasa actúan sobre el HCN y las otras dos enzimas actúan sobre los nitrilos. Las reacciones que se llevan a cabo son las siguientes (Dash et al., 2009; Gupta et al., 2010; Park et al., 2017):

Cianuro hidratasa (CHT)

Se encuentra principalmente en hongos y convierte el cianuro en formamida (**Ec. 1.5-9**).



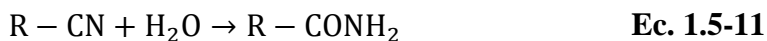
Cianuro dihidratasa o cianidasa (CynD)

Son capaces de convertir directamente el cianuro en formato y en amoníaco (**Ec. 1.5-10**).



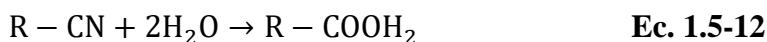
Nitrilo hidratasa

Puede degradar efectivamente una variedad de nitrilos y nitrilos alifáticos (**Ec. 1.5-11**).



Nitrilasa

Tienen la capacidad de degradar los compuestos de nitrilos, con una amplia especificidad de sustrato para convertirlo a ácidos carboxílicos como producto final (**Ec. 1.5-12**) (Parmar et al., 2013; Ebbs, 2004).



La cianuro hidratasa y la cianidasa corresponden a enzimas de bacterias y tienen similitudes a nivel estructural y de aminoácidos con las nitrilasas y con las nitrilo hidratasas. Estas

últimas convierten tanto nitrilos alifáticos como aromáticos a su ácido correspondiente o amida respectivamente, pero con una menor especificidad de sustrato que la cianuro hidratasa y la cianidasa (Dash et al., 2009).

1.8.1.1.2 REACCIONES OXIDATIVAS

Las reacciones oxidativas procedentes de la biodegradación de cianuro, forman como producto final amoníaco y dióxido de carbono. La primera vía utiliza dos tipos de enzimas, las cuales son la cianuro monooxigenasa y la cianasa (Ec. 1.5-13 y Ec. 1.5-14). Una segunda vía de oxidación utiliza la cianuro dioxigenasa (Ec. 1.5-15) (Dash et al., 2009; Park et al., 2017; Parmar et al., 2013).

Cianuro monooxigenasa

Convierte el cianuro a cianato.



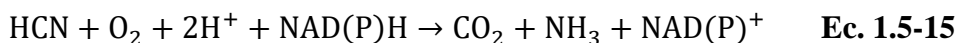
Cianuro oxigenasa (cianasa)

Posteriormente el cianato se convierte en amoníaco y dióxido de carbono.



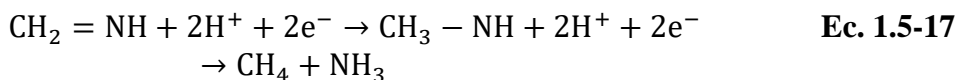
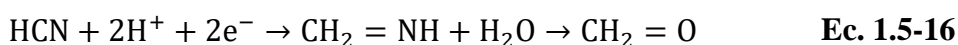
Cianuro dioxigenasa

Estas enzimas convierten directamente el HCN en amoníaco y dióxido de carbono (Ec. 1.5-15).



1.8.1.1.3 REACCIONES REDUCTIVAS

Este tipo de reacciones no son muy comunes y la enzima (nitrogenasa) que se requiere para llevar a cabo esta vía de degradación se encuentra en muy raras especies. Las reacciones tienen dos pasos para llevar a cabo la formación de metano y amoníaco (Ec. 1.5-16 y Ec. 1.5-17) (Dash et al., 2009; Park et al., 2017).



1.8.1.1.4 REACCIONES DE SUSTITUCIÓN

En este caso el cianuro no es degradado, pero se asimila por vías metabólicas primarias para aumentar el número de microorganismos, con lo cual se proporciona una fuente adicional de nitrógeno y se evita que el cianuro sea tóxico. Existen dos tipos de enzimas que catalizan el cianuro a través de esta vía: β -cianoanalina sintasa (CAS) o α -aminonitrilo (Dash et al., 2009; Park et al., 2017).

Cianoalanina sintasa

En este caso, la CAS (enzima mitocondrial de grandes plantas e insectos) cataliza la conversión de cianuro y cistina en β -cianoalanina y ácido sulfúrico (**Ec. 1.5-18**).

*Tiosulfato (Sulfurtransferasa)*

Esta enzima se encuentra en la fracción mitocondrial del hígado y riñones de los animales. Cataliza la conversión de cianuro y tiosulfato para producir tiocianato y sulfito (**Ec. 1.5-19**).



Existen microorganismos capaces de utilizar más de un mecanismo para la asimilación de cianuro, incluso otros que utilizan diferentes a los mencionados anteriormente, entre los que se encuentran: *Chromobacterium violaceum*, *Bacillus megaterium* y *E. coli* (Tuya, 2014; Ebbs, 2004). El uso de cada vía metabólica está determinado por condiciones como el oxígeno, pH, y concentración, biodisponibilidad y solubilidad de cianuro en el agua y/o suelo (Ebbs, 2004).

1.8.4 Biorremediación de metales

Los procesos de biorremediación para el tratamiento de metales involucran mecanismos de biosorción, bioprecipitación, biolixiviación y biovolatilización, convirtiéndolos en formas menos tóxicas (**Tabla 1.5-8**). Los microorganismos más utilizados en los procesos de biorremediación de metales pesados son las bacterias y los hongos (Rosas-Ramírez, 2017). Las bacterias cuentan con diversos mecanismos que han desarrollado para tolerar los efectos nocivos de los metales, estos involucran a) componentes celulares que capturan a los iones, neutralizando su toxicidad, b) enzimas que modifican el estado redox de los metales o metaloides, convirtiéndolos en formas menos tóxicas, y c) transportadores de la membrana que expulsan las especies nocivas del citoplasma celular. (Cervantes et al., 2006).

Tabla 1.5-8. Métodos de biorremediación de metales pesados

Método	Fundamento	Descripción
Biosorción	Los metales pesados son absorbidos pasivamente a los componentes celulares de los microorganismos debido a atracciones electroestáticas	Los metales con carga positiva son atraídos por los grupos carboxilos, foforilos y aminos que se encuentran presentes en las paredes celulares de bacterias y hongos, debido a que cuentan con carga negativa
Bioprecipitación	Algunos metales pesados pueden ser inmovilizados y reducir su biodisponibilidad al ser transformados a un estado redox menor	Las formas oxidadas de metales pasan rápidamente a formas reducidas que se precipitan fácilmente

Método	Fundamento	Descripción
Biolixiviación	La movilización de protones a través de la membrana plasmática ocasiona una acidificación del medio y con ello la liberación de metales	Las bacterias que fijan CO ₂ y obtienen oxidación de los compuestos resultantes
Biovolatilización	Algunas bacterias y hongos pueden llevar a cabo la metilación de metales pesados como el Hg, As y Se	Los metales metilados pueden ser reducidos a otras formas por medio de reacciones enzimáticas bacterianas

Fuente: [Rosas-Ramírez, 2017](#)

1.8.1.2 SORCIÓN DE METALES

Como se mencionó anteriormente, al utilizar procesos biológicos existe un mecanismo adicional a la biodegradación, el cual se encuentra involucrado en la remoción de complejos de cianuro que es la llamada “biosorción o sorción”. La “biosorción de metales” es la captación de contaminantes que se lleva a cabo con una biomasa completa (viva o muerta), a través de dos mecanismos fisicoquímicos: la adsorción y/o absorción. Los procesos de biosorción involucran dos fases, una sólida (sorbente) y una líquida (solvente) ([Cañizares-Villanueva, 2000](#)) y depende de ciertos factores como el pH, el potencial redox, la naturaleza química del sorbente, la molécula sorbida y la composición de los microorganismos ([Flores-Velázquez, 2017](#)).

La absorción se basa en la interpenetración de las moléculas o átomos de una fase en otra de manera casi uniforme, es decir, la sustancia se difunde en un líquido o sólido debido a las interacciones hidrofóbicas de los grupos alifáticos y aromáticos de un compuesto con la membrana celular lipofílica de los microorganismos, o la fracción de lípidos de los sólidos suspendidos ([Flores-Velázquez, 2017](#)). Mientras que la adsorción ocurre cuando un soluto se acumula en la superficie de un sorbente, con lo cual se forma una película de moléculas o átomos. Este mecanismo se basa en la afinidad del sorbente por las especies contenidas en el sorbato, ya que éste es atraído hacia el sorbente y es enlazado por diferentes mecanismos, como la adsorción o el intercambio iónico, hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato enlazado al sólido ([Cañizares-Villanueva, 2000](#)).

1.9 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS PARA COMPUESTOS CIANURADOS

Tal como se mencionó anteriormente, los procesos de biodegradación pueden llevarse a cabo *in situ* o *ex situ*, y estos a su vez pueden ser operados de manera continua o en lotes. Algunas de las ventajas de trabajar con reactores en lote son el control de las condiciones de operación, la sencilla operación y el bajo costo inicial; mientras que sus principales desventajas son el tiempo de parada inherente entre cargas, el elevado costo de operación y la dificultad de llevar a cabo el control de los subproductos formados.

La sorción del cianuro en los microorganismos se considera despreciable ya que la mayoría de las partículas tienen cargas negativas ([Razanamahandry et al., 2017](#)). La biodegradación de los compuestos de cianuro depende directamente de la disponibilidad de nutrientes y de

oxígeno, ya que los mecanismos de degradación los consumen. Otro factor importante que afecta la biodegradación de cianuro es la presencia de contaminantes adicionales (Dash et al., 2009), como los metales, ya que sus efectos tóxicos sobre los microorganismos se encuentran determinados por a) el desplazamiento de iones metálicos esenciales de biomoléculas y bloqueo de sus grupos funcionales, b) la modificación de la confirmación activa de biomoléculas (enzimas y polinucleótidos), c) la ruptura de la integridad de biomoléculas y d) la modificación de otros agentes biológicamente activos (Cañizares-Villanueva, 2000). Dependiendo de la forma de aglomeración microbiana que utilicen los procesos biológicos, éstos se pueden dividir en: sistema de biomasa suspendida y sistemas de biomasa inmovilizada (biopelícula) (Nava-Urrego et al., 2014; Dash et al., 2008).

Los principales factores que afectan en la biodegradación de cianuro son:

- Concentración inicial de cianuro
- Concentración inicial de biomasa
- Oxígeno disponible
- pH
- Temperatura
- Tiempo de retención
- Velocidad de agitación
- Fuente de carbono adicional

A continuación, se describen los sistemas de biomasa suspendida y biomasa inmovilizada, así como los estudios que se han llevado a cabo a nivel laboratorio para cada una de ellos en la degradación biológica de cianuro, ya sea con cepas puras o mediante el uso de consorcios microbianos.

1.9.1 Cianuro libre con biomasa suspendida

Los sistemas de biomasa suspendida se caracterizan porque los microorganismos se encuentran en reactores completamente mezclados y de flujo pistón, donde el mezclado es llevado a cabo por difusores de aire o aireación mecánica; sin embargo, existen otros como la aireación modificada, la aireación con alimentación escalonada, contacto y estabilización, aireación prolongada, de alta carga, entre otros (Metcalf & Eddy, 2003). En los últimos diez años se han llevado a cabo diversos estudios a nivel laboratorio para el tratamiento de cianuro libre, en la **Tabla 1.5-9** se muestran los principales parámetros evaluados y los resultados obtenidos en cada uno de ellos. La gran mayoría de los estudios ha utilizado a diferentes cepas de bacterias puras para la degradación de cianuro, tales como *Bacillus* (*B. cereus*, entre otros), *Pseudomonas* (*P. resinovorans*, *P. fluorescens*, *P. pseudoalcaligenes*), *Alcaligenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rhodococcus sp*, *Klebsiella pneumoniae* y *Ralstonia sp*, sin embargo, el uso de hongos en este tipo de tratamientos también ha sido reportado, tal es el caso del *Trametes versicolor*.

Tabla 1.5-9. Biodegradación de cianuro con biomasa suspendida (Adaptada por Alvillo-Rivera, 2021)

Microorganismo	Fuente de nitrógeno	Fuente de carbono	[CN] _i (mg·L ⁻¹)	Tiempo (h)	Agitación (rpm)	pH	T (°C)	O ₂ (mg·L ⁻¹)	Inóculo	Reactor	Remoción (%)	[CN] _r (mg·L ⁻¹)	Autor
<i>Pseudomonas parafulva</i>	KCN	Glucosa y extracto de levadura	200	312	150	9.5	32	NR	1x10 ⁷ CFU mL ⁻¹	Matraces Erlenmeyer	93.5	12	Moradkhani et al., 2018
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> CECT 5344	NaCN	NR	0.6	NR	NR	9.0	30	10%	NR	NR	100	0	Cabello et al., 2018
<i>Pseudomonas sp.</i>	NaCN	Sales y buffer de carbonato	1	144	NR	9.5	36	NR	4 mL (1.3x10 ⁹)	Matraces Erlenmeyer	65.5	0.34	Morillo-Mendoza & Guevara-Gonzales, 2015
<i>Pseudomonas resinovorans</i>	KAg(CN) ₂ K ₄ Fe(CN) ₆	Glucosa	36	72	230	5	30	NR	50 µL	Tubos de cultivo	0	36	Abdoul-Raimi et al., 2013
			11								11		
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		Desecho de cianuro	2,500	288	NR	9-10.5	25	2	NR	NR	95.0	125	Deloya-Martínez, 2012
<i>P. pseudoalcaligenes</i>	NaCN y NH ₄ Cl	Acetato de sodio (C ₂ H ₃ NaO ₂)	45	57.6	450 L d ⁻¹	10	30	35%	5 mL	Biostat B plus	60.0	18	Huertas et al., 2010
<i>Pseudomonas</i>	NaCN	NR	200	236	NR	NR	25	NR	1 % v/v	Matraces Erlenmeyer	98.0	25	Restrepo et al., 2006
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> CECT5344	KCN	Acetato de sodio (50 mM)	0.13	144	250	9.5	30	NR	DO>1 (600nm)	Matraces Erlenmeyer	94.6	0.007	Luque-Almagro et al., 2005a; Luque-Almagro et al., 2005b
<i>Bacillus sp.</i>	KCN	Medio de cultivo y sacarosa	300	10	5	10.5	20	2	15 % v/v (2.5x10 ⁷)	Biodiscos (contactor biológico rotativo)	97.0	9	Guamán-Guadalima y Nieto-Monteros, 2018
<i>Bacillus cereus</i>	KCN	Medio de cultivo	100	48	150	7	35	NR	10% v/v	Matraces Erlenmeyer	96.0	4	Dwivedi et al., 2016
			1,000								56.0	440	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KCN	Medio de cultivo y glucosa	0.31	72	150	7	25	NR	1:10	Matraces Erlenmeyer	88.0	0.0372	Avcioglu y Seyis-Bilkay, 2016

Microorganismo	Fuente de nitrógeno	Fuente de carbono	[CN] _i (mg·L ⁻¹)	Tiempo (h)	Agitación (rpm)	pH	T (°C)	O ₂ (mg·L ⁻¹)	Inóculo	Reactor	Remoción (%)	[CN] _r (mg·L ⁻¹)	Autor
<i>Klebsiella oxytoca</i> SYSU-011	KCN	Glucosa (0.8%)	0.038	4	NR	7	30	NR	0.105 mg·mL ⁻¹ (DO=1)	Botellas selladas	92.1	0.003	Kao et al., 2003
<i>Rhodococcus sp.</i>	KCN	Medio de cultivo y glucosa	0.006	48	160	6.5	30	NR	10 % v/v	Matraces	80.0	0.0012	Maniyar et al., 2013
<i>Trametes versicolor</i>	KCN	NaOH/NaHCO ₃	100	42	150	10.5	30	NR	0.75 g	Matraces Erlenmeyer	75.0	25	Cabuk et al., 2006
<i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Ralstonia sp.</i>	KSCN	Medio mineral con glucosa	1	48	100	6	37	NR	NR	Matraces	76.0	0.24	Chaudhari & Kodam, 2010
<i>Bacillus sp.</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Pseudomonas</i>	SCN	Medio con fosfatos y glucosa	250	160	180	10	30	400 mL·min ⁻¹	1% v/v	Matraces Erlenmeyer	97.0	7.5	Mekuto, et al., 2018
<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> y <i>Alcaligenes</i>	KCN	NR	50	119	NR	9.5	25	NR	2.5 % v/v	Brunswick BioFlo 110 Fermentor	85.0	7.5	Cornejo, 2016
Consorcio bacteriano (PTAR)	NaCN	Azúcar y urea	150	20	20 L·d ⁻¹	7-9	25	2	2,500- 3,000 mg·L ⁻¹	Lodos activados	65.0	52.5	Kaewkannetra et al., 2009
<i>Azotobacter vinelandii</i>											90.0	15.0	
Consorcio bacteriano	NaSCN	ARD	150	10	NR	7.5	30	2,3 y 4	2,500 mg·L ⁻¹	Reactores aireados- clarificador	94.0	9	Lay-Son & Drakides, 2008
Consorcio bacteriano	KCN	Medio de cultivo y glucosa	80	24	200	9.5	30	0	0.062 CFU·L ⁻¹	Matraces Erlenmeyer	95.0	4	Razanamahandr y et al., 2016
Consorcio bacteriano PTAR	KCN	NaHCO ₃ y CH ₃ COONa	10	30	NR	7.1-7.2	30	NR	2,700 mg·L ⁻¹	Reactor de flujo continuo	75.0	2.5	Kim et al., 2011

NR: No reportado, ARD: agua residual doméstica, PTAR: planta de tratamiento de aguas residuales

1.9.2 Cianuro libre con biomasa inmovilizada

Al igual que en los procesos de biomasa suspendida, los de biomasa inmovilizada se caracterizan por trabajar con pH variables, los cuales fluctúan entre las 6.5 y 10.5 unidades. La temperatura es otro factor que debe de tomarse en cuenta, ya que las diferentes bacterias tienen condiciones óptimas de trabajo específicas, en los estudios que se mencionan a continuación es posible observar que se trabajan a condiciones mesófilas y éstas varían de 20 a 35°C. La **Tabla 1.5-10** muestra los tipos de empaques utilizados y las condiciones de operación óptimas para llevar a cabo la degradación de cianuro libre mediante sistemas de biomasa inmovilizada.

Lo más importante en éstos estudios es el tipo de empaque que se ha utilizado en cada uno de ellos para llevar a cabo la inmovilización de la biomasa, los cuales son naturales (roca de granito, cáscaras de cítricos, celulosa, gravilla) y sintéticos (acero inoxidable, geotextiles, alginato, plásticos); lo cual afecta directamente en las concentraciones de biomasa en el tratamiento variando de 1×10^6 - 1×10^7 UFC·mL (Santos et al., 2013; Guamán-Guadalima y Nieto-Monteros, 2018) o de $3,500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ a $10,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (White et al., 2000; Chen et al., 2007; Di-Biase et al., 2020). El tiempo de retención, la agitación o el caudal depende de la configuración de los reactores, pudiendo ser desde 8 horas (Santos et al., 2013) hasta 200 días (Vincent et al., 2016). En el estudio realizado por Guamán-Guadalima y Nieto-Monteros (2018) al utilizar soportes para la inmovilización de la biomasa el microorganismo que presentó un mejor porcentaje de remoción (97%) fue el *Bacillus sp.* La operación se realizó con pH básico (10.5), una temperatura de 20°C y un 15% v/v de inóculo en el reactor lo que representa 2.5×10^7 UFC·mL; en este estudio, tampoco se alcanzó el LMP para aguas residuales ($3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), sin embargo, puede deberse a la elevada concentración inicial de cianuro ($300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Ya que cuando se trabaja con bajas concentraciones ($5.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de cianuro y $37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de tiocianato), el cianuro disminuye por debajo de los límites establecidos (Di-Biase et al., 2020).

Tabla 1.5-10. Biodegradación de cianuro con biomasa inmovilizada (Adaptada por Alvillo-Rivera, 2021)

Microorganismo	Fuente de nitrógeno	Fuente de carbono	[CN] ⁻ _i (mg·L ⁻¹)	Tiempo (h)	Agitación (rpm)/ caudal	pH	T (°C)	O ₂ (mg·L ⁻¹)	Inóculo	Soporte	Remoción (%)	[CN] _r (mg·L ⁻¹)	Autor
<i>Bacillus sp.</i>	KCN	Medio de cultivo y sacarosa	300	10	5	10.5	20	2	15 % v/v (2.5x10 ⁷ UFC/mL)	Discos rotatorios de acero inoxidable-40% sumergido	97.0	9	Guamán-Guadalima y Nieto-Monteros, 2018
<i>Bacillus sp.</i> (6.2x10 ⁷)	F-CN	Residuos de suero de leche	500	80	260 mL·d ⁻¹	9.88	33,6	0	44 g	Roca de granito (D<2mm)	95.0	25	Mekuto et al., 2015
<i>Thiobacillus ssp.</i>	NaSCN y KOCN	C ₆ H ₁₁ FeNO ₇	165 159	566	N.R.	7.5	25	1.5-6.0	63% llenado (30 L)	Kaldnes (450 m ² ·m ⁻³)	38.5 62.6	101.5 59.5	Villemur et al., 2015
<i>A. awamori</i>	KCN	Residuos cítricos (1%)	280	8	3 mL·h ⁻¹	>9	30	-	10x10 ⁶	Cáscara de cítricos	80.0	56	Santos et al., 2013
<i>Rhodococcus erythropolis</i> CCM2595	CN-	ARD	0.8-242	TRH=4.1-10.4 d	170 m ³ ·d ⁻¹	8	10-40	1,930 m ³ h ⁻¹	130 m ³ de soportes (10 g·L ⁻¹)	AnoxKaldnes K3 (500 m ² ·m ⁻³)	75.0-98.7	0.6-3.1	Dvorač et al., 2014
<i>K. oxytoca</i>	KCN	NR	0.07	12	200	7	30	NR	3,500 mg·L ⁻¹	Perlas de en gel de alginato y triacetato de celulosa	57.1	0.03	Chen et al., 2007
<i>K. oxytoca</i>	KCN	Glucosa (0.8%)	0.46	20	NR	7	25	NR	NR	30 perlas de alginato en gel	30.0	0.322	Chen et al., 2008
<i>Trichoderma koningii</i>	CN-	Ninguna	500	27 d	140	6.5	28	NR	0.78 g biomasa fúngica	Perlas inmovilizadas	90.0	50	Zhou et al., 2007
<i>Fusarium oxysporum</i> CCMI 876	CN ⁻	Caldo czampek	0.3	40	13 mL·hr ⁻¹	8	30	0	1:1 w/v	Alginato de sodio	86.0	0.042	Campos et al., 2006

Microorganismo	Fuente de nitrógeno	Fuente de carbono	[CN] _i (mg·L ⁻¹)	Tiempo (h)	Agitación (rpm)/caudal	pH	T (°C)	O ₂ (mg·L ⁻¹)	Inóculo	Soporte	Remoción (%)	[CN] _r (mg·L ⁻¹)	Autor
<i>Methylobacterium</i> sp. RXM CCMI 908											84.0	0.048	
Consorcio bacteriano LMPTAR	NaCN	Glucosa	50	24	NR	NR	NR	3.2	3,500 mg·L ⁻¹ (20 L)	Bafle de geotextiles	70.9	15	White et al., 2000
Consorcio bacteriano	tiocianato, cianato y cianuro	Glucosa o glicerina	100-500 tiocianato 60 cianato <10 cianuro	200 d	TRH=3 h	7.4-7.6	5	3	NR	AnoxKaldnes	98.2-99.7 tiocianato 90.8 cianato 95.0 cianuro	0.78-1.32 tiocianato 5.5 cianato 0.5 cianuro	Vincent et al., 2016
Consorcio bacteriano PTAR	Cianuro y tiocianato	NR	5.8 cianuro 37 tiocianato	0.45, 1.24 y 2.4	NR	7-8.5	NR	NR	10.5 g·L ⁻¹	Gravilla (297 m ² ·m ⁻³)	98.9 cianuro 95.4 tiocianato	0.06 cianuro 1.7 tiocianato	Di-Biase et al., 2020

NR: No reportado, ARD: agua residual doméstica; LM: licor mezclado, PTAR: planta de tratamiento de aguas residuales

A pesar que las configuraciones de los reactores citados no son semejantes, es posible observar que las mayores remociones de cianuro (95%, con concentraciones iniciales de cianuro de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) se llevaron a cabo en aquel que contaba con medio de soporte (roca) para el crecimiento de los microorganismos y que el alto tiempo de retención hidráulico ($Q=260 \text{ mL}\cdot\text{d}^{-1}$) propició el desarrollo de la biomasa sobre la roca de granito (Mekuto et al., 2015). Por otra parte, en el estudio realizado por Kaewkannetra et al. (2009) se cuenta con un mayor caudal ($20 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$) con lo cual se puede observar que la remoción fue menor (65.3%), a pesar de tener una menor concentración de cianuro inicial ($150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), además en este caso la biomasa se encuentra suspendida, es por ello que es importante evaluar las mismas condiciones de operación en un reactor, pero con configuraciones diferentes.

1.9.3 Cianuro acomplejado

Se han llevado a cabo investigaciones sobre métodos biológicos para la eliminación de metales pesados en agua, ya que éstos son considerados extremadamente tóxicos, recalcitrantes y presentan tendencia a ser bioacumulables. Los métodos biológicos han demostrado que algunas bacterias son capaces de tolerar, bioacumular o eliminar metales pesados sin dañar al medio ambiente (Muñoz et al., 2006). La contaminación del medio ambiente con metales pesados lleva consigo modificaciones en las comunidades microbianas y en sus actividades, trayendo como consecuencia dos escenarios, el primero de ellos la inhibición de los microorganismos bloqueando grupos funcionales esenciales, desplazando iones de metales esenciales o modificando la conformación activa de moléculas biológicas; mientras que el segundo escenario, conduce a la creación de una población microbiana que logra ser tolerante (Aleem et al., 2003).

Se han realizado diversos estudios en reactores en lote para la degradación de complejos de cianuro con metales, los cuales son extremadamente estables, mediante el uso de bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Azotobacter*, y hongos de los géneros *Fusarium*, *Trichoderma*, *Trametes*, y *Penicillium*, entre otros (Cornejo, 2016; Deloya-Martínez, 2012; Tuya, 2014), utilizando generalmente una fuente externa de carbono, como lo es la mandioca (yuca), residuos cítricos o glucosa (Mekuto et al., 2016). Karamba et al. (2014), evaluaron el uso de biomasa suspendida (*Serratia marcescens*) para degradar cianuro ($200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) al estar acomplejado con plata, arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre, mercurio, níquel, plomo y zinc ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Los experimentos tuvieron una duración de 72 h y se mantuvo en agitación orbital a 150 rpm, con pH de 6 y temperatura ambiente. Se utilizó extracto de levadura como fuente de carbono. Los resultados mostraron remociones de cianuro del 87-88% al encontrarse en presencia de plata, arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre, níquel, plomo y zinc, mientras que al estar en presencia de mercurio la remoción de cianuro disminuyó a 25% en comparación a 92% al encontrarse sin la adición de metales (control).

Posteriormente, Karamba et al. (2017) evaluaron la inmovilización de la bacteria *Serratia marcescens* AQ07 en perlas de gel para degradar KCN ($200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Se utilizó la evaluación de un factor a la vez y un diseño central compuesto para estudiar el efecto de las diferentes variables (20). La inmovilización de la bacteria se llevó a cabo en perlas de gel (10, 20, 30, 40 y 50) con diferentes concentraciones (0.5-0.9% w/v con incrementos de 0.05% w/v) y

tamaños de perla (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 cm). El experimento tuvo una duración de 24 horas, en las cuales la biomasa inmovilizada se mantuvo en agitación constante (150 rpm) y a temperatura ambiente. Se utilizó un medio de buffer de fosfatos (pH=6) y glucosa como fuente de carbono. Los resultados en la evaluación de un factor a la vez mostraron que el número, la concentración y tamaños óptimos de las perlas de gel fue al trabajar con 50 perlas, 0.6% (w/v) y 0.3 cm, logrando remociones de cianuro del 98%. Mientras que, al evaluar el diseño central compuesto los resultados óptimos fueron con una concentración de 0.7%, tamaño de perla de 0.3 cm y número de perlas de 30, obteniendo remociones de cianuro del 93% ($13.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Posteriormente, se evaluó la degradación de cianuro en presencia de diez metales pesados (plata, arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre, mercurio, níquel, plomo y zinc) a una concentración de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los resultados mostraron un 62% de eficiencia al encontrarse acomplejado con mercurio, en comparación con un 98% al estar en presencia de los demás metales.

En la **Tabla 1.5-11** se puede observar los estudios que se han llevado a cabo para el tratamiento del cianuro acomplejado con metales, así como los diferentes porcentajes de remoción del contaminante al encontrarse en presencia de ciertos metales. Es importante destacar que son muy pocos los estudios relacionados a la biodegradación de cianuro al encontrarse acomplejado con distintos tipos de metales.

Tabla 1.5-11. Biodegradación de complejos de cianuro en lote

Parámetro	Condiciones óptimas de operación		
Microorganismo	<i>Fusarium oxysporum</i> (hongo)	<i>S. obliquus</i> (alga)	<i>S. marcescens</i> (bacteria)
pH	11	10.3	7
Temperatura (°C)	22	25	25
Agitación orbital (rpm)	70	-	150
Información adicional	Medio Beta vulgaris (fuente de carbono extra)	-	Concentración del gel (Gellan)- 0.7% Diámetro perlas- 0.3 cm Número de perlas- 30
[CN] _i ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	100	77.9	700
Concentración de metales ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	7.1 (As) 4.5 (Fe) 8.0 (Cu) 0.2 (Pb y Zn)	4.0 (Fe) 0.65 (Cu) 3.0 (Zn)	1.0 (Ag, Cd, Ni, As, Cu, Co, Pb, Zn, Hg)
Remoción de cianuro en presencia de metales (%)	77	91.0 (CN) 62.5 (Fe) 0.0 (Cu) 46.0 (Zn)	98.0 (Ag, Cd, Ni) 97.0 (As, Cu, Co, Pb, Zn) 61.0 (Hg)

Parámetro	Condiciones óptimas de operación		
Tiempo (h)	144	77 (CN) 48 (Fe, Cu, Zn)	24
Referencia	Akinpelu et al., 2016	Gurbuz et al., 2009	Karamba et al., 2017

Zhe-Xue et al. (2004) estudiaron el efecto de inhibición que causan los metales (Zn, Ni y Cu) acomplejados con cianuro sobre de la reducción de sulfatos. Ellos utilizaron un consorcio microbiano obtenido de un reactor anaerobio de flujo ascendente procedente de una planta de tratamiento de aguas residuales. Las condiciones de operación fueron pH de 7-7.2 y una temperatura de 37°C y las concentraciones de 1 mM para los tres complejos. Los resultados obtenidos mostraron que al incrementar las concentraciones de los complejos a 2 mM la sulfato reducción se mostró por completo inhibida en todos los casos. El orden relativo de concentración inhibitoria reportada por Cabrera et al. (2006) es Cu>Ni>Mn>Cr>Zn, por Kikot (2012) Cu>Cd>Ni>Zn>Cr y por Zhe-Xue et al. (2004) Cu>Ni>Zn, con lo cual se puede observar que el cobre es el metal que presenta mayor concentración inhibitoria.

Las concentraciones de metales utilizadas para evaluar la degradación de cianuro cuando se encuentra acomplejado han sido menores a 10 mg·L⁻¹, sin embargo, estudios realizados para la degradación de metales sin estar en presencia de cianuro han demostrado la capacidad de los microorganismos para degradar concentraciones más elevadas (Tabla 1.5-12).

Tabla 1.5-12. Concentración máxima de metales para la inhibición de microorganismos

Metal	Concentración inhibitoria (mg·L ⁻¹)		
Cu	9	-	8-16
Ni	17	-	2-32
Zn	20	12	20-80
Referencia	Cabrera et al., 2006	Radhika et al., 2006	Moraga et al., 2003

Fuente: Kikot (2012)

1.10 DIVERSIDAD MICROBIANA

La extracción de ADN (ácido desoxirribonucleico) de la biomasa ha sido ampliamente empleada para la identificación de microorganismos (Flores-Velázquez, 2017). Los ácidos desoxirribonucleicos son biomoléculas encargadas de portar la información genética de cada individuo y se encuentran formados por largas cadenas de nucleótidos enlazados entre sí por el grupo fosfato. Un organismo de otro se puede distinguir genéticamente con base al orden o secuencia de las bases nitrogenadas en su cadena. Las bases nitrogenadas son las que contienen la información genética y son dos Purinas y dos Pirimidinas y absorben luz en el rango ultravioleta de 250-280 nm. Las purinas son A (Adenina) y G (Guanina) y las pirimidinas son T (Tiamina) y C (Citosina). Sus características físicas son la insolubilidad en agua y la capacidad de establecer relaciones hidrófobas entre ellas, lo cual sirve para estabilizar su estructura. La estructura genética se encuentra formada por fragmentos de ADN, por lo cual, un gen es un fragmento de ADN y un conjunto de genes de un organismo forman un genoma, el cual es responsable de que las células realicen funciones en concreto.

Existen diversos métodos para llevar a cabo la identificación de microorganismos, sin embargo, entre los más utilizados se encuentran la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *Polymerase Chain Reaction*), los métodos de secuenciación de nueva generación (NGS, *Next Generation Sequencing*) y la pirosecuenciación (Flores-Velázquez, 2017).

El PCR permite generar una gran cantidad de copias de un fragmento de ADN de interés, para posteriormente poder secuenciar el ADN, determinando con esto el orden de las bases nitrogenadas en el material genético. La técnica se basa en la utilización de una plantilla de ADN (10 mg), dos “*primers*” o cebadores, los cuales son secuencias cortas de ADN (18-30 nucleótidos) que complementan a cada hebra del ADN original (0.1-1.0 mM), además de los deoxinucleótidos trifosfatados (dNTPs) (200 mM), buffers (pH=8), enzimas de polimerización de ADN (Taq polimerasa) (0.2-2.0 unidades) y cofactores de la enzima (MgCl₂) que sintetiza una nueva hebra de ADN a partir de los *primers* (Sengupta, 2014).

Esta técnica consiste en un proceso cíclico de tres etapas:

1. Desnaturalización (Pre-incubación), la reacción es expuesta a temperaturas de 90-94 °C, lo cual propicia la separación de dos hebras de ADN mediante la ruptura de los enlaces de hidrógeno.
2. Hibridación (Amplificación), los primers se unen a sus secuencias complementarias en el ADN molde y proporcionan el grupo hidroxilo libre (3’) que la ADN polimerasa necesita para copiar el ADN.
3. Extensión (Elongación final), la ADN polimerasa usa los dNTPs para construir la cadena complementaria en el ADN molde.

Cada uno de los pasos se encuentra definido por un ciclo, que es un periodo de tiempo y rampeos de temperatura determinados. La repetición de estos ciclos permite la obtención de un gran número de copias del fragmento de ADN de interés. El rampeo de temperaturas se comienza con aquellas que son más elevadas y posteriormente las más bajas para evitar con esto las amplificaciones inespecíficas (Guadarrama-Pérez, 2017).

La secuenciación de nueva generación (NGS, Next Generation Sequencing) también es conocida como secuenciación masiva paralela (MPS, Massive Parallel Sequencing) y se basan en secuenciar millones de fragmentos de ADN de forma paralela, además es posible detectar todos los tipos de variación genómica en un único experimento. En esta tecnología el ADN se fragmenta y mediante ligación se les añaden secuencias adaptadoras a los extremos. Posteriormente, los fragmentos de ADN se amplifican y se agrupan para ser utilizados como unidades a secuenciar en ciclos de terminación reversible cíclica (CRT, Cyclic Reversible Termination), donde son “fotografiados”. Las secuencias producidas son llamadas lecturas o “reads” apareadas y usan dos estrategias diferentes para su creación: “mate pairs”, que se crean a partir de fragmentos de ADN de tamaño conocido, los que se circularizan y se ligan usando un adaptador interno para purificar posteriormente los segmentos de interés; y los “paired end” que se generan mediante la fragmentación del ADN en pequeños segmentos y sus secuenciaciones del final de ambos extremos. Los tiempos de carrera, los reads, las bases y el rendimiento varía de acuerdo al tipo de plataforma que se utilice y pueden ir desde 2 horas hasta 10 días. Actualmente las tecnologías mayormente utilizadas son 454 GSFlex de Roche, Genome Analyzer o HiSeq de Illumina y SOLiD de Life Technologies (Rodríguez-Santiago y Armengol, 2012).

La pirosecuenciación es un método de síntesis, ya que la secuencia del molde se determina a medida que se sintetiza su hebra complementaria. Los componentes que se necesitan para llevarla a cabo son deoxinucleótidos trifosfatados (dNTPs), desoxiadenosina alfa-tiotrisfosfato, cuatro enzimas (ADN polimerasa, ATP sulfurilasa, luciferasa y apirasa), adenosina 5'-fosfosulfato (APS) y luciferina. El método consiste en el clonamiento de ADN para posteriormente agregarse las enzimas y sustratos, con lo cual se comienza la liberación de pirofosfato y éste es convertido a ATP generando con ello luz. La luz que es emitida se detectada por un fotodetector, dando lugar a un pico y su altura es proporcional al número de nucleótidos que se han incorporado (Flores-Velázquez, 2017).

2. METODOLOGÍA

La evaluación del proceso se llevó a cabo en dos grandes etapas, la primera de ellas consistirá en la parte microbiológica, ya que se realizarán técnicas de sembrado y propagación de microorganismos, así como el establecimiento de correlaciones para su rápido conteo y la identificación de aquellos que se encuentren presentes en el suelo y agua contaminados por relaves mineros y aquellos que se encuentren presentes una vez terminadas las distintas fases de la experimentación. Mientras que, en la segunda etapa, se caracterizará el relave minero, se realizarán pruebas preliminares para conocer las mejores condiciones de biodegradación del cianuro y el efecto inhibitorio que el contaminante tiene sobre las bacterias, adicionalmente, se evaluará la factibilidad de utilizar microorganismos para degradar complejos formados entre cianuro y metales (Cu, Fe, Ni y Zn), y por último se evaluará un sistema en continuo con relaves mineros (**Figura 2-1**).

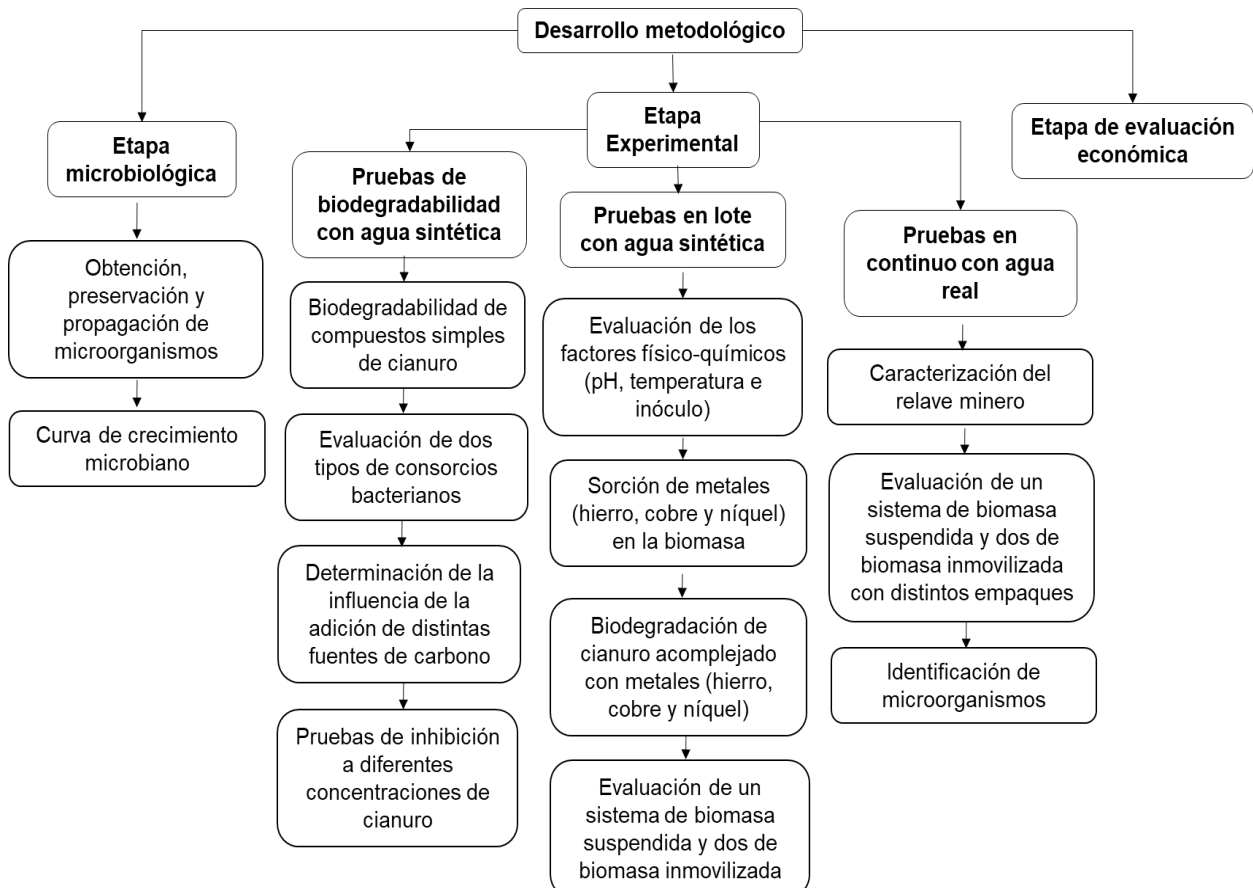


Figura 2-1. Diagrama metodológico

Se realizaron análisis estadísticos como la comparación de medias, donde la varianza se descompuso en dos componentes: entre grupos y dentro del grupo (relación F) y se calculó el valor P, el cual nos indica si existe una diferencia estadísticamente significativa o no. Si $P > 0.05$ (nivel de confianza del 95%) no existe, si $P < 0.05$ si existe (Villegas-Mendoza, 2011). El programa utilizado fue el Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06.

2.1 ETAPA MICROBIOLÓGICA

2.1.1 Obtención, preservación y propagación de microorganismos

Como primera etapa se llevó a cabo la obtención de los microorganismos por parte de la Universidad Popular Autónoma de Puebla (UPAEP) para inocular los reactores. Se obtuvieron muestras de sedimentos de tres sitios distintos: la primera de ellas de una presa de jales (Mastrantos II) de la mina “El Cubo”, ubicada a 10 km al este de la ciudad de Guanajuato, la cual cuenta con un área de 8,100 hectáreas y consiste en 57 concesiones mineras y siete presas de jales, sin embargo, tres de ellas (Mastrantos I, II y IV) contienen relaves mineros viejos o se encuentran evaporados, mientras que las otras cuatro (Mirasol, Mastrantos III, Mastrantos V y Mastrantos VI) son presas de relaves nuevas procedentes del sistema de flotación (El Tajo) (**Figura 2-2**) (Black et al., 2017; Endeavour Silver, 2018); la segunda muestra fue tomada en distintos puntos (12) del Río Atoyac; y la tercera de la Presa Manuel Ávila Camacho (3), la cual sirve como cuerpo receptor del río anteriormente mencionado, ambos ubicados en el estado de Puebla. Estos sitios fueron seleccionados, debido a la presencia de cianuro en las zonas circundantes (Ortiz-Savayeda y Ojeda-Gil, 2018).

Las coordenadas de los sitios de donde se obtuvieron las muestras se encuentran en el **ANEXO II- Obtención de microorganismos (localización de sitios de muestreo)**, mientras que en la **Figura 2-3** es posible apreciar su ubicación de manera geográfica.

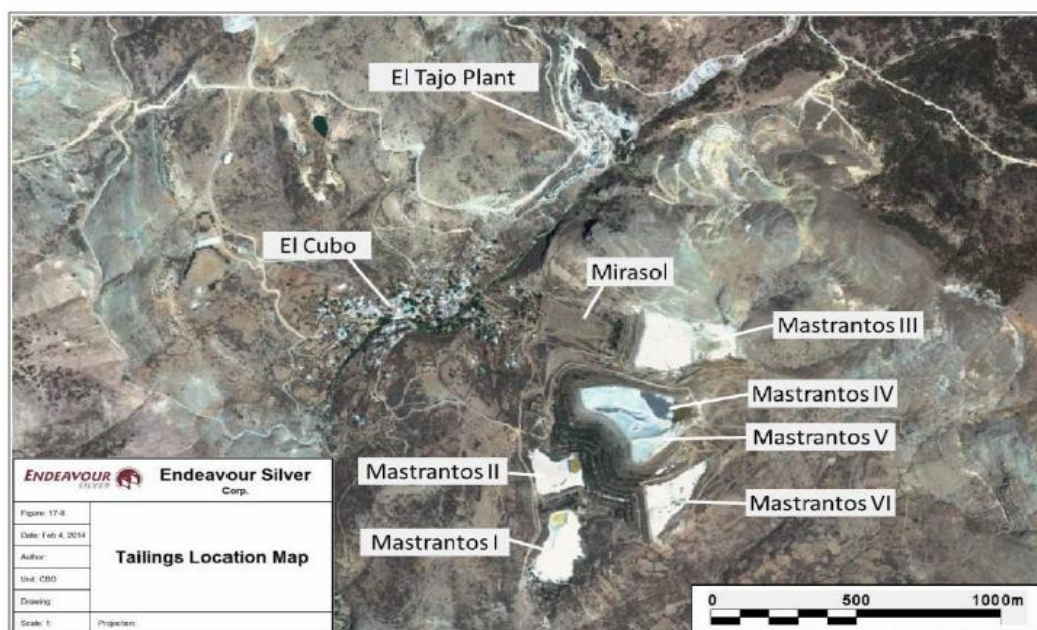


Figura 2-2. Vista de las instalaciones de almacenamiento de relaves de la mina El Cubo



Figura 2-3. Geolocalización de puntos de muestreo

En el presente trabajo se utilizaron dos consorcios microbianos distintos, el primero de ellos uno que se encontraba previamente aclimatado al cianuro (MC10) y el segundo, uno que no había estado en contacto con el contaminante (MC0). Los consorcios microbianos utilizados en este trabajo fueron obtenidos, el primero de ellos (MC10, por sus siglas en inglés microbial consortium) de un reactor previamente trabajado por [Ortiz-Sayavedra y Tejeda-Gil \(2018\)](#). El cual, a su vez, provenía de una muestra del suelo procedente de la presa de jales “Mastrantos II” de la mina “El Cubo”. El reactor trabajó con dos concentraciones de cianuro distintas (10 y 20 mg L⁻¹) obteniéndose remociones superiores al 88%. Adicionalmente, se llevó a cabo la identificación de las clases de bacterias presentes mediante un PCR del gen 16S, siendo éstas *Gammaproteobacteria*, *Alfaproteobacteria*, *Actinobacteria* y *Bacilli*. Mientras que, el segundo (MC0) provino del licor mezclado de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA).

Para llevar a cabo la propagación de los microorganismos se utilizó la metodología citada por [Restrepo et al. \(2006\)](#). Se tomaron 100 mL de la muestra de agua y se colocaron en matraces con 500 mL de agua desionizada, se agitó durante una hora en una Parrilla magnética marca Thermolyne modelo Cimarec 3 y después de 5 min de reposo se inoculó (en condiciones estériles: campana de flujo laminar y cerca del fuego) 10 mL del sobrenadante en 90 mL de caldo peptonado (1:10, previamente esterilizado), durante 60 horas a 35±2 °C y con agitación orbital a 120 rpm en un baño maría marca Lab Company modelo B5-11. Las resiembras se mantuvieron en una incubadora marca Precision modelo 6.

Para la preparación del caldo peptonado se disolvieron 15 g de peptona de carne marca MCD Lab con 1 L de agua destilada. Posteriormente, se colocó el medio en matraces Erlenmeyer y se sellarán con un tapón de algodón y papel aluminio para esterilizarse en una autoclave durante 15 min a 121°C y 137.9 KPa.

Para la preservación de las bacterias se utilizaron tres soluciones, la primera de ellas es una solución peptonada isotónica (SPIE) como diluyente isotónico para el enriquecimiento no selectivo de bacterias, esta solución será conforme a lo citado en la [NOM-110-SSA1-1994](#): Peptona, $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y NaCl (marca Merck), $8.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. La segunda es una solución amortiguadora de pH (PBS, por sus siglas en inglés Phosphate Buffered Saline) compuesta de: NaCl, $80 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; KH_2PO_4 , $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (marca Meyer); Na_2HPO_4 , $11.64 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (marca Meyer) y KCl, $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (marca Merck) ([Tejeda y Ortiz, 2018](#)). La metodología a seguir para la obtención del inóculo fue la citada por [Tejeda y Ortiz \(2018\)](#), la cual consiste en centrifugar las muestras a 500 rpm por 5 min, descartar el sobrenadante y repetir la operación hasta observar la formación de un pellet. Posteriormente, agregar 750 μL de SPIE y 250 μL de PBS, resuspender el pellet y agrega 500 μL de glicerol (marca Merck) al 60%, para finalmente mezclarse en vortex y almacenarse a -20°C .

2.1.2 Curva de crecimiento microbiano

Una vez que se determinó que el consorcio más apropiado para llevar a cabo la biodegradación de cianuro es el MC10, se realizó el monitoreo de su crecimiento en dos medios de cultivo distintos (mineral y caldo peptonado). Para llevar a cabo el análisis del crecimiento microbiano se inoculó en una proporción 1:10 el consorcio. Se evaluó el crecimiento de los microorganismos cada 60 minutos durante 24 horas ([Jurado-Gómez y Guzmán-Insuasty, 2015](#)), mediante el conteo por densidad óptica a una absorbancia de 600 nm. Con esto se observaron las etapas de crecimiento (Fase Lag, Fase logarítmica, Fase estacionaria y Fase de decaimiento).

La concentración de microorganismos puede determinarse mediante diversas técnicas, como la cuenta directa de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC o Colony Forming Units, CFU, por sus siglas en inglés), la medición de la densidad óptica (DO), la determinación de la masa seca o por contenido de sustancias específicas como el ADN, proteínas o lipopolisacáridos ([Vacková et al., 2012](#)). Sin embargo, los métodos más utilizados son la DO, la UFC y la medición seca, debido a la rapidez y la facilidad de las técnicas. Es por ello que, previo a la experimentación se realizaron curvas para determinar las correlaciones que existen entre ellas ([Dos-Santos, 2007](#); [Caballero-Armenta y González-González, 2006](#), [Podder y Majumder, 2017](#)).

2.1.3 Pruebas de biodegradabilidad y evaluación de inóculos

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) ha establecido distintos métodos para la evaluación de la biodegradabilidad: las pruebas de biodegradabilidad inmediata, la biodegradabilidad intrínseca y de simulación. En este caso para evaluar la posibilidad que tiene el cianuro de ser oxidado por las cepas nativas obtenidas, se realizaron pruebas de biodegradabilidad inmediata, para la cual se utilizaron botellas ámbar de 500 mL, cada botella fue llenada con 450 mL de medio mineral esterilizado y 50 mL (10%) de biomasa (inóculo). La duración de las pruebas fue de 35 días y se mantuvieron en un agitador orbital marca SEV modelo 6090 a 120 rpm.

Las condiciones experimentales se basaron en las pruebas citadas por la [OECD \(1992\)](#) 301 A y 310, sin embargo, se modificaron para adecuarse al contaminante a analizar. El principio de estas pruebas es la incubación aerobia de una cantidad de biomasa en un medio mineral, a pH neutro y a una temperatura entre 20 y 25°C. La sustancia a estudiar se añade a una concentración definida, como única fuente de carbono y energía. Mientras que el inóculo consiste en una población microbiana de 1×10^3 - 1×10^8 mg células·L⁻¹. Los inóculos utilizados fueron los anteriormente mencionados, MC10 y MC0. Para que las pruebas fueran consideradas como positiva, se debió alcanzar un 10% de biodegradación dentro de los primeros diez días (ventana de los diez días), un máximo de biodegradación al cabo de 29 días (fase de latencia, t_L) y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$), en el cual se alcanza un 50% de biodegradación del compuesto. Simultáneamente a la prueba, se corrió un testigo para asegurar que los resultados no se deben a la volatilización del contaminante (**Tabla 2-1**) ([Vázquez-Rodríguez & Beltrán-Hernández, 2004](#); [García-González, 2008](#); [Vázquez-Rodríguez et al., 1999](#)).

Tabla 2-1. Soluciones para el estudio de biodegradabilidad

Solución	Composición	Finalidad
Control inóculo (CI)	Medio mineral, inóculo	Asegurar la actividad microbiana
Control volatilización (CV)	Medio mineral y cianuro	Evaluar la volatilización del cianuro
Sustancia prueba (SP)	Medio mineral, inóculo y cianuro	Evaluar la biodegradación de cianuro

El medio mineral (sintético) se encontró constituido de acuerdo a lo citado por [Khamar et al. \(2015\)](#): [g·L⁻¹]: Na₂HP₄·7H₂O, 12.8 (marca Meyer); KH₂PO₄, 3 (marca J.T. Baker); NaCl, 0.5 (marca J.T. Baker); MgSO₄·7H₂O, 0.5 (marca J.T. Baker); CaCl₂, 0.1 (marca Fermont) y 1% (v/v) de sales minerales (ZnSO₄·7H₂O, 0.05 (marca Spectrum); MnCl₂·4H₂O, 0.05 (marca Sigma Aldrich); CuCl₂·2H₂O, 0.005 (marca Sigma Aldrich); Na₂MoO₄·2H₂O, 0.005 (marca J.T. Baker); Na₂B₄O₇·10H₂O, 0.002 (marca FINOS); CoCl₂·6H₂O, 0.0003 (marca Sigma Aldrich)), y 10 mg·L⁻¹ NaCN (marca Meyer), como única fuente de carbono y nitrógeno. Las botellas fueron incubadas a 25 °C, en agitación orbital a 120 rpm y con un pH de 9.5 (condiciones lo más cercanas posibles a las pruebas descritas por la [OCDE \(1992\)](#), evitando la volatilización del cianuro). Se monitoreó diariamente la concentración del cianuro y el crecimiento de biomasa.

2.1.4 Evaluación de distintas fuentes de carbono y pruebas de inhibición a diferentes concentraciones de cianuro

Se llevó a cabo la evaluación de dos diferentes fuentes de carbono, una fue el acetato de sodio y otra la glucosa, las cuales fueron adicionadas al medio mineral para comparar la eficiencia de remoción de cianuro al contar con una fuente de carbono extra (**Tabla 2-4**).

Tabla 2-2. Soluciones para la evaluación de distintas fuentes de carbono

Solución	Composición	Finalidad
Control inóculo	Medio mineral e inóculo (CI)	Asegurar la actividad microbiana
Control volatilización	Medio mineral y cianuro (CV)	Evaluar la volatilización del cianuro
Sustancia prueba	Medio mineral, inóculo y cianuro (SP)	Evaluar la biodegradación de cianuro
Sustancia prueba + fuente de carbono	Medio mineral, acetato de sodio, inóculo y cianuro (SPFC)	Comparación de la biodegradación de cianuro con distintas fuentes de carbono
	Medio mineral, glucosa, inóculo y cianuro (SPFCG)	

Para la realización de las pruebas de inhibición con agua sintética se preparó el medio mineral adicionando y variando la concentración de cianuro (15, 20, 30 y 50 mg·L⁻¹). Mientras que para la realización de las pruebas de inhibición con agua real se prepararon distintos medios (**Tabla 2-3**) variando la concentración de relave en cada uno de ellos (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100%).

Tabla 2-3. Soluciones para las pruebas de inhibición con relave minero

Solución	Composición
Blanco	Medio (sólido y líquido) inoculado y sin inocular
Medio sólido	Agar Soya-Tripteina y relave
Medio líquido	Medio mineral (MM) y relave
	Caldo peptonado (CP) y relave
	Agua y relave

La velocidad a la cual el sustrato es consumido generalmente se encuentra relacionado con la velocidad de crecimiento microbiano. Se utilizaron modelos de orden cero, de primer orden, de segundo orden y de Monod para determinarlo. El termino de orden cero indica que la velocidad de reacción es independiente de la concentración del contaminante, la de primer orden se refiere a que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración del compuesto y la de segundo orden se refiere a que la concentración del sustrato es proporcional al cuadrado de la concentración del contaminante (Estrada-Arriaga, 2011).

Para el modelo de orden cero se graficaron los datos experimentales de sustrato y tiempo, para el de primer orden Ln(S/S₀) y tiempo, y para la de pseudo primer orden 1/S contra tiempo. Para estos tres modelos, la pendiente de cada modelo fue igual a la velocidad de remoción (μ_{\max}).

2.2 ETAPA EXPERIMENTAL

2.2.1 Factores físico-químicos que influyen en la biodegradación de cianuro

Una vez que se realizaron las pruebas preliminares (de biodegradabilidad), se utilizó biomasa suspendida y un diseño factorial 3^3 , el cual se eligió debido a que se desea conocer si hay influencia o no en los factores elegidos y la relación que existe entre todas las posibles combinaciones de niveles sobre un variable de respuesta (**Tabla 2-4**). Así como para llevar a cabo una correcta interpretación de las tablas de análisis y varianza (ANOVA), puesto que se debe de contar con al menos 8 grados de libertad en el error (Villegas-Mendoza, 2011). Los reactores utilizados fueron de color ámbar, con un volumen útil de 3 L y fueron operados en lote. Las pruebas se realizaron con medio mineral y una concentración inicial de cianuro de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La biomasa utilizada se encontró suspendida y se mantuvo en operación durante 35 días con agitación orbital a 120 rpm (agitador orbital marca SEV modelo 6090). Diariamente se monitoreo el pH, la temperatura, el crecimiento de los microorganismos y la concentración de cianuro. Todas las pruebas se llevaron a cabo por duplicado y se contó con dos controles, uno de volatilización y otro de inóculo (crecimiento de la biomasa).

Tabla 2-4. Diseño experimental para la evaluación de factores en la remoción de cianuro (factorial 3^3)

Factor	Nivel		
	-1	0	+1
pH (unidades)	9.5	10.5	11.5
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	30	35
Inóculo (%)	10	12.5	15

Los resultados de la biodegradación de cianuro se analizaron estadísticamente con el software Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06. Con dichas pruebas se lograron determinar los valores óptimos de pH, temperatura y concentración de inóculo para llevar a cabo la biodegradación del contaminante.

2.2.2 Pruebas de sorción de metales en la biomasa

Previo a la evaluación de los metales acomplejados con cianuro para su biodegradación se determinó el tiempo de equilibrio y los coeficientes de sorción para cada metal en particular. Las concentraciones (individuales) de los metales a evaluar se basaron en la caracterización de relaves mineros reportada en la literatura y en la tolerancia que hay presentado ciertas bacterias a dichos metales. Todas las pruebas se llevaron a cabo por triplicado.

2.2.2.1 Tiempo de equilibrio

El tiempo de equilibrio es el tiempo de contacto que tiene que transcurrir para que se alcance una distribución definida del sorbente entre la fase sólida y líquida. Para determinar el tiempo de equilibrio de los metales a utilizar se empleó biomasa inactiva. La biomasa se inactivó de acuerdo a la metodología citada por Flores-Velázquez (2017), Torres-Bojorges (2012) y Mijaylova-Nacheva et al. (2014), la cual consiste en adicionar $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg_2SO_4 (marca

HACH) a la biomasa y dejarla en exposición al compuesto tóxico durante 24 horas, posteriormente se enjuagará con agua. Se empleó una solución de CaCl_2 (marca J.T. Baker) 0.01 M (450 mL) como fase líquida con una concentración para el cianuro de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, para el cobre de $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, para el hierro de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y para el níquel de $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y se adicionó un volumen de biomasa inactiva que nos proporcionó una concentración de SST de $1,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Las pruebas se realizaron a temperatura ambiente y en agitación orbital a 100 rpm en una incubadora marca Lab Company modelo B5-11. Las muestras se tomaron una vez transcurridas 0.5, 1, 1.5, 3, 4.5, 6, 9, 12, 18, 24, 36 y 48 horas, y se estableció el tiempo de equilibrio cuando los valores de los metales sean constantes respecto al tiempo.

2.2.2.2 Coeficiente de sorción

Posteriormente, se realizaron pruebas para la determinación del coeficiente de sorción, mediante el análisis de las isotermas de sorción. Las pruebas se llevaron a cabo en botellas ámbar (500 mL) con una solución de CaCl_2 0.01 M (450 mL), $1,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de SST y consistió en evaluar seis diferentes concentraciones de metales (cobre= 1, 2, 3, 4, 5 y $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; hierro= 1, 2, 4, 6, 8 y 10; y níquel= 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25 y $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y de metales complejados con cianuro ($30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Todas las pruebas se llevaron a cabo a temperatura ambiente y en agitación orbital a 100 rpm. Las pruebas tuvieron una duración igual al tiempo de equilibrio. La cantidad del compuesto sorbido en la biomasa se calculó con la fórmula **Ec. 2-1**.

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)V}{m} \quad \text{Ec. 2-1}$$

Donde:

q_e =Concentración sorbida del compuesto después del equilibrio ($\text{mg}_{\text{metal}} \cdot \text{g}_{\text{lodo}}^{-1}$)

m = Masa del lodo (g)

C_o =Concentración inicial del compuesto en la fase líquida ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

C_e =Concentración final en la fase líquida del compuesto en equilibrio ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

V =Volumen de la solución (L)

2.2.3 Metales fuertemente complejados con cianuro que afectan su biodegradación

Para evaluar la interferencia que existe en la biodegradación de cianuro cuando se encuentra complejado con tres metales distintos, ya sea individual o grupalmente, se utilizaron los valores óptimos de pH (9.5 unidades), temperatura (27°C) y concentración de inóculo (15% v/v) anteriormente obtenidos. Los metales elegidos se caracterizan por formar complejos fuertes con el cianuro y se encuentran presentes en los relaves mineros a elevadas concentraciones (**Tabla 2-5**). Los reactores utilizados fueron de color ámbar, con un volumen útil de 3 L y operados en lote. Las pruebas se realizaron con medio mineral y una concentración inicial de cianuro de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La biomasa utilizada se encontró suspendida y se mantuvo en operación durante 35 días con agitación orbital a 120 rpm. Todas las pruebas se llevaron a cabo por duplicado y se contó con dos controles, uno de volatilización y otro de inóculo (crecimiento de la biomasa). Diariamente se monitoreó el pH, la temperatura, el crecimiento de los microorganismos y la concentración de cianuro.

Tabla 2-5. *Diseño experimental para la evaluación de la remoción de cianuro acomplejado con metales (factorial 3³)*

Factor (mg·L ⁻¹)	Nivel		
	-1	0	+1
Hierro	0	5	10
Cobre	0	7.5	15
Níquel	0	10	20

Para determinar que metal tuvo una mayor influencia en la biodegradación de cianuro se analizaron estadísticamente los resultados con el software Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06. Con dichas pruebas se lograron determinar las concentraciones a las cuales biodegradación de cianuro no se veía estadísticamente afectada.

2.2.4 Metales fuertemente acomplejados con cianuro que afectan su biodegradación con biomasa inmovilizada

Una vez que se encontraron los valores óptimos de los tres metales para la remoción de cianuro, éstos se evaluaron utilizando biomasa inmovilizada en dos empaques. El primero de ellos fue el Kaldnes K1 (BK) (**Figura 2-4**), el segundo los cubos de poliuretano (BCP) (**Figura 2-5**) y se ocupó un testigo el cual fue la biomasa suspendida (BS). El porcentaje de llenado de los matraces fue del 60%. Para ello, se utilizaron matraces Erlenmeyer con un volumen útil de 3 L. Los reactores se mantuvieron en agitación constante a 120 rpm en parrillas de agitación magnética marca Thermolyne modelo Cimarec 3 y fueron operados en lote durante 35 días. Se contó con dos controles, uno de volatilización y otro de inóculo (crecimiento de la biomasa). El pH se mantuvo en 9.5 unidades, la temperatura en 27°C y concentración de biomasa con la que se inoculó cada reactor fue de 15% v/v. a concentración inicial de cianuro utilizada fue de 30 mg L⁻¹, mientras que la de los metales fueron de 0.5, 7.7 y 0.46 mg·L⁻¹ para cobre, hierro y níquel respectivamente. Diariamente se monitoreo el pH, la temperatura, el crecimiento de los microorganismos y la concentración de cianuro; y se tomaron siete muestras (1 vez por semana) para la determinación de metales.

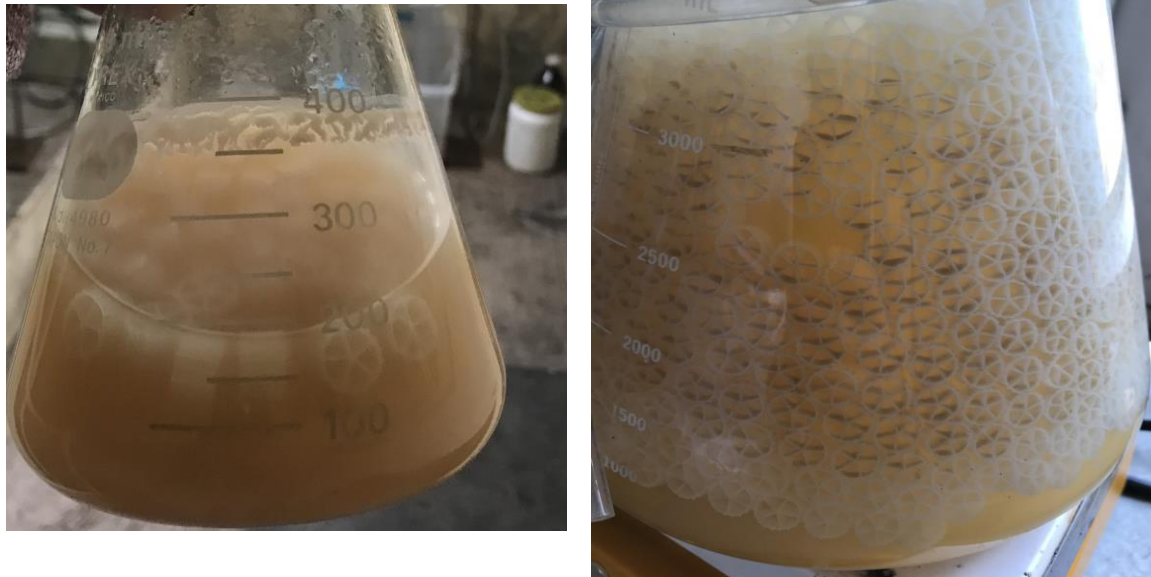


Figura 2-4. Crecimiento de biomasa en Kaldnes K1 (pH=9.5 unidades, temperatura=27°C, agitación=120 rpm, Vútil=3 L)



Figura 2-5. Crecimiento de biomasa en cubos de poliuretano (pH=9.5 unidades, temperatura=27°C, agitación=120 rpm, Vútil=3 L)

2.2.4 Evaluación de remoción de cianuro total (experimentos en continuo) mediante sistemas de biomasa suspendida y biomasa inmovilizada

La última etapa de experimentación consistió en la realización de pruebas en continuo con agua real (relave minero). Para la biomasa suspendida en un reactor elaborado de vidrio con un volumen útil de 3 L y que cuenta con regulador de temperatura, oxígeno y agitación,

adicionalmente cuenta con un panel de control, el cual lo vuelve un sistema automatizado (**Figura 2-6** y **Figura 2-7**).

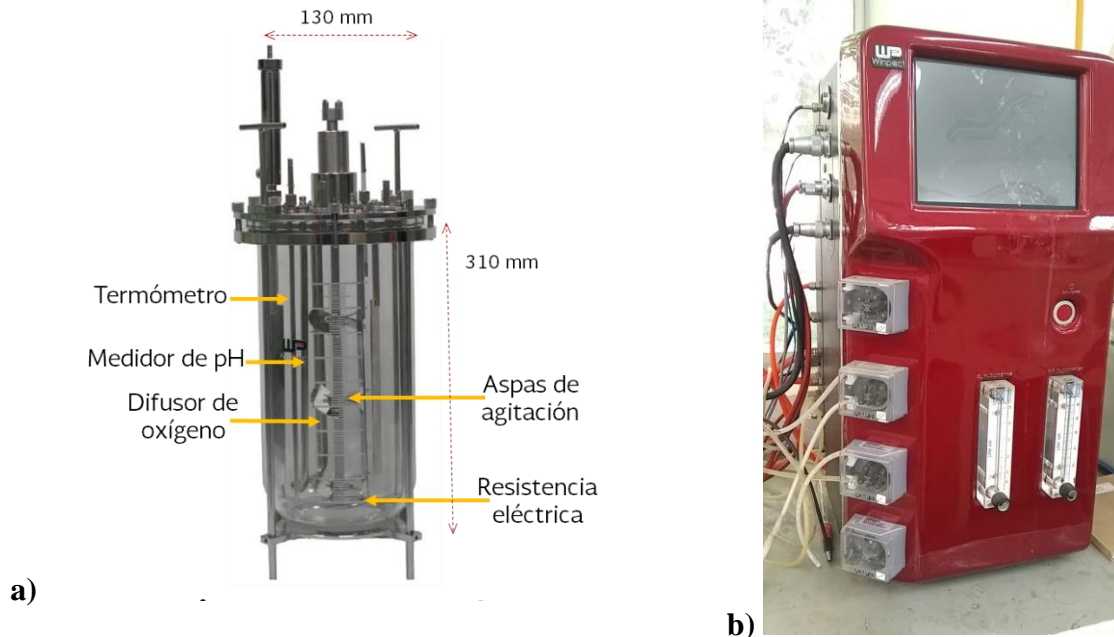


Figura 2-6. Reactor operado en continuo con biomasa suspendida: a) Diagrama esquemático y b) Panel de control

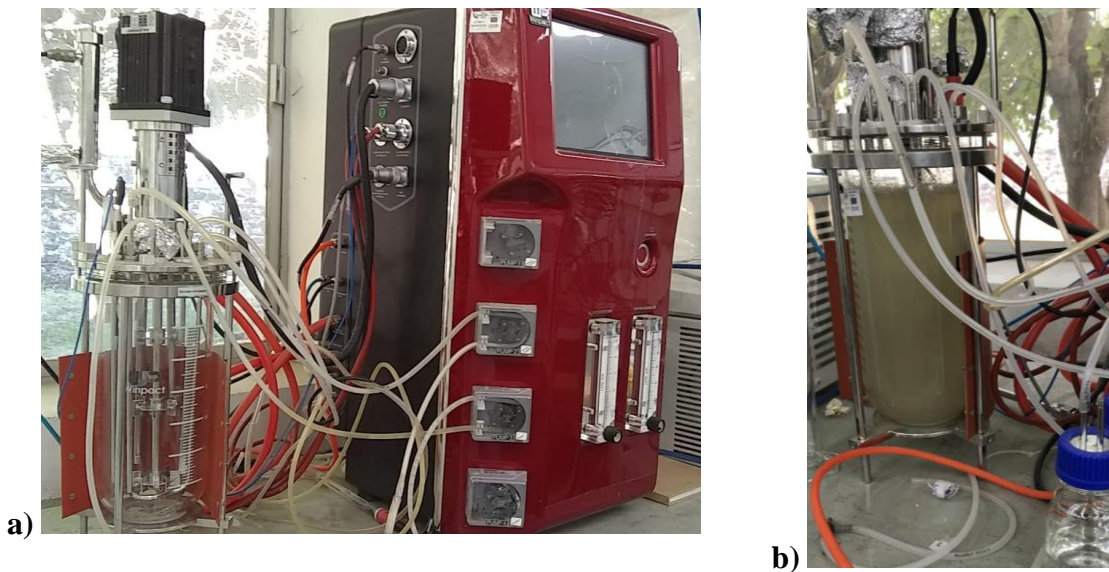


Figura 2-7. Reactor operado en continuo con biomasa suspendida: a) Vista completa del reactor y b) Reactor en operación

Mientras que para la evaluación de la biomasa inmovilizada (K1 y cubos de poliuretano) (**Figura 2-8**), se utilizaron dos reactores aerobios tipo Eckenfelder los cuales se encuentran elaborados en acrílico. En el fondo se colocaron difusores de aire de burbuja fina tipo cascada para suministrar oxígeno ($Q=2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) y mezclar la biomasa en los reactores. El volumen

de trabajo de cada reactor fue de 7 L (**Figura 2-9** y **Figura 2-10**). Cada reactor contó con una zona de sedimentación de 1.5 L. Se utilizaron bombas peristálticas marca COLE PARMER modelo MasterFlex para la alimentación de los reactores.

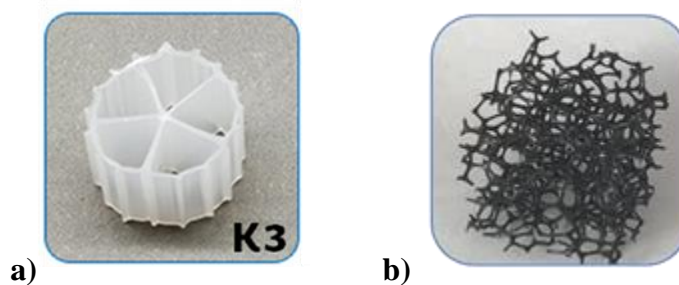


Figura 2-8. Medios de soporte: a) Kaldnes K1 ($A_{sup}=500 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$) y b) Cubos de poliuretano ($A_{sup}=700 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$)



Figura 2-9. Reactores en continuo con biomasa inmovilizada en medios de soporte Kaldnes-K1, a) vista superior y b) vista lateral

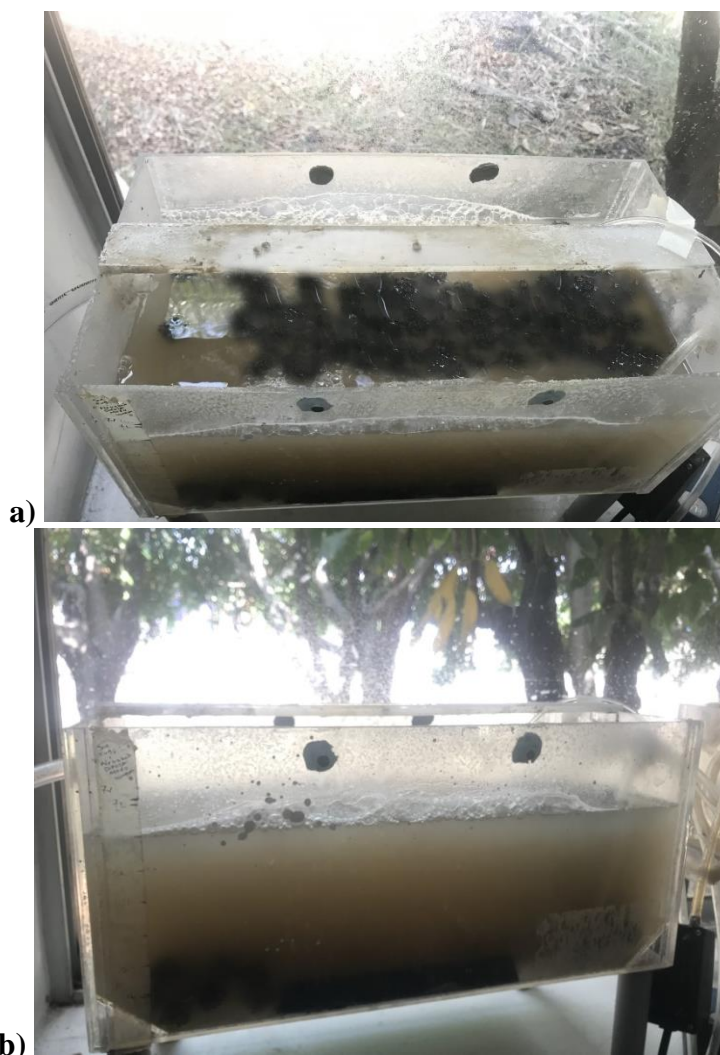


Figura 2-10. Reactores en continuo con biomasa inmovilizada en medios de soporte cubos de poliuretano, a) vista superior y b) vista lateral

El influente utilizado fue un relave proveniente de una minera en el estado de Oaxaca llamada Don David Gold. El desarrollo del sistema involucró tres etapas experimentales, en cada una de ellas se variaron las diluciones del relave minero para trabajar con las concentraciones deseadas de cianuro total. La primera de ellas, del día 0 al 39 con una concentración inicial de cianuro total de $26 \pm 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; en la segunda, del día 40 al 113 de $40 \pm 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y la tercera, del día 114 al 141 de $55 \pm 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Se consideró que el proceso se encontró estable cuando se obtuvieron remociones de materia orgánica de al menos 80%.

El tiempo de retención de sólidos se determinó usando el parámetro de sólidos suspendidos volátiles. La determinación de la biomasa inmovilizada se llevó a cabo utilizando métodos gravimétricos, mediante la determinación de sólidos totales y volátiles en masa seca.

2.3 EVALUACIÓN TÉCNICO-ECONÓMICA DEL TRATAMIENTO PROPUESTO

Una vez que finalizo la etapa experimental del presente trabajo, y que se obtuvieron las condiciones óptimas para la degradación del cianuro, conociéndose la eficiencia del proceso (evaluación técnica) se calculó el costo de operación del proceso (evaluación económica), tomando en cuenta los insumos requeridos (energía y reactivos empleados), y se relacionó con el caudal de agua producto ($\text{\$}\cdot\text{m}^{-3}$) para poder comparar con otros tipos de tratamiento, tanto biológicos como físico-químicos. El costo total se calculó de acuerdo con la ecuación de Milton Friedman (Álvarez-Cruz, 2019), teniendo en cuenta los costos fijos (CF), los costos variables (CV), la producción total estimada (PTE) y la utilidad (U) que va del 10 al 30% (Ec. 2-2).

$$CT = \left[\frac{\Sigma CF + \Sigma CV}{PTE} \right] \times U \quad \text{Ec. 2-2}$$

2.4 TÉCNICAS Y METODOLOGÍAS ANALÍTICAS

La eficiencia de consumo de cianuro (Biodegradación_{CN⁻}, %) se define como la capacidad del consorcio bacteriano para consumir el contaminante (Ec. 2-3). El rendimiento de producción de amonio (Y_{N-NH₄⁺}, g N-NH₄⁺/CN⁻ consumido) se define como la cantidad de amonio formado a partir del cianuro (sustrato) utilizado (Ec. 2-4). La Ec. 2-5 se utilizó para determinar el rendimiento biomasa/sustrato (Y_{BM}, g N-biomasa/g CN⁻ consumido). Su importancia radica en que puede proporcionar información sobre que vías metabólicas predominan (Silva-Luna, 2011).

$$\text{Biodegradación} = \left(\frac{[\text{sustrato inicial}] - [\text{sustrato final}]}{[\text{sustrato inicial}]} \right) 100 \quad \text{Ec. 2-3}$$

$$\text{Rendimiento}_{N-NH_4^+} = Y_{N-NH_4^+} = \frac{\text{mg producto formado}}{\text{mg sustrato consumido}} \quad \text{Ec. 2-4}$$

$$\text{Rendimiento}_{BM} = Y_{BM} = \frac{\text{biomasa producida}}{\text{sustrato consumido}} = \frac{BM_{\text{final fase exponencial}} - BM_{\text{inicial fase exponencial}}}{[\text{sustrato inicial}] - [\text{sustrato final}]} \quad \text{Ec. 2-5}$$

El cálculo de la tasa específica de crecimiento (μ) se realiza con base en la pendiente generada del crecimiento exponencial del consorcio microbiano. Para el cálculo del número de generaciones (n) se utilizó la Ec. 2-8, la cual procede del despeje de la Ec. 2-6 y su consecuente resolución (Ec. 2-7) (Pepper et al., 2015).

$$X = 2^n X_0 \quad \text{Ec. 2-6}$$

$$\ln X = n \ln 2 + \ln X_0 \quad \text{Ec. 2-7}$$

$$n = \frac{\ln X - \ln X_0}{0.693} \quad \text{Ec. 2-8}$$

Donde:

X= Número de baterías al tiempo t

X₀= Número de bacterias al tiempo 0

Mientras que para calcular el tiempo de duplicación o de generación (t_d) se consideró la **Ec. 2-9** (Pepper et al., 2015).

$$t_d = \frac{0.693}{\mu} \quad \text{Ec. 2-9}$$

2.4.1 Modelos matemáticos

Los modelos matemáticos más utilizados para describir el crecimiento celular son el modelo cinético de Monod, el modelo logístico, el modelo Haldane y el modelo Gompertz (Becerra-Mejía, 2007). Lo anterior debido a la simplicidad y efectividad de las mismas, ya que deben ser complejos para aportar una predicción útil pero lo bastante simple para poder ser utilizable (Aguilar et al., 2015).

Para evaluar la parte cinética del proceso de biodegradación de cianuro en los reactores en lote y en continuo, se determinaron las velocidades específicas de consumo de cianuro (q_{CN}), producción de amonio ($q_{N-NH_4^+}$) y crecimiento de biomasa.

El método diferencial de análisis tiene como objetivo principal la evaluación de las velocidades de crecimiento de biomasa y de consumo de sustrato en función del tiempo. El modelo de Monod describe el crecimiento de la biomasa cuando se tiene un sustrato limitado. La **Ec. 2-10** describe la expresión matemática de Monod, el cual tiene una forma hiperbólica, lo cual representa la transición entre una reacción de orden cero y una reacción de primer orden (Estrada-Arriaga, 2011), es por ello que para linealizarlo se aplica el modelo de Lineweaver-Burk, con el cual es posible calcular las velocidades máximas de degradación (**Ec. 2-11**).

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad \text{Ec. 2-10}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{(S_0 - S)/t} = \frac{K_s}{\mu_{max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{max}} \quad \text{Ec. 2-11}$$

Donde:

μ =Velocidad específica de crecimiento (d^{-1})

μ_{max} =Velocidad máxima de crecimiento específico (d^{-1})

K_s =Constante de saturación ($mg \cdot L^{-1}$)

S =Concentración del sustrato ($mg \cdot L^{-1}$)

Para el ajuste de las curvas de crecimiento de biomasa se utilizó el modelo de Gompertz. En este modelo, se puede expresar cada una de las variables en función del tiempo, su expresión matemática es la descrita en la **Ec. 2-12**.

$$P = \alpha \exp(-\beta \exp(-\kappa t)) \quad \text{Ec. 2-12}$$

Donde:

P =Producto del proceso (producción de amonio) ($mg \text{ N-NH}_4^+ L^{-1}$) o de biomasa (densidad óptica), variable dependiente.

α =Concentración máxima de producto (amonio) ($mg \text{ N-NH}_4^+ L^{-1}$) o biomasa (densidad óptica) cuando $t \rightarrow \infty$

β =Constante relacionada con las condiciones iniciales (cuando $t=0$, $P=\alpha \exp(-\beta)$)

κ =Velocidad específica de producción (h^{-1})

t =Tiempo (h), variable independiente.

Los parámetros α , β y κ fueron ajustados a partir de los datos experimentales usando el programa de análisis y construcción de gráficas Origin 8.0 (OriginLab Inc.). La velocidad máxima de consumo de cianuro, producción de amonio o crecimiento de biomasa fue calculada a partir de los parámetros que arroja el modelo de Gompertz y sustituyéndolos en la **Ec. 2-13** (Draper & Smith, 1981). Mientras que para determinar si existió una fase de retardo en el cultivo, se utilizó la **Ec. 2-14**.

$$V_{max} = 0.368\alpha\kappa \quad \text{Ec. 2-13}$$

$$\text{Fase de retardo} = \beta - \left(\frac{1}{\kappa}\right) \quad \text{Ec. 2-14}$$

De acuerdo al modelo de Monod, para algunos microorganismos es inhibitorio el exceso de sustrato en la tasa de crecimiento (Nuñez, 2014). El modelo Haldane se utilizó para representar la inhibición de μ con respecto de S (**Ec. 2-15**).

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad \text{Ec. 2-15}$$

Donde:

K_i =Constante de inhibición

La relación sustrato/microorganismo (A/M), se define como la tasa de DBO o DQO aplicada por unidad de volumen al licor mezclado (**Ec. 2-15**).

$$\frac{A}{M} = \frac{S_0}{\theta X} \quad \text{Ec. 2-16}$$

Donde:

A/M= Relación sustrato/microorganismo (mg DQO mg⁻¹ · SSV d⁻¹)

S₀= Sustrato soluble y biodegradable, DQO en el influente (mg·L⁻¹)

θ= Tiempo de residencia hidráulico (d)

X= Concentración de SSV en el licor mezclado (mg·L⁻¹)

Para el cálculo de retención celular se utilizó la siguiente ecuación (Ec. 2-15):

$$TRS = \frac{V}{Q} \quad \text{Ec. 2-17}$$

Donde:

TRS= Tiempo de retención de sólidos (d)

V= Volumen (L)

Q= Caudal (L·h⁻¹)

2.4.2 Seguimiento de los parámetros físicos y químicos en los reactores

En la **Tabla 2-6** se enlistan los parámetros analizados y los métodos utilizados en cada uno de los casos. Las técnicas de algunos de ellos se describen más adelante.

Tabla 2-6. Métodos de análisis físicos y químicos para pruebas en continuo

Parámetro (mg·L ⁻¹)	Método de análisis	Equipo
Físicos		
Color aparente y verdadero (UPT-Co)	2120-Standard Methods	Espectrofotómetro marca Hach modelo DR/2010
Conductividad (mS·cm ⁻¹)	NMX-AA-093-SCFI-2000	Conductímetro marca HACH modelo 44600
pH	NMX-AA-008-SCFI-2011(Potenciómetro)	Potenciómetro Orion Modelo Star A211
Sólidos sedimentables	NMX-AA-004-SCFI-2013	-
Sólidos suspendidos totales y volátiles	NMX-AA-034-SCFI-2015	Horno marca Felisa, Mufla marca Felisa modelo FE-360, Balanza analítica marca OHAUS modelo AX324
Temperatura (°C)	2550-Standard Methods (Potenciómetro)	Potenciómetro Orion Modelo Star A211
Turbiedad (NTU)	2130-Standard Methods	Turbidímetro marca HACH modelo 1900

Parámetro (mg·L ⁻¹)	Método de análisis	Equipo
Químicos		
Amonio	Método de fenato/Electrodo de ión selectivo	Electrodo de ion selectivo marca HANNA Instruments modelo HI4101
Cianuro libre y cianuro total	NMX-AA-058-SCFI-2001 (espectrofotométrico) y electrodo de ion selectivo	Electrodo de ion selectivo marca HANNA Instruments modelo HI4109
DQO	NMX-AA-030/1-SCFI-2012	Espectrofotómetro HACH Modelo 2700 y digestor HACH Modelo DRB200
Metales (Fe, Cu y Ni)	Absorción atómica	Perkin Elmer modelo AAnalyst 200

Para llevar a cabo la incubación de la biomasa se utilizó un baño maría con agitación orbital marca Lab Company modelo B5-11 y una incubadora Precision modelo 6, la siembra de microorganismos se realizó en una campana de flujo laminar vertical marca CHClab modelo B-CV-03 (CLB-201-03), las pruebas en un agitador orbital marca SEV (Sistemas y Equipos de Vidrio) modelo AGO-60-50 y la medición de la biomasa, así como la de cianuro en un espectrofotómetro marca Shimadzu modelo UV-1800.

2.4.3 Determinación de cianuro libre y total

Para llevar a cabo la determinación de la concentración de cianuro total se emplearon varias técnicas de medición, como lo son el método espectrofotométrico (destilación de la muestra y posterior desarrollo de color) descrito en la norma mexicana [NMX-AA-058-SCFI-2001](#) y la medición con electrodo de ion selectivo. En el análisis espectrofotométrico, al realizar la destilación, los cianuros, como HCN, son liberados por el reflujo de la muestra con un ácido fuerte, los cuales son adsorbidos en una disolución de NaOH. Una vez que se lleva a cabo la destilación, el cianuro se convierte en cloruro de cianógeno (CNCl) por reacción con cloramina-T a un pH menor de 8 evitando que se lleve a cabo la hidrólisis de los cianuros. Una vez que la reacción a llegado a su fin, el color se forma por la adición del reactivo ácido piridin-barbitúrico. Es importante que la concentración de NaOH sea la misma en los estándares y las muestras para que los colores obtenidos sean comparables en intensidad.

Existen diferentes electros de ion selectivo, entre los que se encuentran los electrodos de estado sólido (desarrollo de voltaje debido a un intercambio iónico generado entre la muestra y la membrana orgánica), los de membrana líquida (su base es similar a los de estado sólido, sin embargo, las membranas no son tan resistentes) y los sensores de gas (trabaja en base a la presión parcial del gas medido en la solución). Para el caso del cianuro, el electrodo a utilizar es de estado sólido y puede ser de media celda o combinado. Las muestras se colectaron en recipientes ya sea de plástico o vidrio y se adicionó NaOH para elevar su pH a más de 12 unidades. Se refrigeraron a 4°C hasta el momento del análisis. El tiempo máximo de almacenamiento es de 14 días.

2.4.3.1 Destilación

Para llevar a cabo la destilación (**Figura 2-11**), se colocaron 500 mL de muestra en un matraz de ebullición (1 L). Posteriormente se agregó 10 mL de NaOH (1 N) dentro del tubo de adsorción y se añadió agua hasta que la espiral se encuentre cubierta. Se montó el equipo de destilación, se ajustó la bomba de vacío para que el aire entre con un flujo lento por el matraz tipo Claissen y se dejó estabilizar en dos burbujas de aire por segundo.

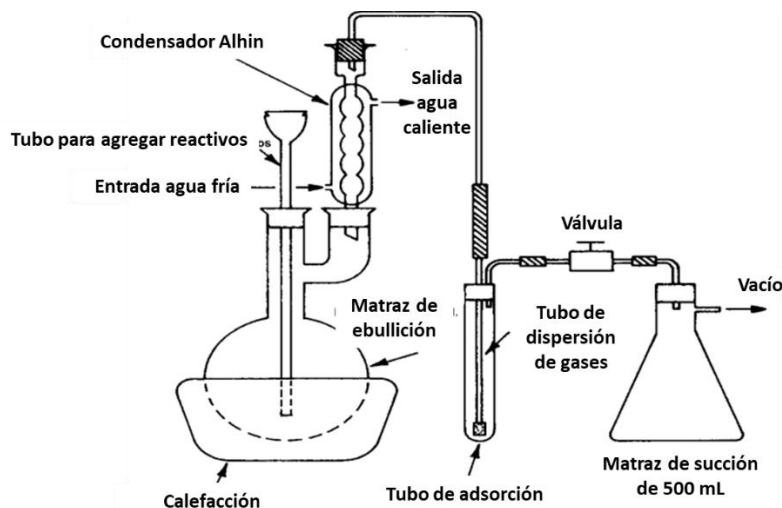


Figura 2-11. Equipo para destilación de cianuros por reflujo

Se adicionaron 50 mL disolución de ácido sulfámico ($\text{H}_2\text{NSO}_3\text{H}$), para eliminar NO_3^- y/o NO_2^- , y se mezcló 3 minutos para estabilizar. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se añadieron 50 mL de H_2SO_4 (1:1) a través del tubo para agregar reactivos y éste se lavó con agua. Se dejó mezclar durante 3 minutos y posteriormente se vertieron 20 mL de disolución de MgCl_2 dentro del tubo de entrada de aire y se lavó con vapor de agua. Como último paso se calentó la disolución hasta hervir, permitiendo el reflujo por lo menos 1 hora, una vez que la fuente de calor se apagó se continuó con el flujo de aire durante 15 minutos más como mínimo. Una vez que el matraz se encontró frío, se desconectó y se drenó la disolución del adsorbente dentro de un matraz volumétrico de 250 mL, a su vez, se lavó el adsorbente y esta agua se agregó al matraz para ser aforado.

2.4.3.2 Método espectrofotométrico- Desarrollo de color

Se tomó una alícuota de la disolución destilada (máximo 8 mL) y se colocó en un matraz aforado de 10 mL, se añadieron 0.2 mL de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ (acetato de sodio) y 0.4 mL de disolución de cloramina-T, se mezcló por inversión un par de veces y se dejó estabilizar durante 2 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, se adicionaron 5 mL del reactivo ácido piridin-barbitúrico y se aforo con agua destilada. Se mezcló por inversión y se dejó estabilizar de 8 a 15 minutos. La absorbancia se leyó a 578 nm.

2.4.3.3 Método potenciométrico- Ion selectivo

Para la lectura del cianuro se utilizó un electrodo de ion selectivo marca HANNA Instruments modelo HI4109, el cual se calibró con cinco puntos (1, 2.5, 10, 25 y 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), mientras que para el amonio fue un electrodo de ion selectivo marca HANNA Instruments modelo HI4101, el cual se calibró con cinco puntos (50, 100, 250, 500 y 1,000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Para realizar las mediciones con este tipo de electrodos, se requiere la adición de solución de ajuste de fuerza iónica (ISA, por sus siglas en inglés, Ionic Strength Adjuster) en una proporción de 4 mL de ISA por cada 100 mL de muestra. Posteriormente, se sumergió el electrodo en la muestra y permaneció en la disolución hasta que la lectura se encontró estable, una vez que se haya leído la concentración, se retiraron los electrodos y se lavaron con agua destilada. Se repitió la operación entre cada muestra.

2.4.3.4 Curvas de calibración

Para la lectura de cianuro, se realizaron tres curvas de calibración en un Espectrofotómetro UV-1800 marca Shimadzu. Todas ellas se prepararon a partir de un estándar de cianuro con una concentración de 1,000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y se realizaron de acuerdo al procedimiento de la [NMX-AA-058-SCFI-2001](#), el cual consiste de manera general en desarrollo de color mediante la adición de ácido piridin-barbitúrico y la lectura de su absorbancia a 578 nm (**ANEXO I- Determinación de cianuro**). Las concentraciones utilizadas en la primera curva fueron las establecidas en la norma anteriormente mencionada (0.02 a 0.20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). La calidad de la curva se evaluó obteniendo el coeficiente de correlación lineal, en este caso 0.997.

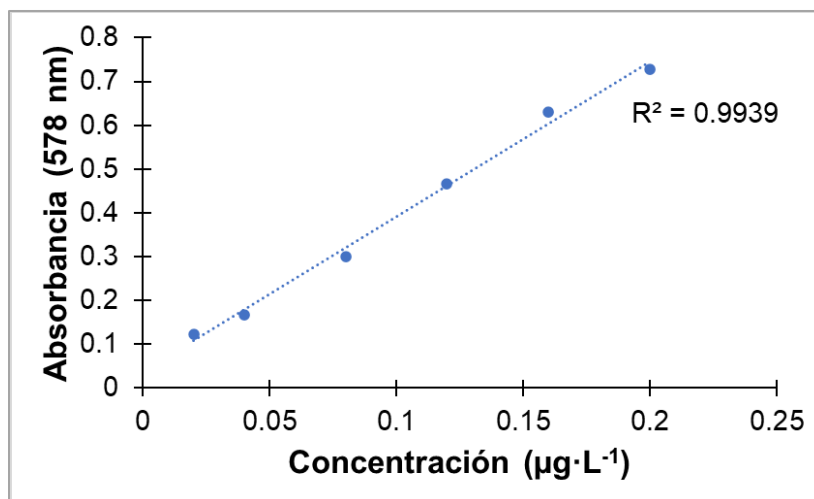


Figura 2-12. Curva de calibración de cianuro en un rango de 0.02 a 0.20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

Posteriormente, se realizaron las dos curvas de calibración restantes, para bajas concentraciones de cianuro fue de 1 a 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, mientras que, para altas concentraciones, el cianuro varió de 20 a 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. En ambos casos el R^2 cumplió con lo establecido en la [NMX-AA-058-SCFI-2001](#) siendo de 0.997 y 0.998 para el rango medio y alto respectivamente.

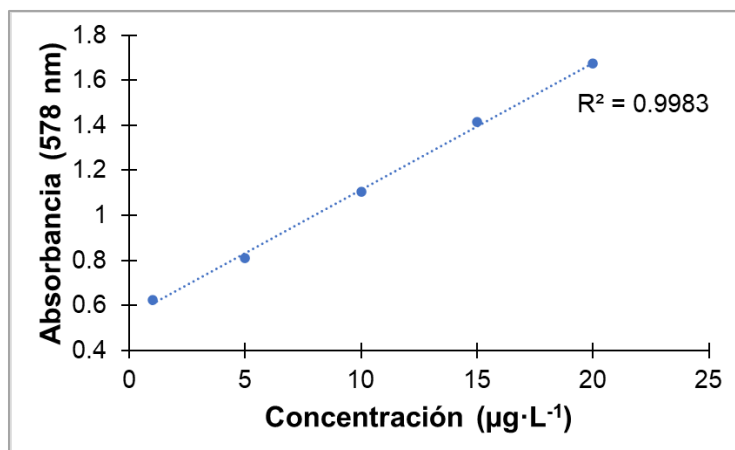


Figura 2-13. Curva de calibración de cianuro en un rango de 1 a 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

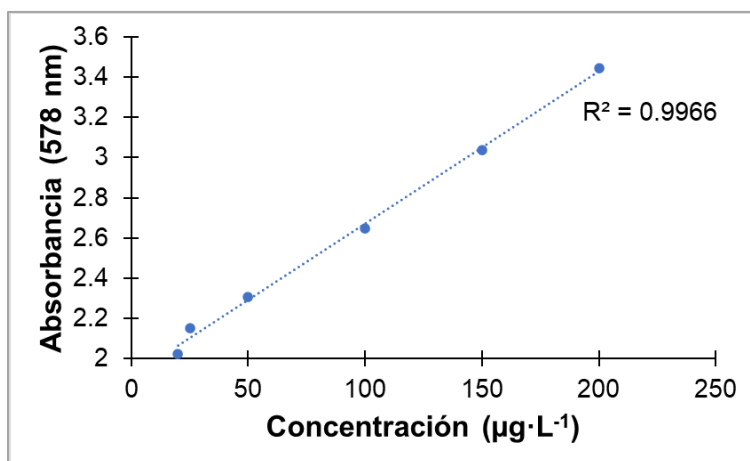


Figura 2-14. Curva de calibración de cianuro en un rango de 20 a 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

2.4.3.5 Validación de lecturas obtenidas con el ISE

Una vez que se contó con el montaje de las técnicas para la lectura del cianuro, se procedió a validar el uso del ISE como técnica alternativa al uso del espectrofotómetro para llevar a cabo la cuantificación de cianuro, así como a evaluar la posibilidad de evitar la destilación de la muestra, ya que su objetivo principal es la eliminación de interferencias, sin embargo, al utilizar agua sintética en las primeras etapas del presente trabajo, se considera que no se cuentan con ellas. Además, el Standard Method 4500 CN-F recomienda la aplicación del ISA para garantizar que las muestras tienen la misma carga iónica al leerse con electrodo.

Para ello se prepararon cuatro soluciones, a partir de un estándar, con distintas concentraciones de cianuro (1, 2.5, 5, 15 y 30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y se realizó el destilado de las soluciones como lo indica la [NMX-AA-058-SCFI-2001](#). En el espectrofotómetro UV-1800 marca Shimadzu se leyeron las soluciones destiladas y en el ISE las soluciones destiladas y las soluciones sin destilar (**Figura 2-15** y **Figura 2-16**) (**ANEXO I- Determinación de cianuro**).

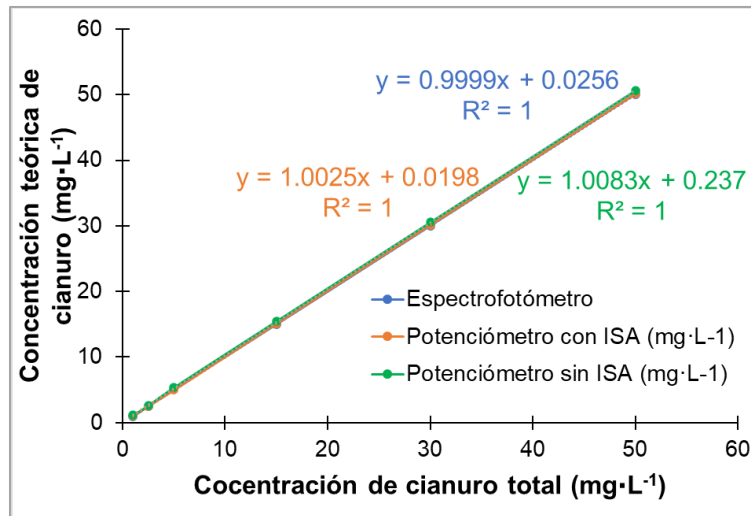


Figura 2-15. Validación de lecturas destiladas (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo)

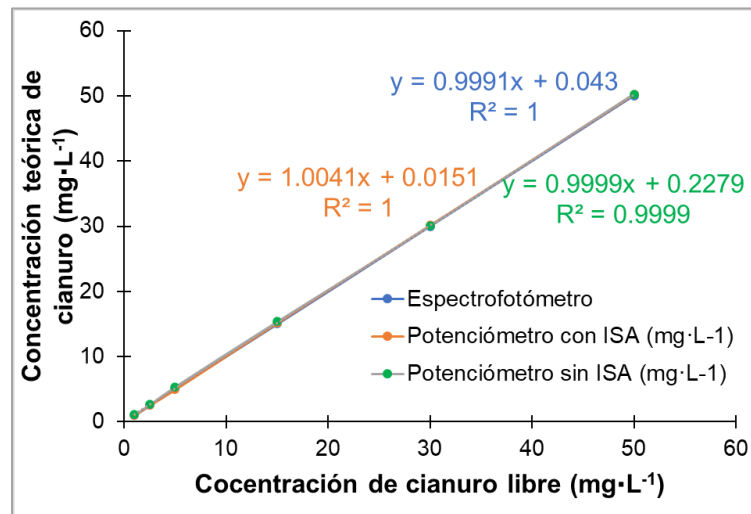


Figura 2-16. Validación de lecturas sin destilar (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo)

En este caso se utilizó un análisis estadístico de análisis de varianza (ANOVA) para comparar las medias de las tres variables con un nivel de confianza del 95%, para ello se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06. Los resultados mostraron que no existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos entre los resultados obtenidos en el espectrofotómetro y con el electrodo de ion selectivo adicionando ISA, por lo tanto, es posible llevar a cabo la medición de cianuro mediante el electrodo de ion selectivo, pero si al no llevarse a cabo la adición de la solución ISA.

2.4.4 Determinación de metales

Los metales fueron analizados mediante absorción atómica de acuerdo al procedimiento establecido en la [NMX-AA-051-SCFI-2016](#), para la medición de metales disueltos se filtró la

muestra a través de una membrana con diámetro de poro de 0.45 μm y posteriormente el filtrado se acidificó con ácido nítrico concentrado marca Meyer hasta tener un $\text{pH} < 2$ y se refrigeró a 2°C para su preservación.

Por otra parte, para la medición de metales suspendidos se filtró la muestra a través de una membrana con diámetro de poro de 0.45 μm y se registró el volumen del filtrado para posteriormente colocar la membrana procedente del filtrado en un vaso de precipitado de 150 mL, se añadió 4 mL de ácido nítrico concentrado (marca Meyer), se cubrió con un vidrio de reloj y se calentó hasta obtener la digestión completa de la membrana, una vez digerida la membrana se continuó calentando casi hasta la sequedad (evitando que hirviera la muestra) y se dejó enfriar, se lavó el vidrio de reloj con agua y se depositó en el vaso de precipitado. Se añadieron 3 mL de ácido nítrico concentrado, se cubrió y se continuó con la digestión hasta que la muestra obtuvo una apariencia cristalina, se dejó calentar casi hasta la sequedad y se enjuagó el vidrio de reloj con agua. Por último, se añadieron 10 mL de ácido clorhídrico (marca J.T. Baker) (1:1) y 15 mL de agua por cada 100 mL de muestra filtrada y se calentó durante 15 minutos adicionales para disolver los precipitados que se hallan formado, una vez enfriada la muestra se refrigeró a 2°C para su preservación.

La determinación de los metales se llevó a cabo en un equipo de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo AAnalyst 200 y las lámparas que se utilizaron fueron de cátodo hueco (**Tabla 2-7**) mientras que el gas de acarreamiento fue acetileno con un flujo de $2.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ y el gas oxidante fue aire con un flujo de $10 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, con excepción del cromo cuyo flujo de acetileno fue de $3.30 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

Tabla 2-7. Parámetros en la determinación de metales

Metal	Longitud de onda de lámparas (nm)	Concentración de estándares ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	R^2
Cadmio	228.80	0.050, 0.10, 0.50, 2.50 y 5.00	0.9988
Cobre	324.7	0.50, 2.00, 2.50, 5.00 y 10.00	0.9987
Cromo	357.87	0.50, 1.00, 2.50, 5.00 y 10.00	0.9989
Hierro	248.33	0.10, 0.50, 2.50, 5.00 y 10.00	0.9997
Níquel	232	0.50, 1.00, 2.50, 5.00 y 10.00	0.9965
Plomo	283.31	0.50, 1.00, 2.50 y 5.00	0.9986
Zinc	213.86	0.10, 0.50, 1.00, 2.50 y 10.00	0.9972

2.4.5 Conteo de microorganismos

2.4.5.1 Conteo por densidad óptica

En una suspensión microbiana, la cantidad de células está directamente relacionada con la turbiedad o densidad óptica de la misma e inversamente relacionada con la cantidad de luz que pasa a través de ella. Por lo cual, la cantidad de bacterias (vivas y muertas) fue medida,

mediante un espectrofotómetro (Péquignot et al., 1998; Olivas y Alarcón, 2004; Farges et al., 2012). La longitud de onda a la cual se realizaron las mediciones fue de 600 nm (Dumestre et al., 1997; Kao et al., 2003; Madigan et al., 2009; Kim et al., 2012) y el blanco a utilizar fue el medio de cultivo sin inocular (Chapatwala et al., 1998).

2.4.5.2 Conteo por el método de diluciones y vaciado en placa

Se tomó 1 mL con una pipeta estéril y se depositó en un tubo con 9 mL de agua de dilución (previamente esterilizado). Esta primera dilución fue la solución madre, la cual se agitó suavemente durante 30 segundos para favorecer la dispersión homogénea de los microorganismos. Posteriormente, se transfirió 1 mL de la solución madre a otro tubo con 9 mL de agua de dilución y se agitó suavemente. Esta operación se repitió hasta llegar al octavo tubo. En cada caso, se utilizó una pipeta estéril diferente (NOM-110-SSA1-1994).

Una vez preparado el banco de diluciones se tomaron alícuotas del tubo más diluido al más concentrado y se colocó 1 mL en los tubos preparados con caldo peptonado y 1 mL en una caja Petri con medio Tripteina Soya Agar (sin solidificar), mezclando mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante. Se repitió el procedimiento con las diluciones restantes. Se incubaron las placas en posición invertida durante 48 ± 2 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ (mesófilos aerobios) (NOM-092-SSA1-1994) y con agitación orbital a 150 rpm los tubos. Para la preparación del agua de dilución, se agregó a cada litro de agua desionizada 5 mL de MgCl_2 y 1.25 mL de KH_2PO_4 (FUNASA, 2013 y NOM-110-SSA1-1994). Mientras que, para la preparación de los tubos de ensayo, se colocaron 10 mL del agua de dilución (1 mL se perdió por evaporación) y se esterilizó en autoclave una autoclave durante 15 min a 121°C y 137.9 KPa. La preparación de la Tripteina Soya Agar consistió en disolver 40 g de polvo con 1 L de agua, para facilitar su disolución se mantuvo en agitación continua y proporcionándole calor. Posteriormente, al igual que el caldo peptonado, se colocó en matraces Erlenmeyer y se sellaron con un tapón de algodón y papel aluminio para esterilizarse en una autoclave durante 15 min a 121°C y 137.9 KPa. Una vez que los medios alcanzaron una temperatura tolerable, se vertió (en condiciones estériles) el contenido de los matraces Erlenmeyer en cajas Petri, se colocaron las diluciones y se dejó solidificar.

Después de la incubación, las colonias se contaron manualmente y su crecimiento se expresó como UFC (Monballiu et al., 2015). Es importante que el número de colonias que aparecen en las placas no sea demasiado grande ni demasiado pequeño. Por lo tanto, para que el conteo de microorganismos sea estadísticamente viable, el número de colonias por placa deberá oscilar entre 25 y 300 (NOM-092-SSA1-1994 y Madigan et al., 2009).

2.4.5.3 Determinación del peso seco

Para la determinación del peso seco de los microorganismos, se tomó en cuenta el procedimiento de la NMX-AA-034-SCFI-2015 para los sólidos suspendidos totales. Para lo cual se midieron 10 mL de la muestra (microorganismos crecidos en medios de cultivo líquidos) y se filtraron en a través de un filtro colocado en crisoles (previamente tarados). Posteriormente, se colocaron en un horno a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ durante una hora como mínimo y se

medió su peso. El procedimiento se repitió hasta que alcanzar peso constante. El crecimiento de la biomasa se verá aumentado, a medida que el peso seco se incremente (Ezzy y Lynch, 2003).

2.4.6 Identificación de microorganismos

2.4.6.1 Extracción de ADN

Para la extracción de ADN se colocó la muestra en tubos Eppendorf y se centrifugó para retirar el exceso de agua. El procedimiento de extracción de ADN se realizó de acuerdo a las especificaciones del kit ADN “DNeasy PowerSoil Kit” de acuerdo con el protocolo del fabricante (Qiagen, Germany). Posteriormente, se cuantificó por espectrofotometría la concentración de ADN a dos longitudes de onda distintos (260 y 280 nm) para conocer la pureza de la muestra, en base a la relación de las absorbancias A260/A280. Se considera que el ADN es de calidad óptima cuando la relación A260/A280 es cercana a 1.8. Si la relación de A260/A280 > 2.1, se considera que existe una cantidad considerable de ARN en la muestra, ya que los ácidos nucleicos se absorben a 260 nm, sin embargo, si la relación de A260/A280 < 1.6, la muestra se encuentra contaminada por la presencia de compuestos aromáticos, los cuales se absorben a 280 nm (Flores-Velázquez, 2017).

2.4.6.2 Secuenciación

Los ácidos nucleicos fueron enviados al Research and Testing Laboratory (RTL, USA), en donde se secuenciaron con la plataforma MiSeq Illumina.

2.4.6.3 Micrografías

Para observar la estructura de los microorganismos en cada uno de los reactores se realizaron micrografías en el Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas (CIICAP) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) mediante un Microscopio Electrónico de Barrido por Emisión de Campo (FESEM) modelo SU5000 marca HITACHI. En el cual se trabajó en modo de bajo vacío, también conocido como presión variable (50 Pa), a 5KV en electrones secundarios. Se realizaron 5 magnificaciones, siendo éstas: 1000, 5000, 10,000 y 15,000 aumentos. La muestra no necesitó recubrimiento por lo cual solo fue colocada sobre cinta de cobre para su análisis.

3 RESULTADOS

3.1 EVALUACIÓN DEL CONSORCIO MICROBIANO

3.1.1 Pruebas de biodegradabilidad y evaluación de inóculos

La biodegradabilidad del contaminante debe de ser del 10% durante los primeros diez días y un máximo de biodegradación de 29 días (OECD, 1992). En este caso, se realizó la prueba tal y como lo indica la OECD, adicionando el cianuro como única fuente de carbono y energía, con un inóculo que no ha estado en contacto con el contaminante (MC0) y uno que esta estaba previamente aclimatada (MC10) (ANEXO II- Obtención de microorganismos (localización de sitios de muestreo)). En ambos casos se pudo observar que la remoción dentro de los primeros diez días cumple con lo establecido por la OECD, ya que es superior al 10% (MC0=20% y MC10=47%), mientras que, para la segunda condición citada por la OECD, se atribuye la toxicidad del cianuro a la incapacidad por parte del consorcio bacteriano para alcanzar el máximo de remoción a los 29 días (100%), sin embargo, se considera al contaminante como una sustancia biodegradable (de acuerdo a lo establecido por la OECD), ya que en el tiempo anteriormente señalado, se alcanza un 80% de remoción en el medio que se inóculo con las bacterias previamente aclimatadas, en comparación con el procedente de los lodos activados que tuvo una remoción del 56%. (Figura 3-1). Es importante destacar que la concentración del cianuro en los controles (CV) no varío en más del 5%, por lo tanto, la disminución del contaminante en los reactores MC0 y MC10 se atribuye a la acción sobre éste por parte de los microorganismos y no a la volatilización del mismo. Además, los controles de los inóculos (CI) mostraron un mayor crecimiento al no contener cianuro en el medio sintético.

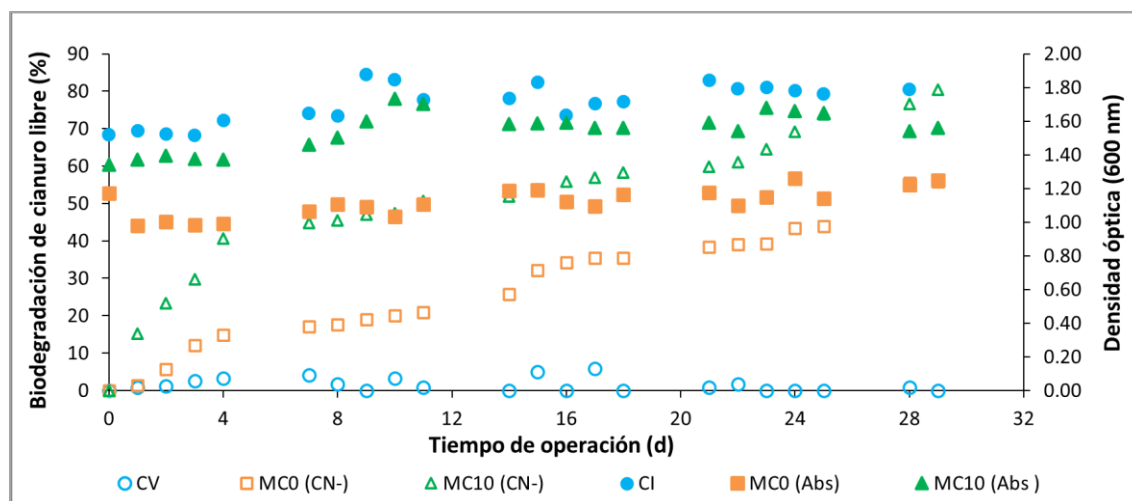


Figura 3-1. Biodegradación cianuro libre en pruebas de biodegradabilidad ($pH=9.5$, $T=25^{\circ}C$ y $[CN]_i=30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Por otra parte, al trabajar con el inóculo que se encontraba previamente aclimatado al contaminante y una concentración inicial de cianuro de $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ se logra alcanzar una concentración menor ($2.32\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Figura 3-2). Una vez que el cianuro es tratado, pueden

formarse compuestos como lo son el tiocianato (SCN^-), cianato (CNO^-), amonio (NH_4^+), amoniaco (NH_3), o iones nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) (**Ec. 3-1**) (Kuyucak y Akcil, 2013).



Posteriormente, el cianato producido es entonces hidrolizado para producir ion amonio e ion carbonato (**Ec. 3-2**). En este caso, la formación de amonio se atribuye a la efectiva degradación de cianuro por parte del consorcio bacteriano, ya que el fundamento de la técnica es la consecución de una elevada proporción de conversión metabólica de cianuro a cianato (bio-oxidación) mediante la actividad bacteriana, teniendo en cuenta que, tanto el carbono como el nitrógeno son nutrientes (Fernández-Pérez, 2007).



En solución acuosa, el amonio y el amoniaco se encuentran en equilibrio (**Ec. 3-3**). Además, es posible apreciar que la pérdida por volatilización es menor al 5%. Debido a la producción de amoniaco y amonio se deduce que en los tres reactores se está llevando a cabo la degradación de cianuro por la vía oxidativa (**Ec. 1.5-13**, **Ec. 1.5-14** y **Ec. 1.5-15**).

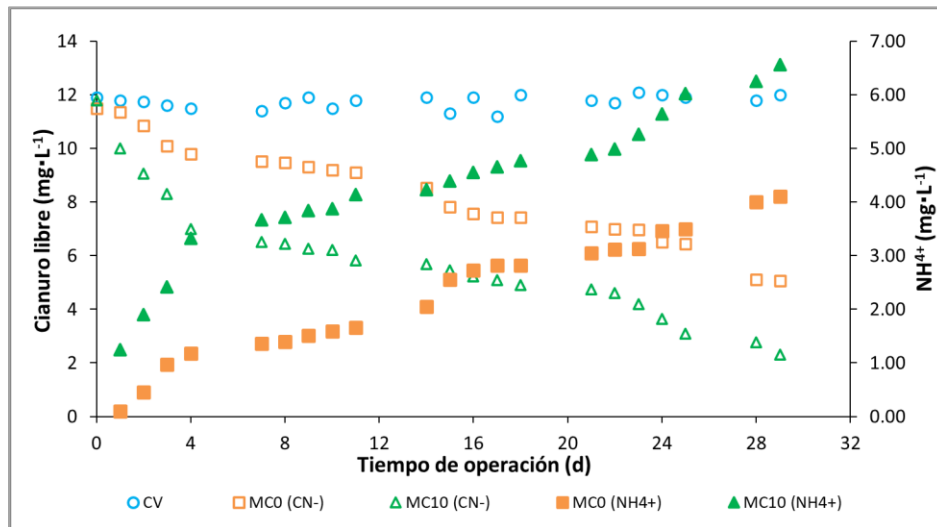
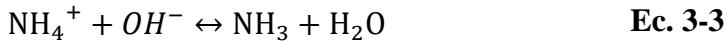


Figura 3-2. Evolución de la concentración de cianuro libre y amonio en pruebas de biodegradabilidad ($\text{pH}=9.5$, $T=25^\circ\text{C}$ y $[\text{CN}]_i=30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Existen otros estudios que han reportado la generación de amonio a partir de la degradación de cianuro en medios acuosos (Kao et al., 2003; Luque-Almagro et al., 2005). La producción de amonio indica la vía de degradación del cianuro, la cual es oxidativa (Kuyucak y Akcil, 2013). Los valores elevados de amonio se atribuyen a una elevada actividad bacteriana en la degradación de cianuro y a una mayor disponibilidad de iones de hidrógeno, mientras que la disminución de este compuesto puede ser indicativo del agotamiento en el uso de nitrógeno a partir del cianuro y de la conversión de amonio a nitrito y nitrato (Abdoul-Raimi, 2013 y Akcil y Mudder, 2003).

3.1.2 Curvas de crecimiento microbiano

Los resultados mostraron las cuatro fases de crecimiento: latencia, exponencial, estacionaria y decaimiento (**Figura 3-3**). El coeficiente de correlación se calculó en base a una línea de tendencia polinómica grado 3, dando una R^2 para el crecimiento en el medio mineral de 0.983 y para el caldo peptonado de 0.965.

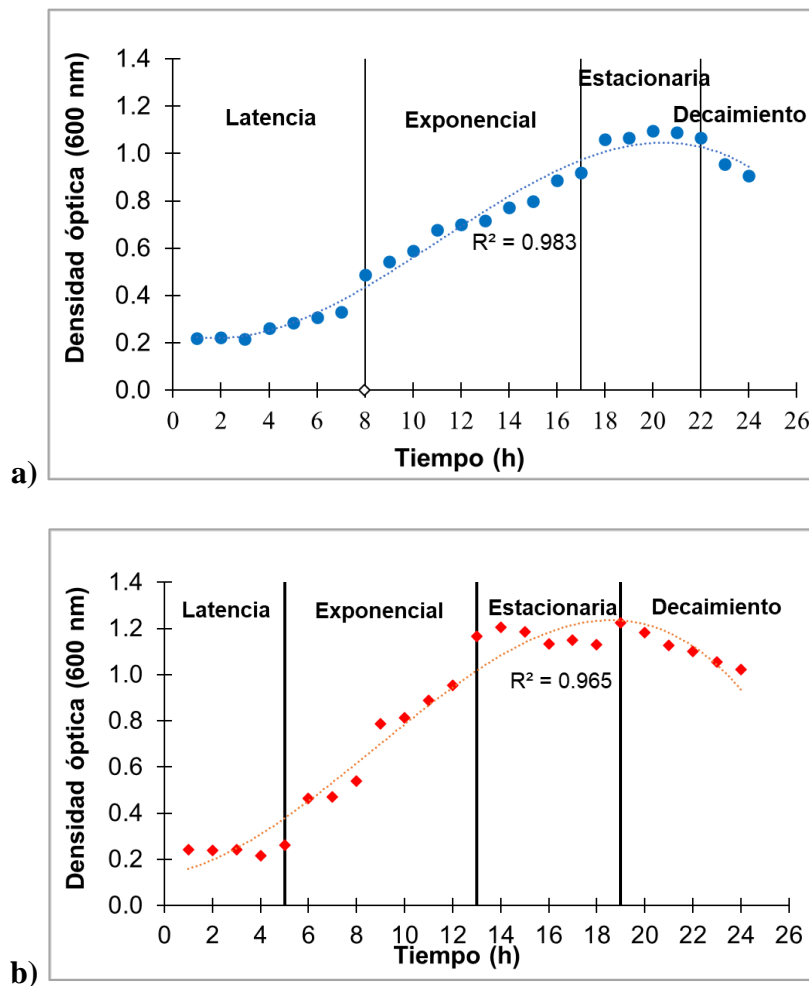


Figura 3-3. Curvas de crecimiento: a) medio mineral y b) caldo peptonado

La **Figura 3-4** muestra la cinética de crecimiento en la fase exponencial, en la cual se puede apreciar el coeficiente de correlación, R^2 , que presenta una mayor tendencia al 1 en el medio mineral (0.982) seguido del caldo peptonado (0.965).

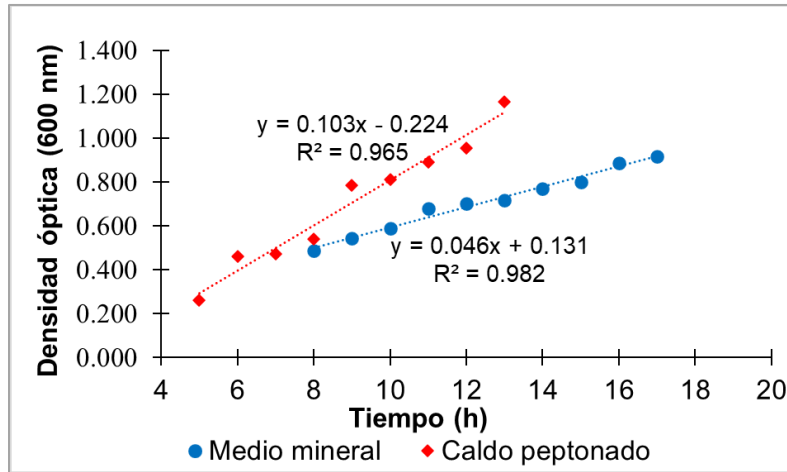


Figura 3-4. Cinética de crecimiento en la fase exponencial

Debido a que la tasa específica de crecimiento (μ) y el número de generaciones (n) es mayor en el caldo peptonado que en el medio mineral, y el tiempo de duplicación o de generación (t_d) es menor en el caldo peptonado en comparación con el medio mineral (Tabla 3-1) se eligió el caldo peptonado para llevar a cabo el mantenimiento y propagación de microorganismos.

Tabla 3-1. Cinéticas de crecimiento

Parámetro	Medio mineral	Caldo peptonado
μ (h^{-1})	0.046	0.103
n en 17 y 13 horas	0.91	2.15
t_d (h)	14.50	6.15

3.1.3 Conteo de microorganismos

Para poder relacionar la densidad óptica con el número de células vivas presentes durante la experimentación, el consorcio microbiano obtenido se sembró en diferentes concentraciones (diluciones de 10^{-1} hasta 10^{-8}) en ambos medios de cultivo y se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC), el peso seco y la densidad óptica. Todos los análisis se realizaron por triplicado. Los resultados obtenidos se muestran en el ANEXO IV- **Conteo de microorganismos**.

Las Figura 3-5, Figura 3-6 y Figura 3-7 muestran los resultados de las diluciones 10^{-4} a 10^{-8} , esto debido a que mientras menor fue la dilución (10^{-1} - 10^{-3}) se presentó un mayor crecimiento de las colonias en las placas lo cual lo volvió inviable para su cuantificación de manera visual. En las placas sembradas con la dilución más grande (10^{-8}) no se observó el crecimiento de colonias, mientras que, en la placa sembrada con la dilución 10^{-4} las colonias eran demasiadas para contar en su totalidad, por lo cual, de acuerdo a lo descrito en la NOM-092-SSA1-1994, se optó por contar un cuadrante y posteriormente el resultado multiplicarlo por cuatro (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.). El coeficiente de correlación lineal (R^2), se calculó con base en el promedio de los resultados obtenidos.

En la **Figura 3-5** se puede observar la relación que existe entre las UFC y la densidad óptica, para el medio mineral y el caldo peptonado los R^2 son de 0.990 y 0.989 respectivamente. Por otra parte, en la **Figura 3-6**, se muestra la relación entre el peso seco y la densidad óptica, en este caso la R^2 es 0.917 para el medio mineral y de 0.840 para el caldo peptonado. Por último, en la **Figura 3-7** se relaciona el peso seco con las UFC y los R^2 son de 0.888 y 0.857 en el medio mineral y el caldo peptonado respectivamente. En todas las relaciones es posible apreciar que el medio mineral muestra una mayor tendencia al coeficiente de correlación, $R^2=1$, en comparación con el caldo peptonado.

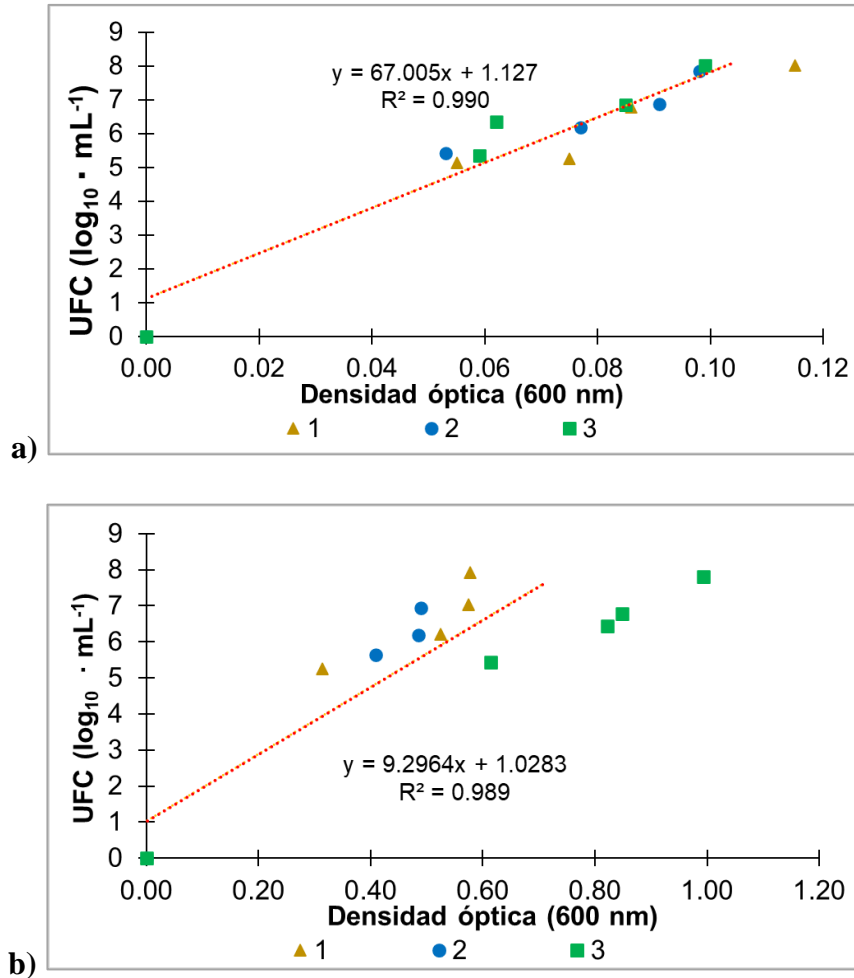


Figura 3-5. Relación densidad óptica vs UFC: a) Medio mineral y b) Caldo peptonado

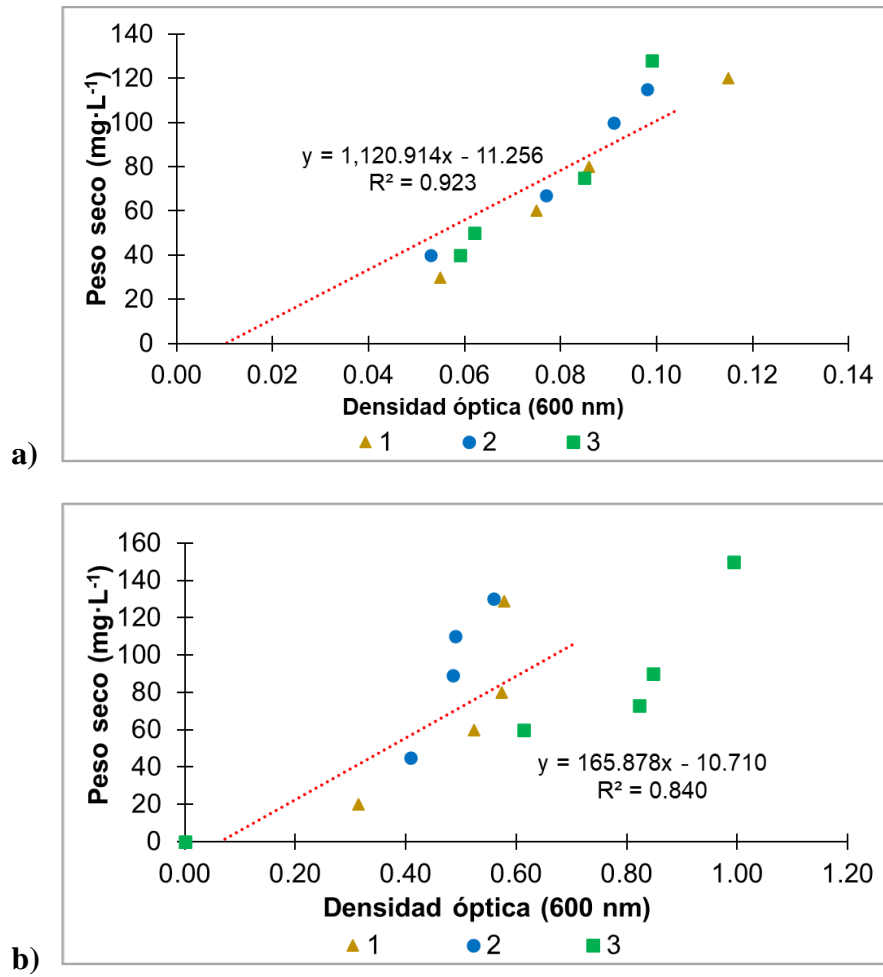
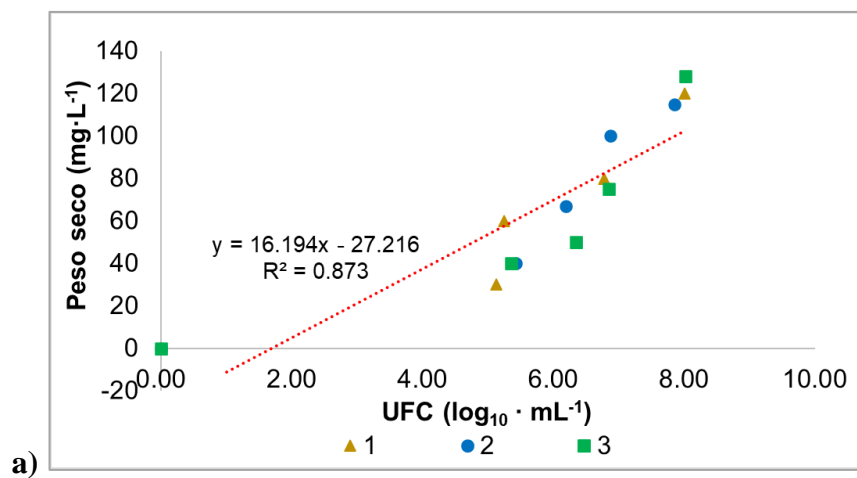


Figura 3-6. Relación peso seco vs UFC: a) Medio mineral y b) Caldo peptonado



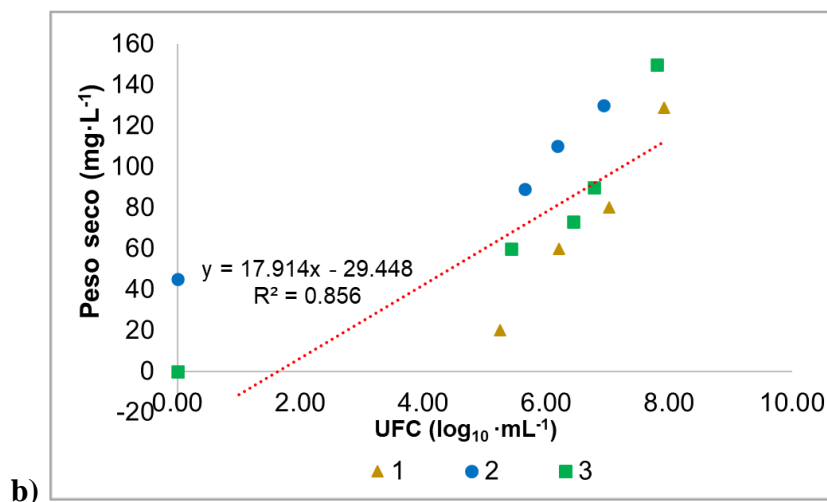


Figura 3-7. Relación densidad óptica vs peso seco en dos medios de cultivo distintos

Adicionalmente, para realizar el análisis estadístico del crecimiento de los microorganismos en los distintos medios, se eligieron las cajas en las que crecieron un número de colonias entre 25 y 250 (diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6}), debido a que esta cantidad se considera como un número de colonias representativas y fáciles de contar de acuerdo con la [NOM-092-SSA1-1994](#). Los resultados mostraron que no existe una diferencia significativa en el crecimiento de las UFC entre un medio y otro, para cada una de las diluciones seleccionadas, siendo el valor de $P=0.5195$, por lo cual, se decidió utilizar el medio mineral en pruebas posteriores, ya que en éste se tiene la capacidad de adicionar o remover la fuente de carbono para así evaluar la capacidad de los microorganismos para degradar el cianuro.

3.1.4 Evaluación de distintas fuentes de carbono y pruebas de inhibición a diferentes concentraciones de cianuro

En la **Figura 3-8** se muestran las líneas de tendencia de las concentraciones de cianuro durante toda la prueba de inhibición, en las realizadas sin la adición de acetato (SP) se obtienen menos de $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ a los 25 y 35 días de operación con concentraciones iniciales de cianuro de 15 y $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ respectivamente, mientras que al adicionar acetato de sodio (SPFC) dicha concentración se obtiene a los 21 días al trabajar con $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de cianuro y de igual manera a los 35 días con una concentración inicial de cianuro de $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Mientras que, en los medios preparados con glucosa (SPFCG) se alcanzaron valores menores a $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ a los 25 días de operación para las concentraciones iniciales de cianuro de 15 y $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, sin embargo, en los días posteriores la concentración se mantuvo constante. En las concentraciones superiores (30 y $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) se requieren más de 35 días para lograr disminuir el cianuro a concentraciones menores de $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

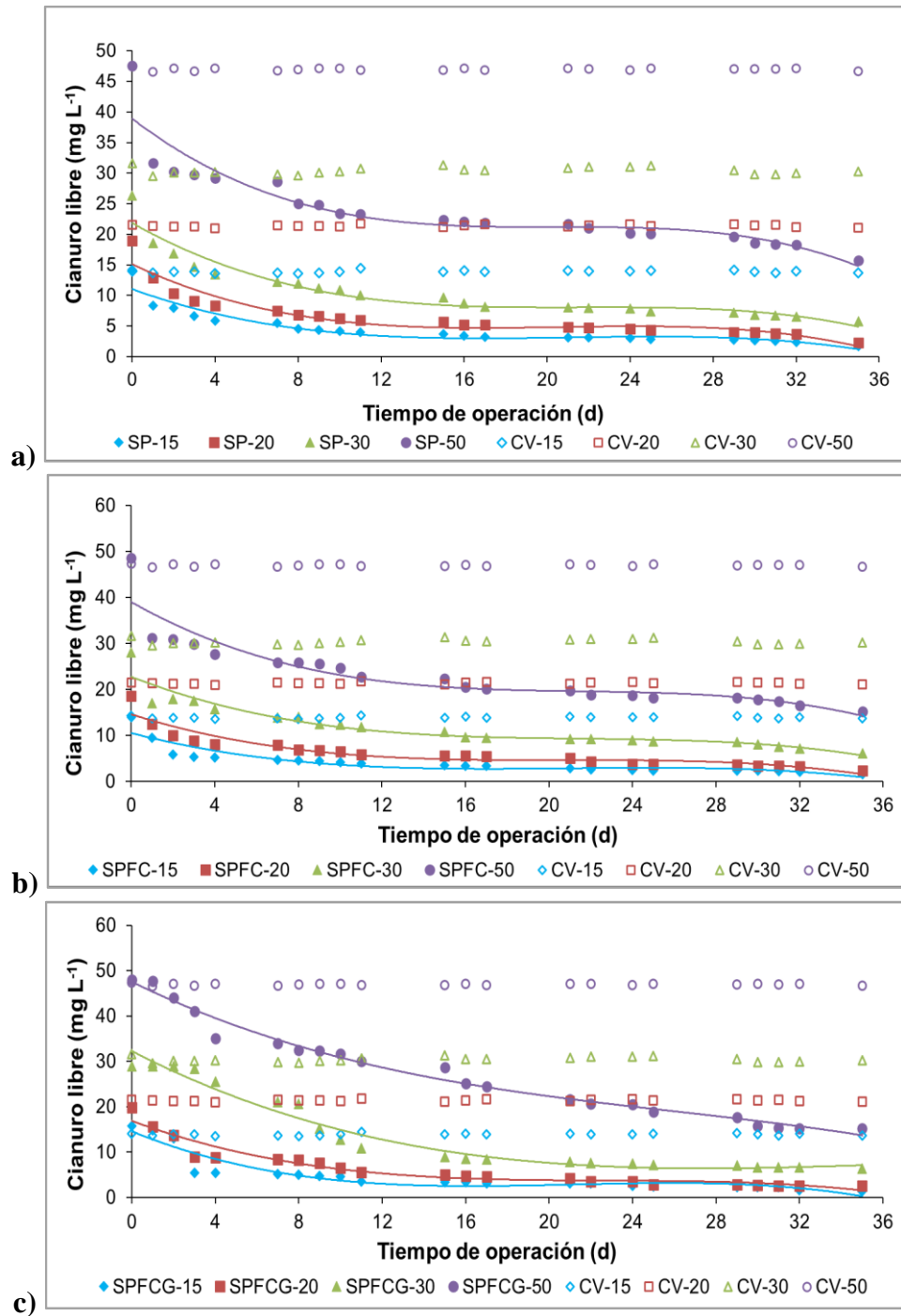


Figura 3-8. Biodegradación de cianuros en pruebas de inhibición ($pH=9.5$ y $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$): **a)** CN como única fuente de carbono, **b)** CN + $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ como fuentes de carbono y **c)** CN + $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ como fuentes de carbono

La **Tabla 3-2** muestra las concentraciones finales de cianuro y las remociones correspondientes a cada una de ellas utilizando tres medios minerales diferentes y cuatro concentraciones distintas de cianuro.

Tabla 3-2. Concentración de cianuro final y su correspondiente remoción utilizando concentraciones de cianuro y medios minerales distintos

[CN ⁻] _i (mg·L ⁻¹)	SP [CN ⁻] _f (mg·L ⁻¹)	SPFC [CN ⁻] _f (mg·L ⁻¹)	SPFCG [CN ⁻] _f (mg·L ⁻¹)
15	1.72 (87%)	1.65 (88%)	1.37 (91%)
20	1.23 (87%)	2.32 (87%)	2.51 (88%)
30	5.76 (78%)	6.13 (78%)	6.32 (82%)
50	15.70 (67%)	15.19 (66%)	15.15 (72%)

En la **Figura 3-9** se puede observar que la pérdida de cianuro es menor al 5% en los controles de volatilización para las diferentes concentraciones trabajadas, por lo tanto se considera despreciable. Por otra parte, en los reactores que fueron inoculados se atribuye la disminución en el contenido de cianuro a la acción de las bacterias y no a la volatilización del mismo.

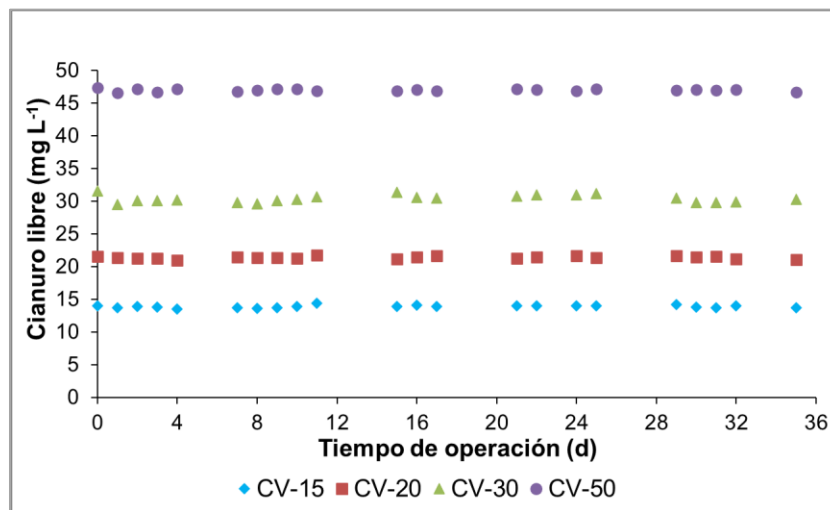


Figura 3-9. Controles de volatilización del cianuro

Los resultados al aplicar diferentes modelos cinéticos (modelo de Monod (**Ec. 2-10**) linealizado al modelo de Lineweaver-Burk (**Ec. 2-11**)) se muestran en las **Tabla 3-3**, **Tabla 3-4** y **Tabla 3-5**.

Las pruebas realizadas sin adicionar una fuente de carbono extra y aquellos a los que se les adicionó acetato de sodio, se ajustaron mejor al modelo de Monod, ya que el coeficiente de correlación R-2 fue más cercano al 1. En aquellos en los que contenía únicamente cianuro las R-2 fueron de 0.97, 0.98, 0.98 y 0.91 para las concentraciones de 15, 20, 30 y 50 mg·L⁻¹ respectivamente y en los que tenían acetato de sodio de 0.97, 0.96 y 0.96 para los medios preparados con 15, 20 y 50 mg·L⁻¹ respectivamente. Por otra parte, para la concentración de 30 mg·L⁻¹ el modelo al que se ajustó mejor fue al de segundo orden (R²=0.95), al igual que en todas las concentraciones trabajadas al adicionar glucosa (0.88, 0.98, 0.94 y 0.98 para 15, 20, 30 y 50 mg·L⁻¹ respectivamente).

Tabla 3-3. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN como única fuente de carbono

[CN] (mg·L ⁻¹)	Orden cero	Primer orden	Segundo orden	Monod
15	K ₀ = -0.0189 R ² =0.64	K ₁ = -0.0391 R ² =0.84	K ₃ =0.009 R ² =0.96	K=9.3858 R ² =0.97
20	K ₀ = -0.255 R ² = 0.69	K ₁ = -0.0383 R ² = 0.87	K ₃ =0.0069 R ² = 0.85	K=11.701 R ² =0.98
30	K ₀ = -0.364 R ² = 0.70	K ₁ = -0.0321 R ² = 0.87	K ₃ =0.0031 R ² = 0.96	K=14.991 R ² =0.98
50	K ₀ = -0.4977 R ² = 0.68	K ₁ = -0.0196 R ² = 0.82	K ₃ =0.0008 R ² = 0.90	K=37.878 R ² =0.91

Tabla 3-4. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN+C₂H₃NaO₂ como fuentes de carbono

[CN] (mg·L ⁻¹)	Orden cero	Primer orden	Segundo orden	Monod
15	K ₀ = -0.1854 R ² = 0.60	K ₁ = -0.042 R ² = 0.87	K ₂ = 0.0116 R ² = 0.96	K=7.6464 R ² =0.97
20	K ₀ = -0.2638 R ² = 0.73	K ₁ = -0.0414 R ² = 0.92	K ₂ =0.0077 R ² = 0.93	K=9.6101 R ² =0.96
30	K ₀ = -0.3807 R ² = 0.73	K ₁ = -0.0308 R ² = 0.89	K ₂ =0.0027 R ² = 0.95	K=15.574 R ² =0.93
50	K ₀ = -0.5234 R ² = 0.76	K ₁ = -0.0217 R ² = 0.88	K ₂ =0.0009 R ² = 0.95	K=33.79 R ² =0.96

Tabla 3-5. Coeficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN+C₆H₁₂O₆ como fuentes de carbono

[CN] (mg·L ⁻¹)	Orden cero	Primer orden	Segundo orden	Monod
15	K ₀ = -0.2754 R ² = 0.57	K ₁ = -0.0527 R ² = 0.83	K ₂ = 0.014 R ² = 0.88	K= 4.1880 R ² =0.78
20	K ₀ = -0.3548 R ² = 0.70	K ₁ =-0.0534 R ² = 0.92	K ₂ = 0.0102 R ² = 0.98	K= 4.8665 R ² =0.96
30	K ₀ = -0.8002 R ² = 0.74	K ₁ = -0.0521 R ² = 0.8598	K ₂ = 0.0041 R ² = 0.94	K= 5.9305 R ² =0.77
50	K ₀ = -1.0407 R ² = 0.87	K ₁ = -0.0364 R ² = 0.96	K ₂ = 0.0014 R ² = 0.98	K= 13.315 R ² =0.89

Para evaluar la biodegradación del cianuro utilizando distintas fuentes de carbono se generó una comparación de medias con el software Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06. Al P>0.05 se concluyó que la remoción de cianuro para cada una de las concentraciones no se ve afectada por la composición del medio (**Tabla 3-6**).

Tabla 3-6. Resultados del análisis de varianza (relación *F* y valor *P*) en la biodegradación de cianuro libre utilizando distintas fuentes de carbono

[CN] (mg·L ⁻¹)	Razón-F	Valor-P
15	0.07	0.9315
20	0.51	0.6017
30	0.03	0.9738
50	0.23	0.7987

Para analizar la inhibición de los microorganismos se realizaron comparaciones de medias entre las concentraciones (15, 20, 30 y 50 mg·L⁻¹) para cada uno de los medios, en ellas se mostró que existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95% (**Tabla 3-7**), motivo por el cual se prosiguió a analizar las pruebas mediante una comparación múltiple para determinar que concentraciones son significativamente diferentes de las demás (procedimiento de diferencia menos significativa, LSD, por sus siglas en inglés, Least Signifacnt Difference), demostrando que no existe diferencia estadísticamente significativa al trabajar con 30 y 50 mg·L⁻¹, sin embargo, las concentraciones finales se ven favorecidas al trabajar con 30 mg·L⁻¹, siendo éstas de 5.76, 6.13 y 6.32 mg·L⁻¹ en comparación con 15.70, 15.19 y 15.15 mg·L⁻¹ al trabajar con 50 mg·L⁻¹ de cianuro inicial para los medios SP, SPFC y SPFCG respectivamente.

Tabla 3-7. Resultados del análisis de varianza (relación *F* y valor *P*) en la biodegradación de cianuro utilizando distintas concentraciones de cianuro inicial

Tipo de medio	Razón-F	Valor-P
SP	3.59	0.0169
SPFC	4.89	0.0035
SPFCG	4.00	0.0102

La **Tabla 3-8** muestra el rendimiento obtenidos para la biomasa/sustrato (Y_{BM} , **Ec. 2-5Ec. 2-4**) y la **Tabla 3-9** la producción de amonio ($YN-NH_{4+}$, **Ec. 2-4**), se puede observar que en ambos casos éstos se ven incrementados al trabajar con menores concentraciones de cianuro, sin embargo, al realizar un análisis estadístico entre las diferentes concentraciones iniciales de cianuro, se determina que no existe una diferencia significativa al trabajar con 15, 20 o 30 mg·L⁻¹ CN⁻.

Tabla 3-8. Rendimiento biomasa/sustrato (Y_{BM}) con diferentes medios

[CN] _i (mg·L ⁻¹)	SP	SPFC	SPFCG
15	0.0134	0.0244	0.0062
20	0.0052	0.0158	0.0042
30	0.0042	0.0050	0.0018
50	0.0027	0.0009	0.0004

Tabla 3-9. Rendimiento de producción de amonio ($Y_{N-NH_4^+}$) con diferentes medios

[CN] _i (mg·L ⁻¹)	SP	SPFC	SPFCG
15	27.84	28.00	31.15
20	27.87	27.64	37.46
30	24.96	24.98	26.32
50	21.41	21.07	23.34

Las tasas máximas de consumo de sustrato y las constantes de saturación para los medios SP, SPFC y SPGCG se calcularon en función de la cinética de segundo orden para la fase de crecimiento exponencial (**Tabla 3-10**). Las tasas obtenidas en este estudio fueron mayores a las obtenidas por [Abdoul-Raimi \(2013\)](#): 0.0067, 0.0058, 0.0072 y 0.0087 h⁻¹ al utilizar distintas concentraciones iniciales de glucosa (0.5, 1, 2 y 4 g·L⁻¹).

Tabla 3-10. Velocidades máximas de degradación y constante de saturación para cuatro concentraciones diferentes de cianuro y tres medios minerales distintos

[CN] (mg·L ⁻¹)	μ_{max} (d ⁻¹)			K_s (mg·L ⁻¹)		
	SP	SPFC	SPFCG	SP	SPFC	SPFCG
15	1.22	1.32	1.89	11.48	10.08	11.60
20	1.37	1.83	11.55	16.08	17.59	16.27
30	1.60	1.64	4.29	23.94	25.53	25.06
50	1.01	1.11	3.73	38.24	37.55	31.23

A concentraciones mayores de cianuro se constató una disminución en esta velocidad, según establece el modelo de Haldane (**Figura 3-10**). La constante de inhibición (K_i) obtenida para la biomasa al trabajar con los reactores que contenían únicamente cianuro (SP) fue de 0.01510 mg·L⁻¹, para los experimentos con acetato de sodio (SPFC) de 0.06899 mg·L⁻¹ y para aquellos adicionados con glucosa de 0.8395 mg·L⁻¹ (SPFCG); [Gerginova et al., \(2014\)](#), estudiaron el efecto inhibitorio de dos fármacos y obtuvieron K_i de 0.58 g·L⁻¹ (menor efecto inhibitorio) para el resorcinol y 0.13 g·L⁻¹ (mayor efecto inhibitorio), mostrando que el cianuro tiene un mayor efecto inhibitorio en el crecimiento de microorganismos en comparación con este tipo de fármacos y demostrando que mientras mayor es la K_i menor es el efecto inhibitorio.

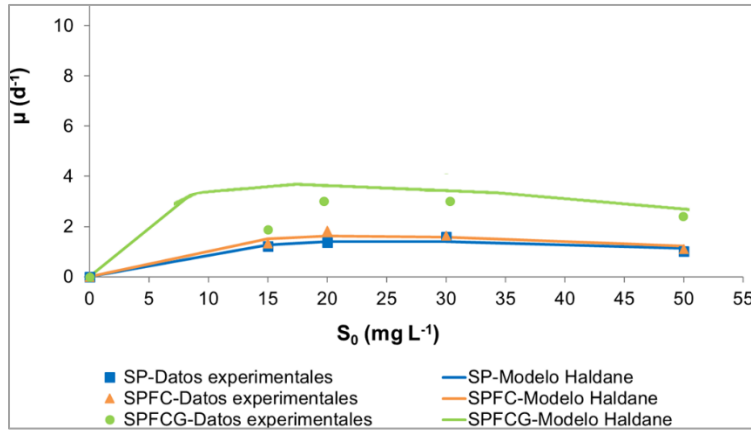
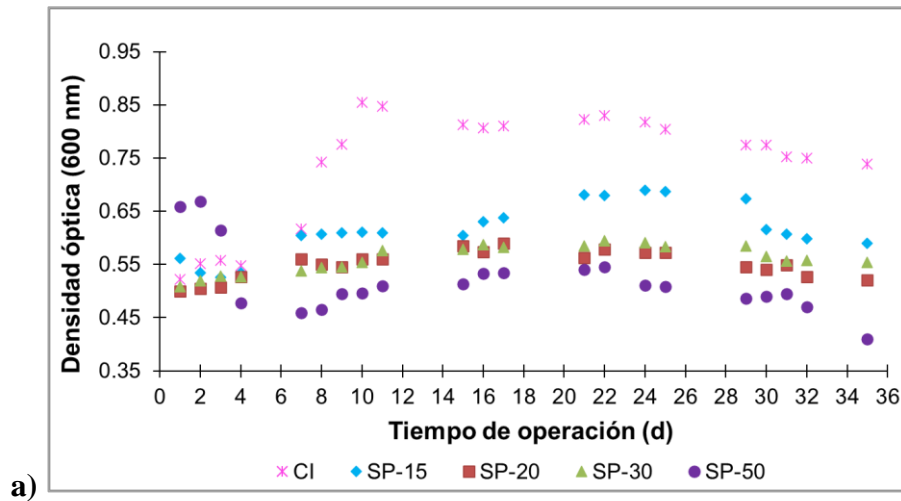


Figura 3-10. Ajuste de un modelo de Haldane a la velocidad máxima de consumo de sustrato ($pH=9.5$ y $T=25$ °C)

Los resultados del crecimiento de la biomasa se muestran en la **Figura 3-11**, en la cual se puede observar que no existe una fase de crecimiento exponencial, sino que, la biomasa se mantiene constante durante la experimentación, con excepción de la trabajada con $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y SPFC, mostrando una fase de crecimiento a partir del día 10 y hasta el día 22 donde comienza su decaimiento.



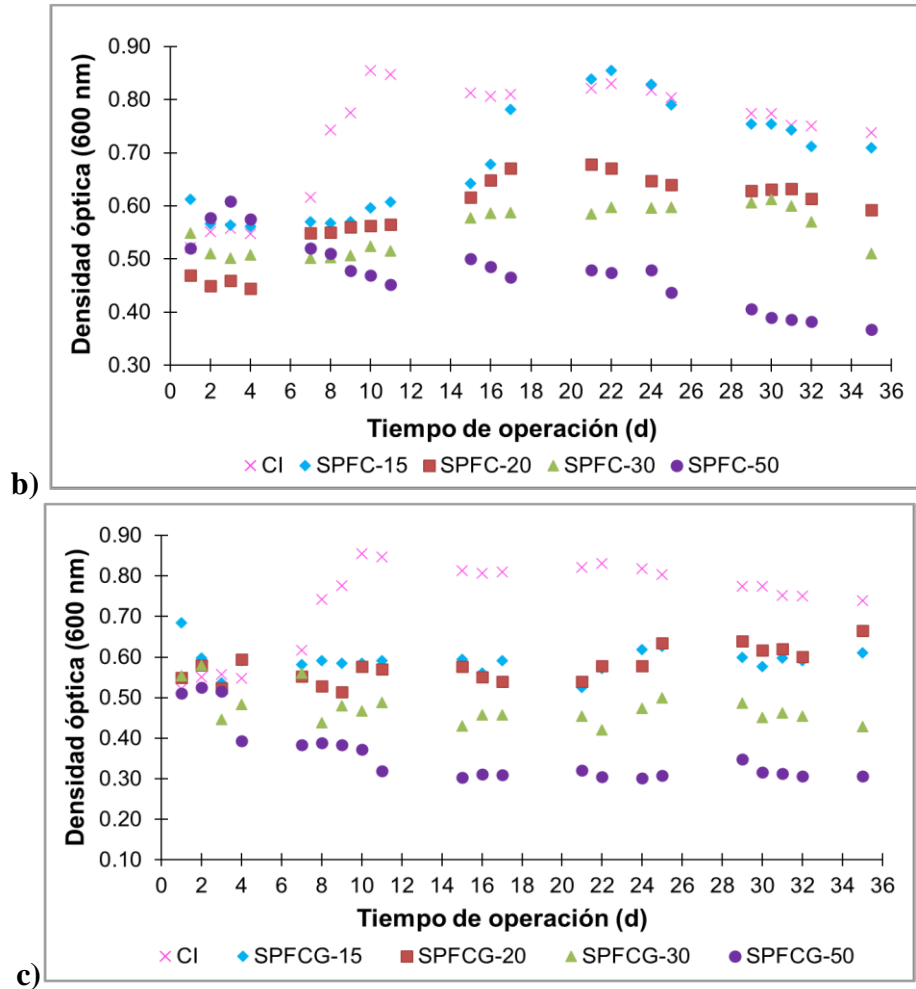


Figura 3-11. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición ($pH=9.5$ y $T=25^{\circ}C$), **a)** CN^- como única fuente de carbono, **b)** $CN^- + C_2H_3NaO_2$ como fuentes de carbono y **c)** $CN^- + C_6H_{12}O_6$ como fuentes de carbono

Posteriormente, se realizó una prueba a $33^{\circ}C$ para determinar si al elevar la temperatura la biomasa crecía de manera diferente entre los medios preparados con cianuro y aquellos adicionados con acetato de sodio. En la **Figura 3-12** se muestran los crecimientos para ambas temperaturas y ambos medios, a pesar de que la biomasa crece en menor cantidad a una temperatura elevada, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos casos.

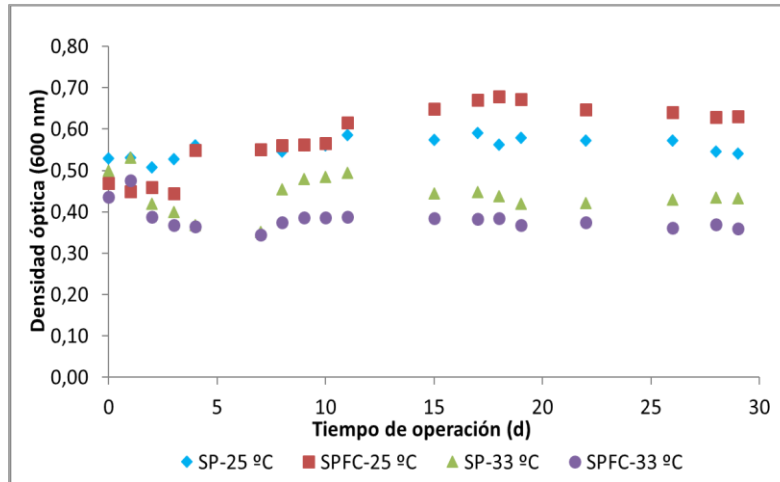


Figura 3-12. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición ($pH=9.5$)

3.2 SORCIÓN DE METALES

3.2.1 Tiempo de equilibrio

Existen relativamente pocos estudios acerca de la adsorción de metales pesados en organismos vivos, como lo son *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Penicillium*, *Aspergillus Rizopus*, *Paecilomyces*, entre otros (Pérez-Bou et al, 2018; Tejada-Tovar et al., 2014), durante el presente trabajo se realizaron pruebas de sorción de los tres metales utilizados (hierro, cobre y níquel) en biomasa inactiva. En la **Figura 3-13** se puede observar cómo desde el primer instante en que entró en contacto la biomasa con los metales, hay una reducción considerable de ellos. Las concentraciones iniciales del cobre, hierro y níquel fueron de 6, 10 y 1.5 $mg \cdot L^{-1}$ respectivamente. La adsorción del hierro se da rápidamente a los 5 minutos y después de 5 min ya no se encuentra disuelto; mientras que, el cobre y níquel muestran una adsorción más lenta, ya que el tiempo de equilibrio se da a los 270 minutos, lo cual es un tiempo mayor a lo reportado por Xu et al. (2011) cuyo tiempo de equilibrio para llevar a cabo la adsorción de cobre en una cepa de *Bacillus sp.* fue de 90 min y por Fernández-Villalón et al. (2018) que lo alcanzó a los 60 min con una cepa de *Kluyveromyces marxianus CCEBI 2011*. Mientras que, para el níquel en lo reportado por Suazo-Madrid et al. (2010) el tiempo de equilibrio fue a las 24 horas, lo cual es 11 veces menor que lo obtenido en el presente estudio.

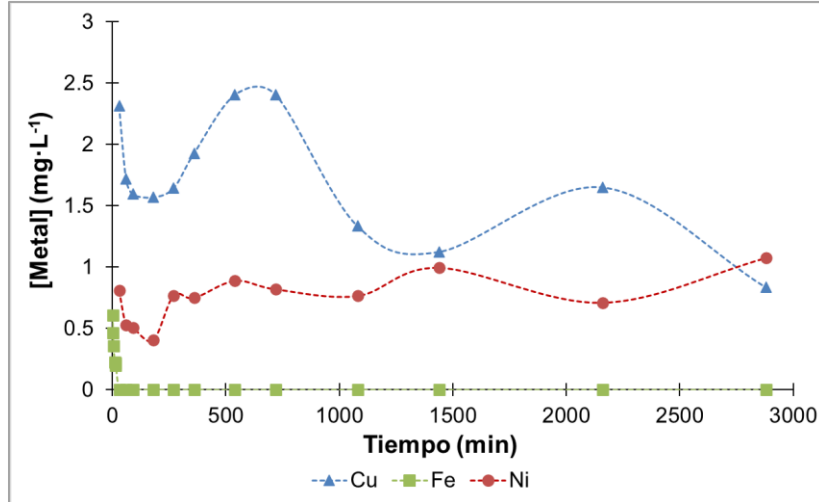
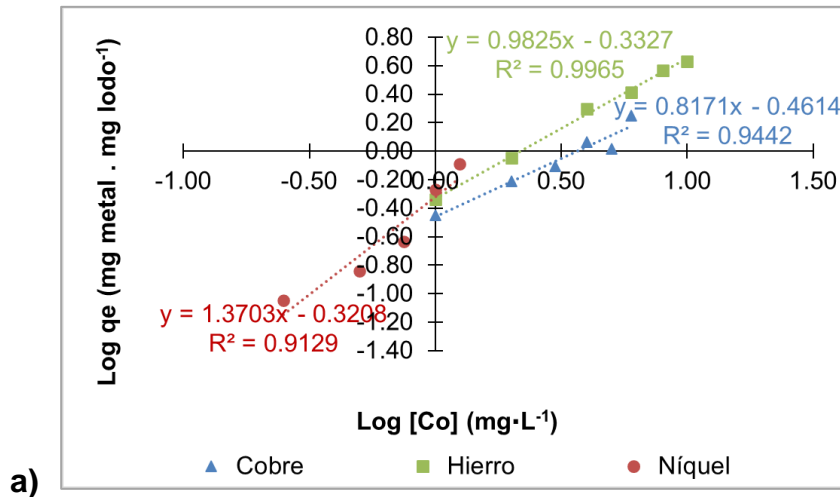
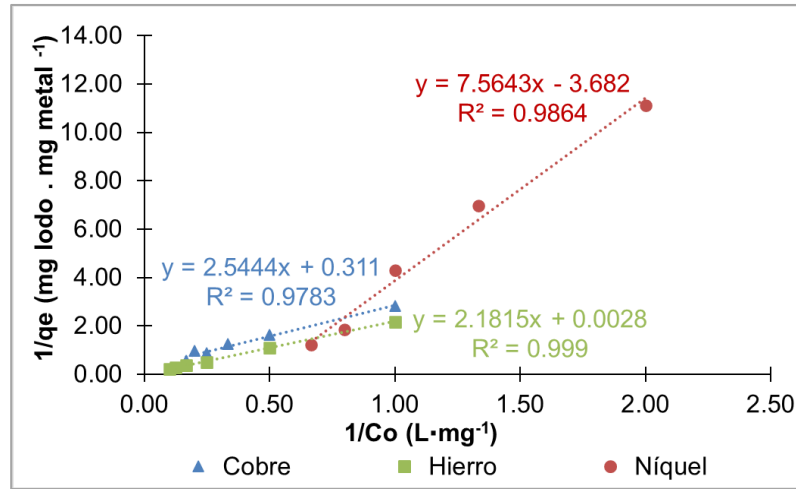


Figura 3-13. Tiempo de equilibrio para metales

3.2.2 Coeficiente de sorción (q_e)

Se realizaron distintos isotermas para determinar el equilibrio entre los metales y la biomasa inactiva, éstos se realizaron teniendo en cuenta los tiempos de equilibrio para cada uno de los metales (**ANEXO X- Tiempo de equilibrio para sorción de metales**) para los modelos cinéticos de Freundlich y Lagmuir (*Figura 3-14*) donde se puede apreciar que todos los datos se ajustaron mejor al modelo de Lagmuir, teniendo coeficientes de correlación R² de 0.978, 0.999 y 0.986 para el Cu, Fe y Ni respectivamente en comparación con las obtenidas por el modelo de Freundlich que son 0.944, 0.996 y 0.913 para Cu, Fe y Ni respectivamente.





b)

Figura 3-14. Aplicación de modelos cinéticos a los coeficientes de sorción: a) Freundlich y b) Lagmuir

La adsorción de los metales depende directamente del pH del medio, a valores por encima de 4.5 unidades se ve favorecido la adsorción de cationes, mientras que los aniones prefieren valores de pH entre 1.5 y 4 unidades (Tejeda-Tovar et al., 2014). En la **Tabla 3-11** se muestran los coeficientes de sorción para los tres metales evaluados y se puede apreciar que el que presentó una mayor afinidad a ser adsorbido por la biomasa es el hierro (91±10%), seguido del níquel (50±34%) y por último el cobre (57±10). Bano et al. (2018) estudiaron la adsorción de cadmio, cobre, hierro, manganeso, palta y zinc con diferentes hongos (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus gracilis*, *Aspergillus penicillioides*, *Aspergillus restrictus* y *Sterigmatomyces halophilus*), donde demostraron que el hierro presenta adsorciones mayores al 64% por todos los hongos, y el cobre entre el 30% y 80% lo cual es similar a lo encontrado en el presente estudio.

Tabla 3-11. Coeficiente de sorción para metales

Cobre			Hierro			Níquel		
[Cu] _i (mg·L ⁻¹)	[Cu] _f (mg·L ⁻¹)	q _e (mgCu· mgbiom ⁻¹)	[Fe] _i (mg·L ⁻¹)	[Fe] _f (mg·L ⁻¹)	q _e (mgCu· mgbiom ⁻¹)	[Ni] _i (mg·L ⁻¹)	[Ni] _f (mg·L ⁻¹)	q _e (mgCu· mgbiom ⁻¹)
1	0.291	0.35	1	0.083	0.46	0.25	0.250	0.00
2	0.766	0.62	2	0.206	0.90	0.5	0.320	0.09
3	1.424	0.79	4	0.034	1.98	0.75	0.463	0.14
4	1.692	1.15	6	0.792	2.60	1	0.535	0.23
5	2.917	1.04	8	0.595	3.70	1.25	0.170	0.54
6	2.444	1.78	10	1.476	4.26	1.5	0.126	0.81

3.3 EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE CIANURO LIBRE Y ACOMPLEJADO (EXPERIMENTOS EN LOTE)

3.3.1 Factores físico-químicos que afectan la biodegradación de cianuro con biomasa suspendida

De la aplicación del diseño central compuesto para estudiar las interacciones entre las variables independientes y para determinar sus niveles óptimos. En las primeras tres columnas de la **Tabla 3-12** se muestra la matriz resultante del diseño experimental para la evaluación de tres factores en la biodegradación de cianuro, cada uno de ellos con tres niveles: pH, 9.5 (-1), 10.5 (0) y 11.5 (+1) unidades; temperatura, 25°C (-1), 30°C (0) y 35°C (+1) y concentración de inóculo 10% (-1), 12.5% (0) y 15% (+1). La cuarta columna, describe el crecimiento promedio de los microorganismos durante toda la operación de los reactores; la quinta columna muestra el rendimiento de sustrato/biomasa; la sexta, el rendimiento de producción de amonio; la séptima columna, la concentración final de amonio; en la octava columna se muestra la concentración final de cianuro (al día 36 de operación); mientras que la novena y última columna contiene la remoción total de cianuro, expresada en porcentaje, los cuales fueron los tomados como variable de respuesta para realizar el análisis de varianza. Los resultados obtenidos de las 27 pruebas realizadas durante 36 días se encuentran en el *ANEXO IX- Parámetros monitoreados en la evaluación de factores en la biodegradación de cianuro.*

Tabla 3-12. Matriz y resultados del diseño experimental 3^3 para la evaluación de los factores físico-químicos que afectan la biodegradación de cianuro (Reactores operados en lote con una concentración inicial de cianuro de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

No.	pH (unidades)	Temperatura (°C)	Inóculo (% v/v)	Biomasa (600 nm)	Rendimiento YBM	Rendimiento YN-NH ⁴⁺	[NH ⁴⁺] _f (mg·L ⁻¹)	[Cianuro libre] _f (mg·L ⁻¹)	Biodegradación de cianuro libre (%)
1	0	0	-1	0.293	0.0083	13.00	575	14.9	61.76
2	0	0	0	0.491	0.0111	14.39	568	15.7	68.35
3	+1	-1	0	0.661	0.0290	14.02	667	17.7	66.60
4	0	+1	+1	0.216	0.0078	14.71	600	14	69.85
5	-1	+1	+1	0.301	0.0057	16.94	564	8.4	80.48
6	0	-1	0	0.511	0.0195	14.45	682	14.8	68.64
7	-1	-1	+1	0.633	0.0106	17.89	760	6.4	84.96
8	-1	-1	-1	0.578	0.0128	17.16	793	8.2	81.52
9	+1	0	+1	0.406	0.0073	13.73	560	16.2	65.20
10	+1	0	-1	0.41	0.0087	10.20	360	14.2	48.44
11	+1	-1	+1	0.578	0.0137	16.23	758	10.7	77.09
12	0	-1	-1	0.543	0.0086	14.10	632	14.8	66.69
13	0	-1	+1	0.398	0.0071	17.02	759	8.5	80.84
14	0	+1	-1	0.186	0.0040	14.25	617	13	67.67
15	+1	0	0	0.394	0.0039	13.32	587	18.2	63.27
16	-1	+1	0	0.240	0.0039	16.52	575	7.5	78.45
17	+1	+1	0	0.448	0.0062	13.82	543	13.6	65.65
18	-1	+1	-1	0.136	0.0007	15.35	720	12.7	72.92
19	+1	-1	-1	0.676	0.0157	11.71	467	15.9	55.64
20	+1	+1	-1	0.308	0.0096	13.91	558	13.5	66.08
21	-1	0	+1	0.408	0.0090	16.19	546	7.8	76.91
22	-1	0	0	0.462	0.0058	16.50	634	9.5	78.39
23	0	0	+1	0.372	0.0022	14.27	522	12.8	67.76
24	-1	-1	0	0.483	0.0127	17.14	756	8.5	81.43
25	0	+1	0	0.278	0.0027	14.36	587	12.3	68.22
26	-1	0	-1	0.277	0.0048	15.29	564	10.1	72.63
27	+1	+1	+1	0.379	0.0036	14.28	541	12.2	67.81

El análisis de varianza (ANOVA) se utilizó para evaluar la importancia de cada variable en el modelo. En la **Tabla 3-13** se muestra que los tres factores estudiados tienen un efecto significativo sobre la concentración final de cianuro, ya que los valores de P son menores al valor de significancia prefijada ($\alpha=0.05$). El valor de la razón-F de 31.22 implica que el modelo es significativo (Mekuto et al., 2015). El coeficiente de determinación R-cuadrada fue de 72.93%, el cual se encuentra por encima del límite recomendado (70%) para llevar a cabo una buena interpretación de la variabilidad presente (Villegas-Mendoza, 2011 y Gutiérrez y Salazar, 2004). Esto significa que los valores estudiados son los responsables de la remoción del cianuro.

Tabla 3-13. Análisis de varianza en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: pH	868.06	1	868.06	31.22	0.0000
B: Temperatura	138.89	1	138.89	4.99	0.0370
C: Inóculo	304.22	1	304.22	10.94	0.0035
AB	96.33	1	96.33	3.46	0.0775
AC	16.33	1	16.33	0.59	0.4524
BC	75.00	1	75.00	2.70	0.1162
Error total	556.13	20	27.81		
Total (corr.)	2,054.96	26			

Con el objeto de visualizar el impacto de cada uno de los factores y sus interacciones en la variable respuesta (porcentaje de remoción de cianuro) se construyó el diagrama de Pareto (**Figura 3-15**). En esta gráfica, tanto los factores como sus interacciones, se encuentran graficados de manera descendente con relación al impacto con que éstos afectan al porcentaje de remoción de cianuro. Adicionalmente, es posible apreciar una línea sobre la gráfica, la cual indica si un efecto es estadísticamente significativo en el nivel de significancia especificado ($\alpha=0.05$). El diagrama de Pareto muestra, al igual que el análisis de varianza, que los tres factores de manera individual tienen un efecto significativo sobre la concentración final de cianuro, ya que cruzan la línea de significancia, sin embargo, sus interacciones no.

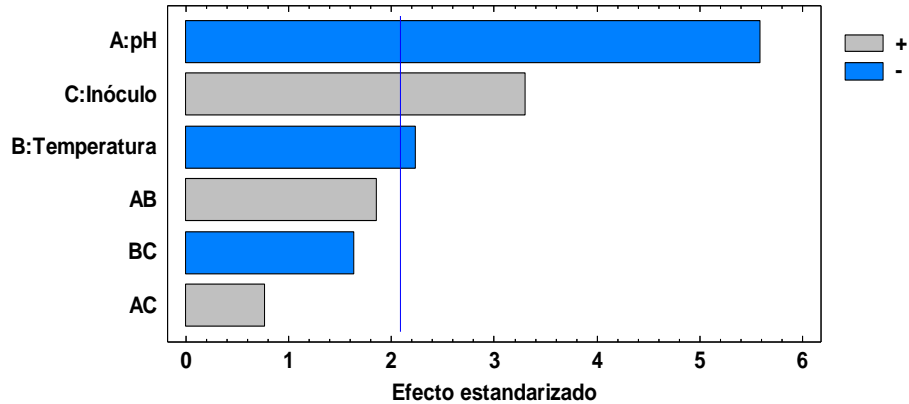


Figura 3-15. Diagrama Estandarizado de Pareto en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%)

La **Figura 3-16** muestra los efectos principales en la remoción de cianuro, se puede observar que tanto para el pH como para el inóculo no se alcanzan los valores óptimos para llevar a cabo la remoción de cianuro, debido a que no es posible variar los valores de pH por debajo de las 9 unidades debido a la volatilización del contaminante, mientras que a pH mayores de 11.5 se dificulta llevar a cabo el crecimiento de los microorganismos. En el caso del inóculo es necesario aumentar la concentración y/o la relación volumen/volumen (%) de los microorganismos con los cuales se inoculan los reactores para poder alcanzar el valor óptimo en la biodegradación de cianuro.

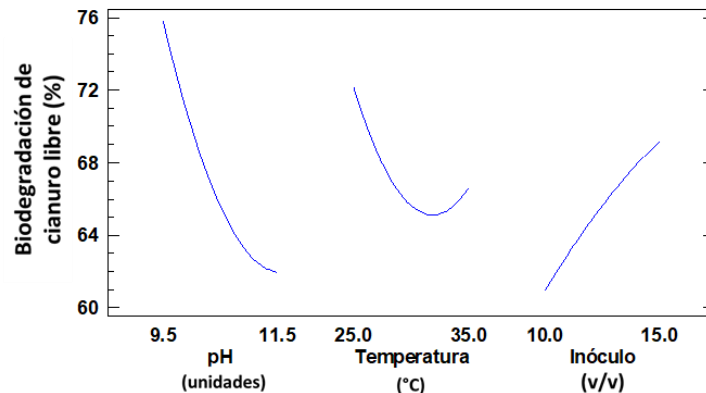


Figura 3-16. Efectos principales en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%)

Adicionalmente, se realizaron tres gráficas de superficie de respuesta (**Figura 3-17**) con objeto de visualizar los valores obtenidos en las tres pruebas realizadas en sus correspondientes niveles. Se puede observar que al trabajar con un pH=10.5 unidades y utilizar un nivel bajo de temperatura y un nivel alto de inóculo se obtienen los mayores porcentajes de remoción (79.35%) (**Figura 3-17, a**). Mientras que al trabajar con una temperatura=30°C, los mayores porcentajes de remoción se obtienen con un nivel bajo de pH y un nivel alto de inóculo (79.85%) (**Figura 3-17, b**) y que al tener una concentración de inóculo=12.5% las mayores remociones se obtienen con niveles bajos de pH y temperatura (82.52%) (**Figura 3-17, c**).

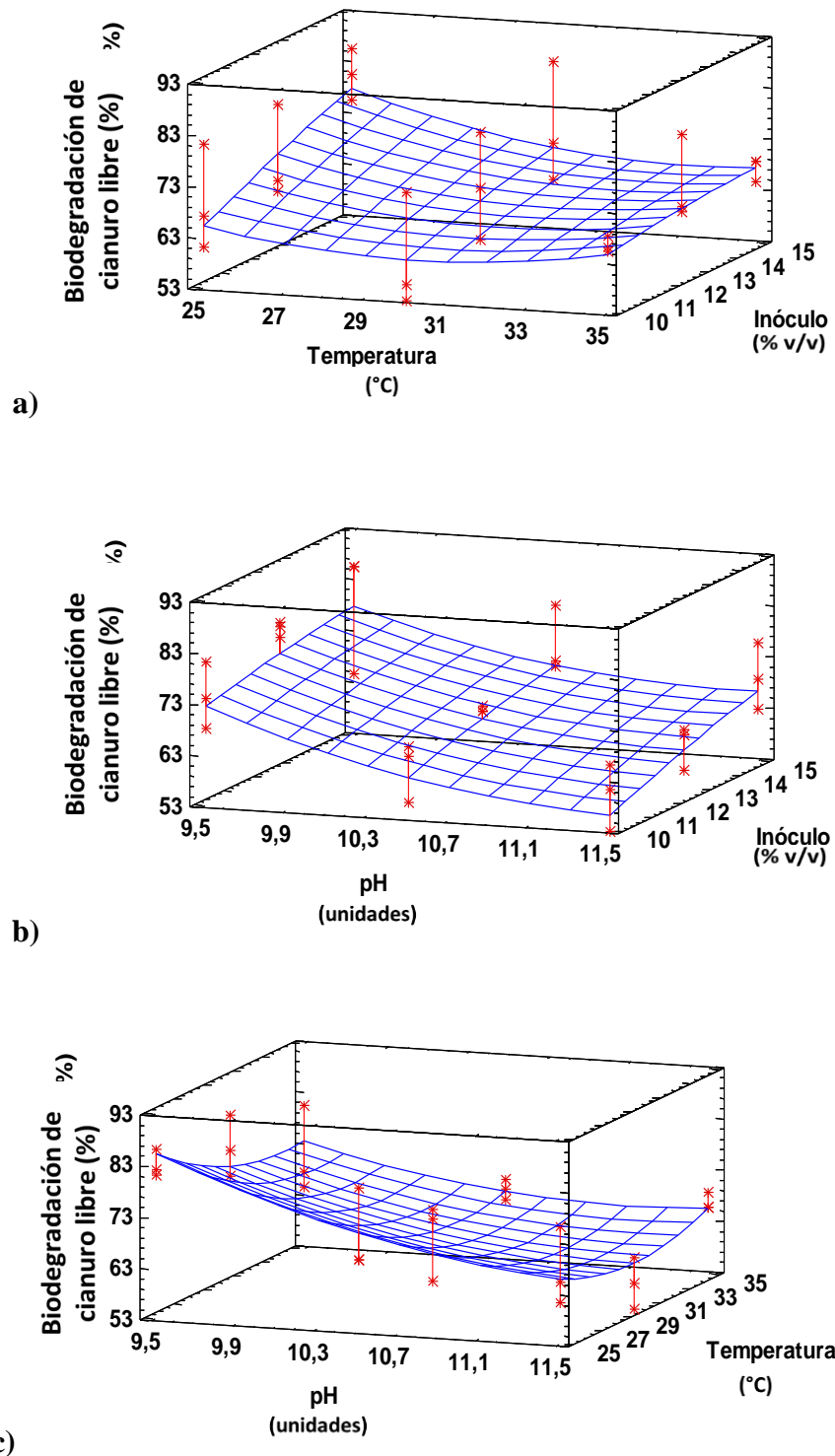


Figura 3-17. Gráfica de superficie de respuesta en la evaluación de factores físico-químicos para la biodegradación de cianuro (%): a) pH (10.5 unidades), b) Temperatura (30 °C) y c) Inóculo (12.5%)

La ecuación de regresión del modelo ajustado es:

$$\begin{aligned} \text{Biodegradación cianuro} &= 303.741 - 29.7778 * \text{pH} - 4.00556 * \text{Temperatura} + 2.74444 \\ &* \text{Inóculo} + 0.566667 * \text{pH} * \text{Temperatura} + 0.466667 * \text{pH} \\ &* \text{Inóculo} - 0.2 * \text{Temperatura} * \text{Inóculo} \end{aligned}$$

Los valores que maximizan la remoción de cianuro (84%) son pH de 9.5 unidades, temperatura de 25 °C y concentración de inóculo del 15% v/v, dando una concentración final de cianuro de 6.39 mg·L⁻¹ y una absorbancia máxima de 0.913 (a 600 nm), esto con una concentración inicial del contaminante de 30 mg·L⁻¹. [Khamar et al. \(2015\)](#) al utilizar una concentración inicial de cianuro de 50 mg·L⁻¹ y un consorcio microbiano, obtuvieron los mayores porcentajes de remoción del contaminante (66.0%) al trabajar con una temperatura de 25°C, un pH de 9.5 y una concentración de inóculo de 2.5% (v/v), en comparación por lo obtenido por [Mekuto et al. \(2015\)](#) donde la temperatura óptima fue de 33.6°C, un pH de 9.88 y una concentración de 1% v/v al utilizar una cepa de *Bacillus genus* obteniendo concentraciones finales de cianuro de 7.5 mg·L⁻¹ (97.0%), y [Wu et al. \(2014\)](#) cuya temperatura óptima fue de 31°C y un pH de 10.3 al utilizar una especie de *Bacillus sp* logrando remociones de cianuro del 96.7% a partir de 200 mg·L⁻¹ de cianuro inicial.

3.3.2 Metales fuertemente acomplejados con cianuro que afectan su biodegradación con biomasa suspendida

En la **Tabla 3-14** se muestra a matriz del diseño experimental creado para la evaluación de tres metales acomplejados con cianuro (tres primeras columnas), en el cual se contó con dos niveles para cada factor: cobre, 0 mg·L⁻¹ (-1), 3 mg·L⁻¹ (0) y 6 mg·L⁻¹ (+1); hierro, 0 mg·L⁻¹ (-1), 5 mg·L⁻¹ (0) y 10 mg·L⁻¹ (+1); y níquel, 0 mg·L⁻¹ (-1), 0.75 mg·L⁻¹ (0) y 1.75 mg·L⁻¹ (+1). En la cuarta columna se muestra el crecimiento de la biomasa medida como densidad óptica a 600 nm; en la quinta y sexta columnas, los rendimientos de biomasa y producción de amonio respectivamente; en la séptima columna la concentración final de amonio; en la octava, la concentración final de cianuro y en la novena columna, la remoción total de cianuro. Los datos resultantes de los 27 experimentos monitoreados durante 35 días, se encuentran en el **ANEXO XI- Parámetros monitoreados en la evaluación del acomplejamiento de metales con cianuro para su biodegradación.**

Tabla 3-14. Matriz y resultados del diseño experimental 3^3 para la evaluación del acomplejamiento de metales con cianuro (Reactores operados en lote con una concentración inicial de cianuro de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

No.	Cobre ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Hierro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Níquel ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Biomasa (600 nm)	Rendimiento YBM	Rendimiento YN-NH ⁴⁺	[NH ⁴⁺] _r ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	[Cianuro total] _r ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Biodegradación de cianuro total (%)
1	-1	0	0	0.960	0.02	17.67	532	3.57	89.90
2	-1	-1	+1	0.862	0.00	24.72	668	5.76	82.60
3	-1	-1	0	0.850	0.01	24.48	644	8.91	77.59
4	-1	+1	0	1.094	0.02	14.81	460	1.06	97.03
5	+1	0	0	1.146	0.06	26.25	456	5.21	78.92
6	0	0	-1	1.198	0.02	22.79	559	4.65	86.08
7	-1	+1	-1	1.012	0.03	21.45	590	3.58	90.17
8	+1	+1	+1	0.945	0.05	39.81	496	7.01	68.80
9	0	0	+1	1.009	0.03	24.11	469	6.18	75.87
10	-1	-1	-1	0.668	0.03	9.54	302	10.70	77.01
11	0	-1	0	0.761	0.02	17.13	349	8.97	63.03
12	0	+1	0	1.084	0.04	21.03	488	4.30	84.37
13	+1	0	-1	0.902	0.06	26.88	454	5.14	76.65
14	0	-1	-1	0.848	0.02	22.27	441	8.71	69.45
15	+1	-1	+1	0.884	0.03	24.04	558	7.80	74.85
16	0	-1	+1	0.936	0.04	25.97	491	7.90	70.53
17	0	0	0	1.068	0.02	20.58	510	5.43	82.03
18	+1	-1	0	0.787	0.06	32.42	451	10.70	56.75
19	-1	+1	+1	1.060	0.04	26.24	556	4.87	78.43
20	0	+1	+1	0.926	0.06	26.27	436	4.83	77.44
21	+1	+1	0	1.102	0.06	36.70	516	5.25	72.81
22	0	+1	-1	1.057	0.05	31.13	462	5.47	73.07
23	-1	0	-1	0.911	0.03	24.84	507	4.10	83.27
24	+1	+1	-1	1.148	0.03	26.09	439	5.72	73.37
25	+1	-1	-1	0.871	0.04	25.00	408	9.48	63.26
26	+1	0	+1	0.860	0.04	17.96	405	8.96	71.56
27	-1	0	+1	0.994	0.04	27.71	549	5.10	79.53

La **Tabla 3-15** muestra el análisis de varianza de los resultados obtenidos para la evaluación de la remoción de cianuro al encontrarse acompañado con metales, en ésta se muestra que el cobre y hierro son los factores que tienen un efecto significativo sobre la concentración final de cianuro, ya que los valores de P son menores al valor de significancia prefijada ($\alpha=0.05$). El coeficiente de determinación R-cuadrada fue de 63.88%, el cual se encuentra por debajo del límite recomendado (70%) lo cual puede atribuirse a la existencia de otros factores que están influenciando el modelo, como podría ser la interacción entre ellos mismos.

Tabla 3-15. Análisis de varianza en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acompañado con metales

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Cobre	813.39	1	813.39	21.07	0.0002
B: Hierro	382.72	1	382.72	9.91	0.0051
C: Níquel	5.56	1	5.56	0.14	0.7084
AB	40.33	1	40.33	1.04	0.3189
AC	3.00	1	3.00	0.08	0.7833
BC	120.33	1	120.33	3.12	0.0927
Error total	772.07	20	38.60		
Total (corr.)	2,137.41	26			

El diagrama de Pareto (**Figura 3-18**) es la representación gráfica del análisis de varianza en el cual se muestra que, de los metales estudiados, el cobre es el que tiene una mayor influencia en la degradación biológica de cianuro, ya que presenta un efecto inhibitorio para llevar a cabo la remoción del contaminante; mientras que el hierro presenta efectos estadísticamente significativos en su remoción y se ve beneficiado al trabajar con valores de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Por otra parte, no se presentó un efecto estadísticamente significativo al trabajar con el níquel ($0, 0.75$ y $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) ni entre interacciones de los tres metales.

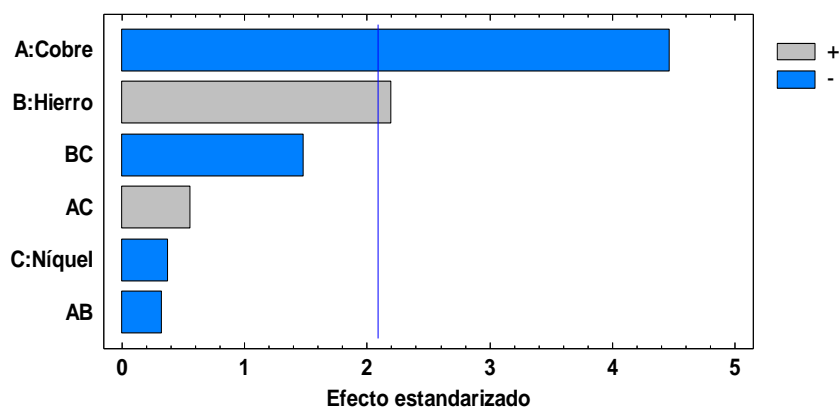


Figura 3-18. Diagrama estandarizado de Pareto en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acompañado con metales

Tal y como se mencionó anteriormente, el cobre muestra un efecto inhibitorio en la remoción de cianuro por parte de los microorganismos cuando se encuentra acompañado con el contaminante, motivo por el cual no se pudo obtener su valor óptimo, y como se puede apreciar en la **Figura 3-19** el cobre tiene una tendencia a ser menor a cero, lo cual no es experimentalmente posible. Por otra parte, se lograron obtener los valores óptimos para llevar a cabo la remoción de cianuro acompañado con hierro y níquel, siendo éstos de 7.7 y 0.46 mg·L⁻¹ respectivamente.

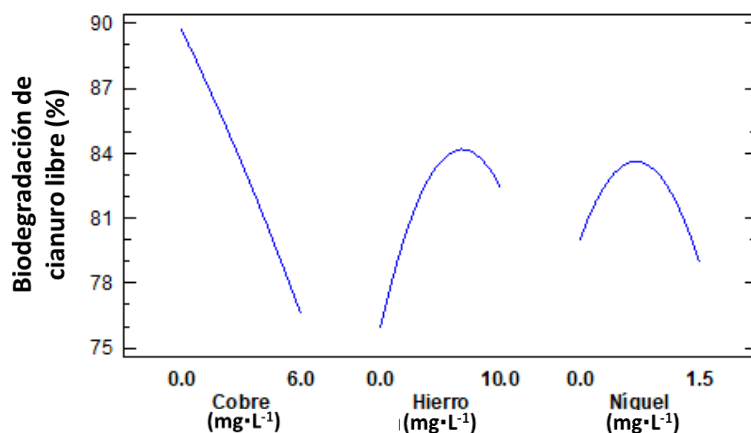


Figura 3-19. Efectos principales en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acompañado con metales

Las gráficas de superficie de respuesta (**Figura 3-20**) muestran que al trabajar con una concentración de 3 mg·L⁻¹ de cobre, las mejores remociones de cianuro se presentan a valores altos de hierro y el níquel no muestra un efecto significativo (**Figura 3-20,a**); por otra parte, al trabajar con una concentración de Hierro de 5 mg·L⁻¹ (**Figura 3-20, b**), el níquel tampoco muestra un efecto significativo, sin embargo, la remoción de cianuro se ve favorecida, en un 20%, con valores bajos de cobre (0 mg·L⁻¹); mientras que al trabajar con 0.75 mg·L⁻¹ de níquel (**Figura 3-20, c**), la remoción de cianuro es mayor con valores bajos de cobre y altos de hierro.

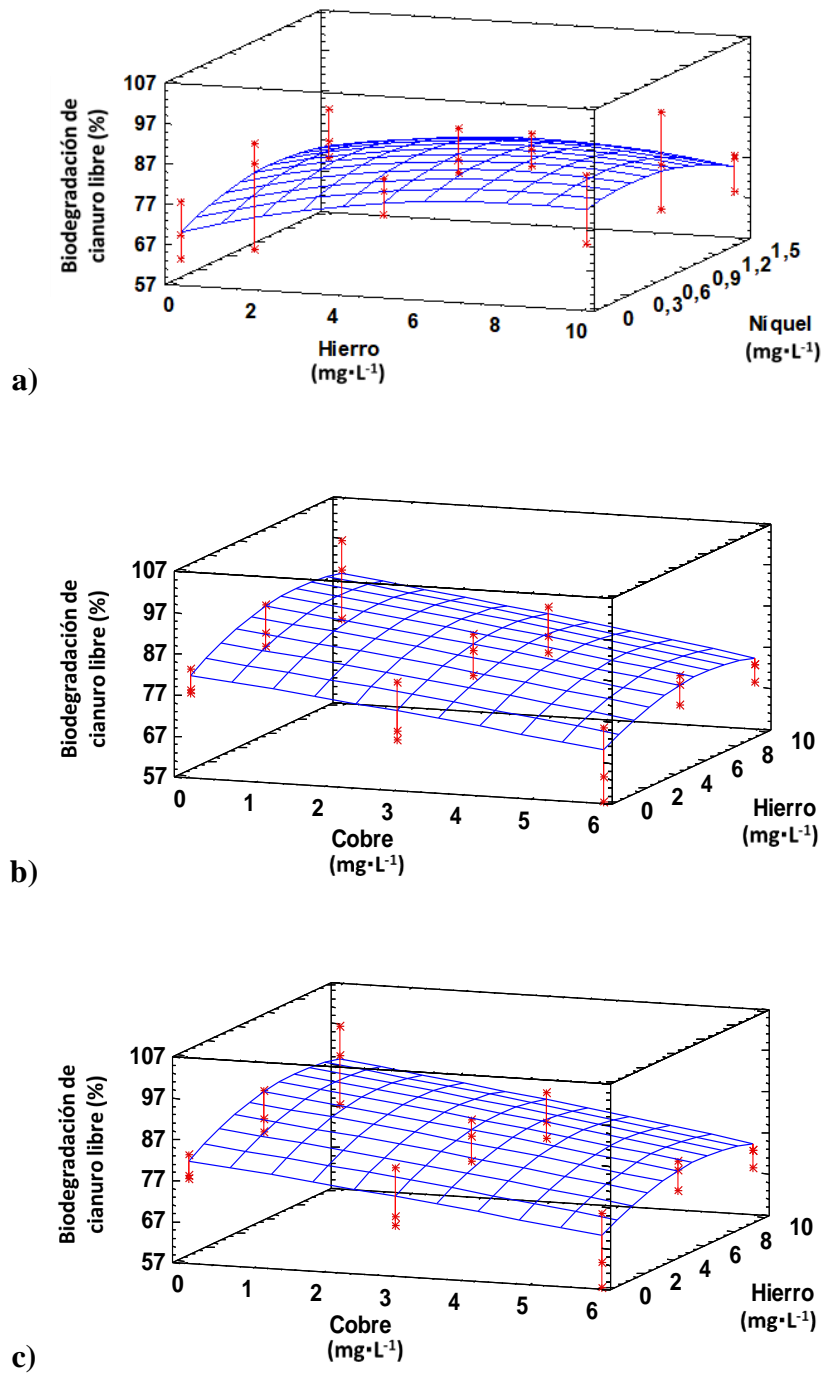


Figura 3-20. Gráfica de superficie de respuesta (estimada) en la evaluación de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acompañado con metales: a) Cobre (3 mg·L⁻¹), b) Hierro (5 mg·L⁻¹) y c) Níquel (0.75 mg·L⁻¹)

La ecuación de regresión del modelo ajustado es:

$$\begin{aligned} \text{Biodegradación cianuro} &= 73.3148 - 1.46296 * \text{Cobre} + 1.9222 * \text{Hierro} + 4.14815 * \text{Níquel} \\ &- 0.122222 * \text{Cobre} * \text{Hierro} - 0.22222 * \text{Cobre} * \text{Níquel} - 0.84444 \\ &* \text{Hierro} * \text{Níquel} \end{aligned}$$

Las concentraciones iniciales de metales con los cuales se obtuvo una mayor remoción de cianuro (91%) al día 36 de operación con una concentración inicial del contaminante de 30 mg·L⁻¹ son cobre de 0 mg·L⁻¹, de hierro de 10 mg·L⁻¹ y níquel de 0 mg·L⁻¹, mostrando que el cobre tiene un efecto inhibitorio en la biomasa contenida en los reactores, mientras que el hierro en mayores concentraciones causa un efecto positivo en la biodegradación de cianuro. El máximo crecimiento de biomasa bajo las condiciones de operación anteriormente mencionadas fue de 1.500 Abs (a 600 nm). Podemos observar que la biodegradación de cianuro no se ve afectada por la capacidad de la biomasa para llevar a cabo la adsorción de los metales, puesto que a pesar de que el cobre es el metal que mostró un mayor efecto inhibitorio en la biodegradación del contaminante fue el que presentó una menor adsorción en la biomasa, tal y como se demostró en las pruebas de sorción.; en comparación con el hierro cuya afinidad para ser adsorbido fue la mayor de los tres metales, sin embargo, al trabajar con elevados concentración de dicho metal la biodegradación del cianuro es más efectiva.

3.3.3 Metales fuertemente acomplejados con cianuro que afectan su biodegradación con biomasa inmovilizada

El pH de operación se mantuvo en 9.49±0.13 en el reactor con biomasa suspendida, en 9.47±0.11 en el reactor empacado con los Kaldnes y de 9.50±0.12 en el que contenía cubos de poliuretano. Mientras que, la temperatura promedio fue de 30±2, 30±2 y 31±3 respectivamente. La **Tabla 3-16** muestra las constantes de velocidad de biodegradación de cianuro para diferentes modelos cinéticos, los cuales son de orden cero, primer orden, segundo orden y Monod; es posible apreciar que los resultados durante este experimento se ajustan de una manera más adecuada al modelo de Monod, tomando en cuenta el coeficiente de linealidad R-cuadrado.

Tabla 3-16. Constantes de velocidades de biodegradación de cianuro por diferentes modelos cinéticos

Reactor	BS	BK1	BCP
Orden cero (mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	K ₀ =0.4976 R ² =0.78	K ₀ =0.4333 R ² =0.68	K ₀ =0.3819 R ² =0.59
Primer orden (d ⁻¹)	K ₁ =0.0508 R ² =0.89	K ₁ =0.0512 R ² =0.86	K ₁ =0.0467 R ² =0.81
Segundo orden (d ⁻¹)	K ₂ =0.0064 R ² =0.91	K ₂ =0.0078 R ² =0.90	K ₂ =0.0076 R ² =0.90
Monod			
μ _{max} (d ⁻¹)	0.41 R ² =0.92	0.32 R ² =0.91	0.43 R ² =0.92
K _s (mg·L ⁻¹)	15.01	11.47	10.68

En la **Figura 3-21** se puede observar que al utilizar tanto la biomasa suspendida como la biomasa inmovilizada con ambos soportes se cumple con los 3 mg L^{-1} de cianuro total establecidos para agua de riego en la normatividad mexicana, logrando remociones del 90%. Además, a pesar de que la remoción de cianuro es similar en los tres reactores, el crecimiento de biomasa y su rendimiento se ve favorecido en aquellos que cuentan con la implementación de soportes, siendo éstos de $1,685 \text{ mg SST} \cdot \text{L}^{-1}$ en el BS en comparación con $2,900 \text{ mg SST} \cdot \text{L}^{-1}$ en el BK y $2,777 \text{ mg SST} \cdot \text{L}^{-1}$ en el BCP.

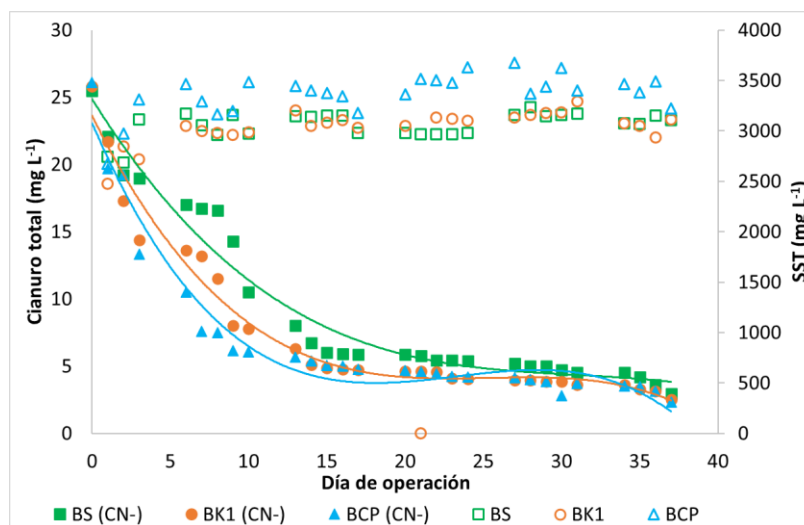


Figura 3-21. Biodegradación de cianuro total y masa seca en reactores en lote

A pesar de que la biodegradación de cianuro es similar en los tres reactores, el rendimiento se ve favorecido seis veces más en el BCP, seguido de 4 veces más en el BK1 en comparación con el BS, lo cual se atribuye a la elevada área superficial contenida en el BCP ($700 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$) (Tabla 3-17), al igual que la velocidad máxima de crecimiento específico donde se ve favorecido el reactor BCP, seguido del BK1 y por último el BS. Adicionalmente, al encontrar la producción de amonio mientras que biodegradaba el cianuro, se puede deducir que la vía de degradación es oxidativa (Dash et al., 2009; Park et al., 2017) y se ve favorecida al trabajar con el BCP, seguida del BK1 y por último el BS.

Tabla 3-17. Parámetros monitoreados al encontrarse inmovilizada la biomasa

Reactor	BS	BK1	BCP
Área superficial del soporte ($\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$)	0	500	700
Biomasa (600 nm)	1.48 ± 0.03	1.64 ± 0.04	1.78 ± 0.08
SST ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$3,058 \pm 56$	$3,327 \pm 76$	$3,453 \pm 132$
$[\text{NH}_4^+]_f$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	15.60	16.12	16.47
$[\text{Cianuro libre}]_f$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	2.97	2.51	2.31
Biodegradación de cianuro (%)	88.4	90.3	91.2

Reactor	BS	BK1	BCP
Y_{BM} (mg células · mg sustrato consumido ⁻¹)	3.08	18.03	21.65
$Y_{N-NH_4^+}$ (mg producto formado · mg sustrato consumido ⁻¹)	0.69	0.71	0.73

Al realizar una comparación de medias con el software Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06 para evaluar la biodegradación de cianuro entre los diferentes reactores, se obtuvo que no se tiene una diferencia estadísticamente significativa entre ellos, puesto que los valores-P de la razón-F son mayores que 0.05 siendo la Razon-F de 1.28 y el Valor-P de 0.2823 con un nivel del 95% de confianza. Por otra parte, se analizaron una vez por semana los metales disueltos en cada uno de los reactores, sin embargo, es importante tener en cuenta que los metales también se encuentran presentes adsorbidos en la biomasa. La concentración de los metales en la **Tabla 3-18**. Para el caso del cobre los valores promedio fueron de 0.373 ± 0.034 , 0.381 ± 0.039 y 0.394 ± 0.039 mg·L⁻¹ en BS, BK y BCP respectivamente; para el níquel éstos promedio fueron de 0.212 ± 0.024 , 0.266 ± 0.011 y 0.143 ± 0.062 mg·L⁻¹ para los reactores BS, BK y BCP respectivamente; y para el hierro de 2.004 ± 0.533 , 1.707 ± 0.658 y 1.152 ± 0.550 mg·L⁻¹ para BS, BK y BCP respectivamente.

Tabla 3-18. Metales disueltos en reactores en lote

Día de operación	Cobre (mg·L ⁻¹) [Cu] _i =0.5 mg·L ⁻¹			Hierro (mg·L ⁻¹) [Fe] _i =7.7 mg·L ⁻¹			Níquel (mg·L ⁻¹) [Ni] _i =0.46 mg·L ⁻¹		
	BS	BK1	BCP	BS	BK1	BCP	BS	BK	BCP
1	0	0	0	0.312	0.272	0.208	0.253	0.265	0.183
7	0.313	0.324	0.324	0.273	0.182	0.093	1.033	1.118	0.088
14	0.402	0.381	0.438	0.270	0.192	0.174	2.004	2.227	1.088
21	0.431	0.428	0.406	0.273	0.234	0.178	1.181	2.713	1.514
28	0.384	0.381	0.412	0.245	0.200	0.189	1.198	2.124	1.586
35	0.38	0.368	0.404	0.265	0.233	0.040	2.624	2.087	1.317
40	0.374	0.358	0.381	0.269	0.232	0.185	2.202	1.755	1.317
Promedio (Remoción,%)	0.326 ± 0.15 (35±30)	0.320 ± 0.14 (36±29)	0.338 ± 0.15 (32±30)	0.272 ± 0.02 (41±4)	0.221 ± 0.03 (52±7)	0.152 ± 0.06 (67±13)	1.499 ± 0.81 (81±11)	1.756 ± 0.81 (77±11)	1.013 ± 0.62 (87±8)

Se generó una comparación de medias con el software Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06 para evaluar la remoción de metales entre los diferentes reactores. Puesto que los valores-P de la razón-F (**Tabla 3-19**) son mayores que 0.05 en el caso del cobre y el hierro se concluyó que no existe una diferencia estadísticamente significativa en la remoción de cada uno de los metales con un nivel del 95% de confianza. Mientras que, la remoción de níquel entre cada reactor fue estadísticamente significativa debido a que el valor-P de la razón-F fue menor a 0.05.

Tabla 3-19. Resultados del análisis de varianza (relación *F* y valor *P*) en la remoción de metales en sistemas en lote

Metal	Razón-F	Razón-P
Cobre	0.03	0.9744
Hierro	1.74	0.2041
Níquel	14.72	0.0002

Karamba et al. (2014) estudiaron la degradación de cianuro utilizando 1 mg L^{-1} de los metales plata, arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre, mercurio, níquel, plomo y zinc, sin embargo, no adicionaron hierro como en el presente estudio. Es posible observar que la concentración de cobre y níquel utilizada por dichos autores es mayor a lo utilizado para los mismos metales durante esta etapa experimental (0.5 y 0.46 respectivamente). Los resultados obtenidos por Karamba et al. (2017) mostraron que la *Serratia marcescens* al encontrarse suspendida logró degradar un 87-88% ($17 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cianuro), mientras que al inmovilizarse la *Serratia marcescens* en perlas de gel, la remoción incrementó a 98%, esto al encontrarse en presencia de plata, arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre, níquel, plomo y zinc. En este caso se utilizó una fuente adicional de carbono (glucosa) y se trabajó a un pH ácido (6 unidades).

Por otra parte, Akinpelu et al. (2016) y Gurbuz et al. (2009) realizaron estudios sobre la degradación de cianuro acomplejado con metales, cabe destacar que ambos trabajaron en condiciones alcalinas (11 y 10 unidades respectivamente) y a una temperatura de 22-25 °C. Akinpelu et al. (2016) utilizaron un hongo (*Fusarium oxysporum*) y una concentración inicial de cianuro de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que los metales analizados en este caso fueron el arsénico ($7.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), hierro ($4.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), cobre ($8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y plomo y zinc ($0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); la concentración de hierro fue menor a la utilizada en el presente estudio y la de cobre mayor, sin embargo, no se estudió al níquel. Los resultados mostraron remociones del 77% dando concentraciones finales de cianuro de $13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, lo cual es mayor a lo obtenido en el presente estudio. Mientras que, en el estudio realizado por Gurbuz et al. (2009) no se obtuvo remoción alguna al encontrarse acomplejado el cianuro ($77 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) con $0.65 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cobre (concentración ligeramente mayor a la trabajada en el presente estudio), mientras que al trabajar con una concentración inicial de hierro de $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, la remoción fue de 63%.

3.4 EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE CIANURO LIBRE Y ACOMPLEJADO (EXPERIMENTOS EN CONTINUO)

Se realizó la caracterización del relave minero utilizado, el cual se obtuvo de la mina Don David Gold, Oaxaca. Los resultados pueden observarse en la **Tabla 3-20**, el metal con una concentración mayor es el hierro seguido de cobre y níquel, los cuales se caracterizan por formar complejos fuertes al encontrarse en presencia de cianuro.

Tabla 3-20. Caracterización del relave minero proveniente de la mina Don David Gold, Oaxaca

Parámetro	Concentración (mg·L ⁻¹)
Físicos	
Color aparente (UPt-Co)	1465.0
Color verdadero (UPt-Co)	980.0
Conductividad (mS·cm ⁻¹)	43.5
pH (unidades)	8.5
SDT	840.0
SS	10.5
SST	350.0
SSV	220.0
Turbiedad (NTU)	580.0
Químicos	
Alcalinidad	540.0
Cianuro total	15.0
DQO	4,500.0
Dureza (CaCO ₃)	1,100.0
Nitratos	105.0
Nitritos	45.0
Nitrógeno total	190.0
Sulfatos	3,800.0
Metales	
Hierro	10.835
Cadmio	0.044
Cobre	3.720
Cromo	0.019
Níquel	0.210
Plomo	0.039
Zinc	0.369

Al realizar las pruebas de inhibición con relave minero (proveniente de la mina Don, David Gold, Oaxaca) en diferentes concentraciones al medio de cultivo sólido (TSA), se observó un completo crecimiento en todas las cajas Petri. En la **Figura 3-22**, se muestran dos ejemplos de ellos, en la parte superior el blanco (medio sin inocular para cada una de las diluciones) y en la parte inferior el medio inculado, tanto para la menor concentración de relave (10%) como para la mayor (100%). Demostrando así que, al tener un medio enriquecido para las bacterias, la presencia del relave no afecta en su crecimiento.

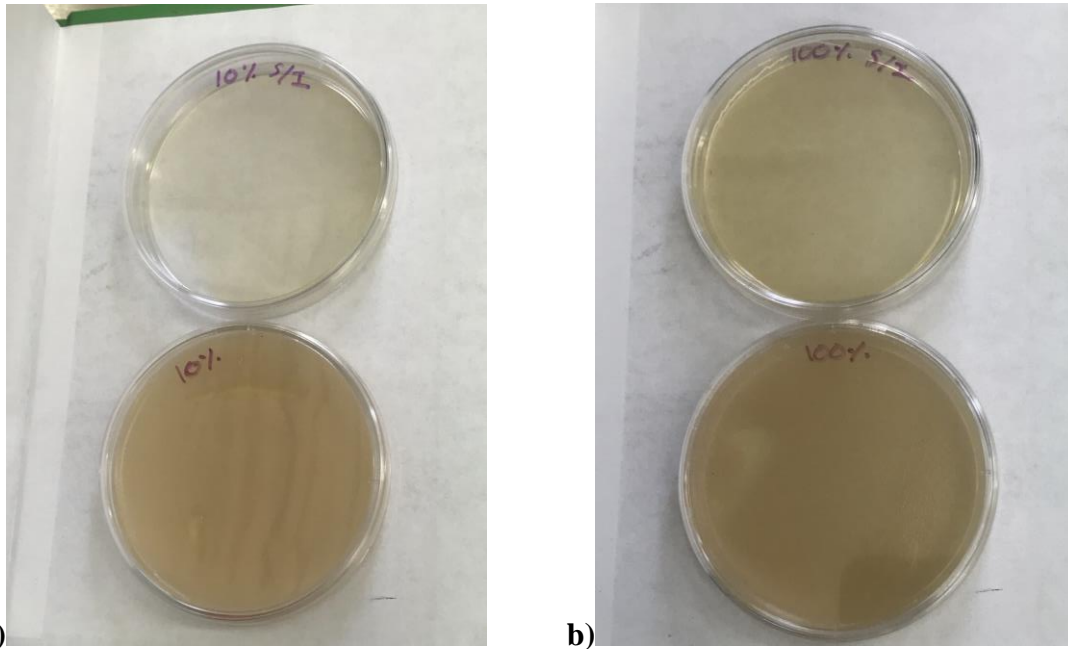


Figura 3-22. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición con una relación relave: agua: a) 10:90 y b) 100:0

Por otra parte, al medir la absorbancia a los medios de cultivo líquidos, fue posible apreciar el efecto inhibitorio que causa el relave minero sobre el crecimiento de bacterias, siendo más notorio para los tres medios al contar con relaciones de relave: medio mayores a 60:40. La **Figura 3-23** muestra los resultados para dichas pruebas, al igual que en el caso de los medios de cultivo sólidos, las bacterias crecieron en mayor medida en el caldo peptonado (CP), el cual favorece su reproducción por sus componentes mismos. Sin embargo, se puede apreciar que la diferencia en el crecimiento de bacterias entre las diluciones realizadas con el medio mineral (MM) y el relave minero, no es significativo, por lo cual, se considera que para los experimentos en continuo es factible realizar la dilución de relave con agua hasta alcanzar un máximo de relave del 60%.

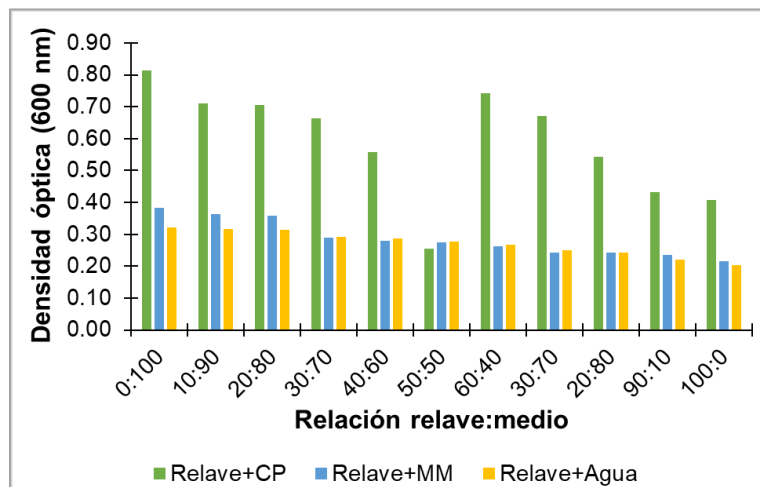


Figura 3-23 Absorbancia (600 nm) de las pruebas de inhibición en medio líquido con relave minero

Durante las tres etapas experimentales, las diluciones del relave minero se variaron para trabajar con las concentraciones deseadas de cianuro total basadas en las pruebas de inhibición anteriormente mencionadas. La primera de ellas, del día 0 al 39 con una concentración inicial de cianuro total de $26 \pm 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; en la segunda, del día 40 al 113 de $40 \pm 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y la tercera, del día 114 al 141 de $55 \pm 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

El comportamiento del pH en cada uno de los reactores se muestra en la **Figura 3-24**, puede observarse que estos valores se mantuvieron constantes durante toda la operación. Para la primera etapa fueron de 9.50 ± 0.35 , 9.32 ± 0.35 , 9.40 ± 0.50 y 9.13 ± 0.88 unidades para el influente, el BS, el BK y el BCP respectivamente; para la segunda etapa fueron para el influente de 9.45 ± 0.27 , para el BS de 9.56 ± 0.17 , para el BK de 9.34 ± 0.24 y para el BCP de 9.41 ± 0.14 unidades; mientras que para la tercera etapa fueron de 9.39 ± 0.26 , 9.74 ± 0.12 , 9.21 ± 0.31 y 9.22 ± 0.38 unidades para el influente, el BS, el BK y el BCP respectivamente, lo que evita que se lleve a cabo la volatilización del cianuro libre. Sin embargo, éste tuvo que monitorearse de manera diaria ya que tendía a disminuir, lo cual se atribuye a la liberación de aniones producto de las biotransformaciones del cianuro (Moreno-Casco y Moral-Herrero, 2007).

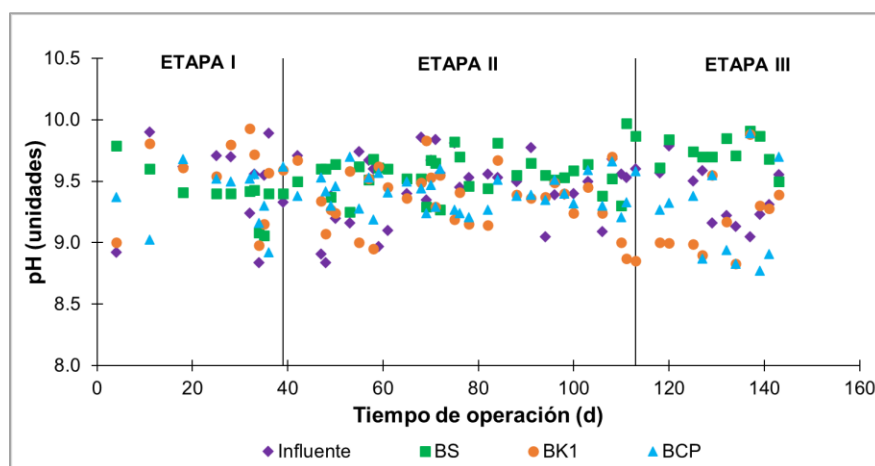


Figura 3-24. Comportamiento del pH en reactores en continuo

La temperatura de operación se encontró en los siguientes intervalos para el influente de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, para el influente de $23 \pm 3^\circ\text{C}$, para el BK1 de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y para el BCP de $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Puede observarse (**Figura 3-25**) que la temperatura no tiene un cambio significativo entre el influente y cada uno de los reactores. Por otra parte, durante los primeros días de operación fue mayor que al final de éstos, lo cual se atribuyó a los meses operados de junio a noviembre; sin embargo, estos cambios no mostraron un efecto en el tratamiento y fueron consideradas como adecuadas para dar un tratamiento biológico a los relaves mineros.

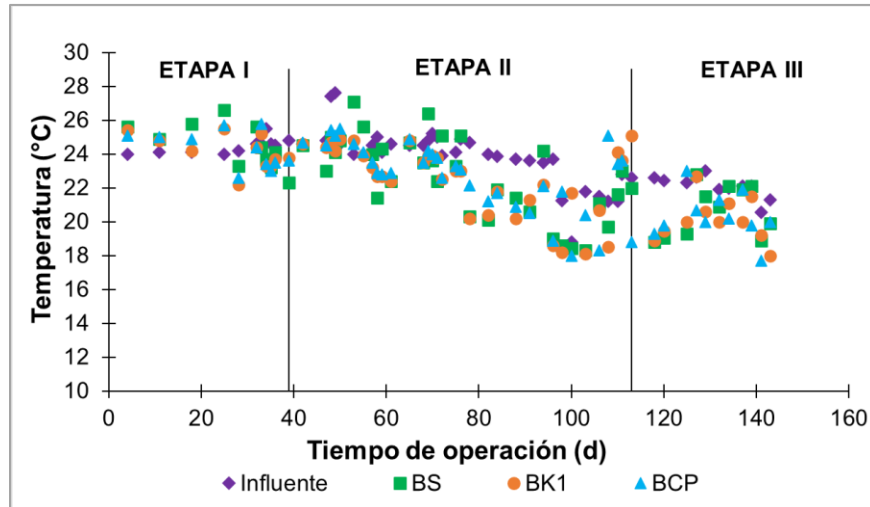


Figura 3-25. Comportamiento de la temperatura en reactores en continuo

La **Figura 3-26** muestra los resultados para el color aparente. Los valores en el influente fluctuaron de 408 a 586 U Pt-Co. Para la primera etapa, en el reactor BS tuvo una remoción del $3\pm 6\%$ (575 ± 101 U Pt-Co), en el BK de $40\pm 15\%$ (276 ± 68 U Pt-Co) y en el BCP de $6\pm 12\%$ (535 ± 68 U Pt-Co). Para la segunda etapa, las remociones aumentaron en los tres reactores, éstas fueron de $58\pm 21\%$ (219 ± 104 U Pt-Co), de $59\pm 11\%$ (216 ± 58 U Pt-Co) y de $30\pm 17\%$ (369 ± 89 U Pt-Co) para el BS, BK y BCP respectivamente. Mientras que, en la tercera etapa, las remociones de color aparente se vieron favorecidas en los tres reactores, siendo de $69\pm 12\%$ (139 ± 25 U Pt-Co) para el BS, de $64\pm 10\%$ (160 ± 25 U Pt-Co) para el BK y de $49\pm 26\%$ (224 ± 73 U Pt-Co).

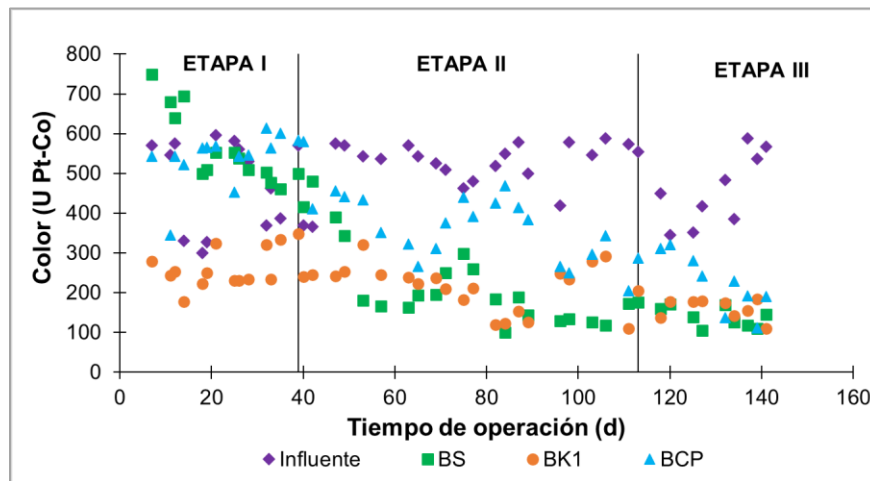


Figura 3-26. Comportamiento del color aparente en reactores en continuo

Durante los primeros 35 días de operación, la turbiedad en el influente fue de 225 ± 45 NTU, mientras que en los reactores BS, BK1 y BCP fue de 27 ± 3 NTU ($85\pm 2\%$), 47 ± 8 NTU ($74\pm 5\%$) y 110 ± 17 NTU ($40\pm 9\%$) respectivamente (**Figura 3-27**). Posteriormente y hasta el día 113, la turbiedad en los efluentes de los reactores BS, BK1 y BCP fueron de 24 ± 5 NTU ($87\pm 3\%$), 42 ± 8 NTU ($77\pm 5\%$) y 81 ± 18 NTU ($56\pm 10\%$) respectivamente. Durante los últimos días de operación, la turbiedad se mantuvo sin cambios significativos comparados con las

primeras dos etapas, para el BS con valores de 17 ± 4 NTU ($91 \pm 2\%$), para el BK con 46 ± 6 NTU ($75 \pm 3\%$) y para el BCP con 74 ± 6 NTU ($60 \pm 3\%$). La variación de la turbiedad en los reactores se atribuye al desprendimiento de los microorganismos de los medios de empaque y su posterior arrastre, por dicha razón se ve disminuida en el reactor empacado con cubos de poliuretano pues presentan una mayor concentración de SST en comparación con el BS.

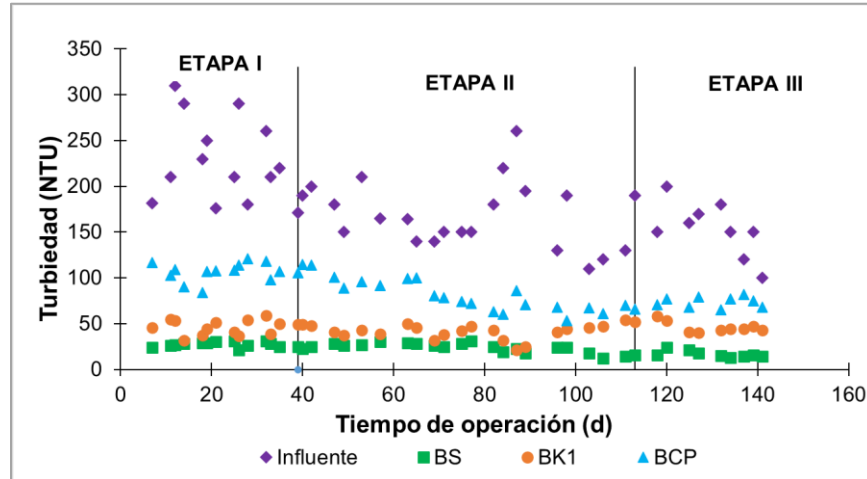


Figura 3-27. Comportamiento de la turbiedad en reactores en continuo

La materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (**Figura 3-28**) en el influente tuvo valores de $1,241 \pm 249$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $1,305 \pm 319$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y $1,541 \pm 226$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para la primera, segunda y tercera etapa respectivamente. Para la primera etapa, la remoción obtenida en el reactor BS fue de $34 \pm 15\%$ lo que equivale a una concentración en el efluente de 795 ± 149 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$, en el BK de $46 \pm 13\%$ (644 ± 144 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$) y en el BCP de $73 \pm 8\%$ (325 ± 68 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$). Para la segunda etapa, las remociones aumentaron en el BS y BK1, a $37 \pm 15\%$ (799 ± 175 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$) y a $59 \pm 11\%$ (519 ± 141 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$) respectivamente, sin embargo, en el BS este aumento no fue significativo; mientras que, en el BCP hubo una ligera disminución en la remoción $71 \pm 8\%$ (363 ± 80 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$). En la tercera etapa, las remociones de DQO se vieron favorecidas en los tres reactores, siendo de $47 \pm 9\%$ (803 ± 47 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$) para el BS, de $62 \pm 6\%$ (575 ± 58 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$) para el BK y de $76 \pm 8\%$ (358 ± 83 $\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$).

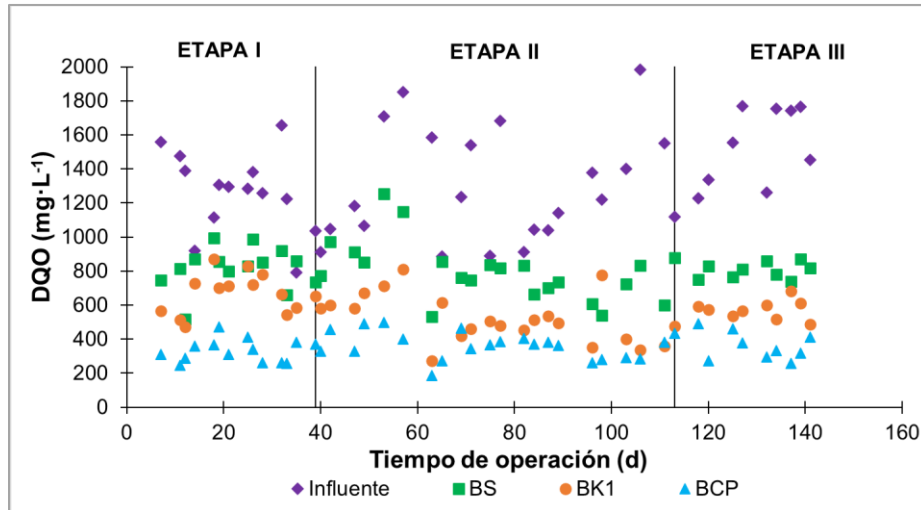


Figura 3-28. Comportamiento de la Demanda Química de Oxígeno en reactores en continuo

Para el caso del cianuro total, las concentraciones finales en los efluentes pueden observarse en la **Figura 3-29**. La máxima remoción de cianuro se llevó a cabo en el reactor empacado con cubos de poliuretano en las tres etapas, siendo de $85\pm 2\%$, $93\pm 3\%$ y $97\pm 1\%$, dando como concentraciones finales en el efluente de 4 ± 1 , 3 ± 1 y 2 ± 1 mg·L⁻¹ de cianuro total, lo cual cumple con la normatividad mexicana para la descarga a cuerpos de agua cuyo fin sea el riego agrícola. Por otra parte, el reactor empacado con soportes tipo Kaldnes presentó remociones de cianuro total de $78\pm 3\%$, $89\pm 2\%$ y $93\pm 1\%$ (6 ± 1 , 4 ± 1 y 4 ± 1 mg·L⁻¹ como concentración final de cianuro total en el efluente); mientras que el reactor con biomasa suspendida fue el que presentó mayores concentraciones de cianuro total en el efluente, 8 ± 2 , 13 ± 1 y 17 ± 2 mg·L⁻¹, lo que equivale a una remoción de 69 ± 8 , 66 ± 6 y $69\pm 4\%$.

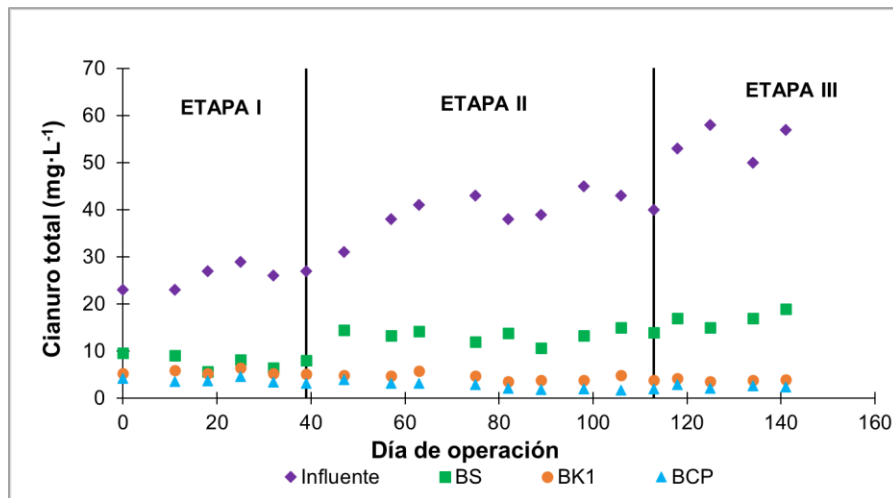


Figura 3-29. Comportamiento del cianuro total en reactores en continuo

Villemur et al. (2015), Dvorák et al. (2014) y Vincent et al. (2016) utilizaron soportes tipo Kaldnes para estudiar la degradación de cianuro. Villemur et al. (2015) trabajaron con una cepa de *Thiobacillus ssp.* con la cual lograron máximas remociones de 63%, dando

concentraciones de cianuro en el efluente de 60 mg L^{-1} , esto al trabajar con un llenado del 63%, en condiciones neutras (7.5 unidades) y mesófilas ($25 \text{ }^\circ\text{C}$), además de contar con acetato de sodio como fuente adicional de carbono y un tiempo de operación de 566 días. Por otra parte, Dvorák et al. (2014), lograron remociones del 75% al mezclar efluentes mineros con agua residual doméstica y un TRH de 10.4 d, se identificó a la bacteria *Rhodococcus erythropolis* CCM2595 logrando concentraciones en el efluente de $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Mientras que, Vincent et al. (2016), al igual que en el presente estudio utilizaron un consorcio bacteriano para tratar diferentes tipos de cianuro (tiocianato ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), cianato ($60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y cianuro ($<10 \text{ mg L}^{-1}$)), adicionando glicerina o glucosa como fuentes de carbono, dando como resultado remociones de 98-99% de tiocianato, 90% de cianato y 95% de cianuro, después de 200 días de operación con un TRH de 3 h y en condiciones neutras (7.5 unidades).

La **Tabla 3-21** un resumen de los parámetros monitoreados durante toda la etapa experimental y la relación A/M determinada en cada uno de los reactores para las tres etapas evaluadas. Se puede observar que tanto para el BK como para BCP los valores de sólidos y las relaciones SSV/SST y A/M se encuentran entre los intervalos citados por la CONAGUA para la operación de lodos activos, siendo éstos de $3,500\text{-}5,000 \text{ mg SST}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.80\text{-}0.90$ y de $0.2\text{-}0.6 \text{ mg DQO}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ SSV}\cdot\text{d}^{-1}$.

Tabla 3-21. Parámetros monitoreados en reactores en continuo

Etapa	I	II	III
DQO ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			
BS	1,241±246	1,305±319	1,541±226
BK1	1,241±246	1,305±319	1,541±226
BCP	1,241±246	1,305±319	1,541±226
SST ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			
BS	2,378±309	2,447±213	2,366±334
BK1	3,077±548	3,212±307	2,850±305
BCP	3,985±325	4,000±537	3,808±446
SSV ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			
BS	1,489±341	1,411±314	1,324±270
BK1	2,204±612	2,654±358	2,258±552
BCP	3,429±837	3,230±288	3,138±514
Relación A/M ($\text{mg DQO}\cdot\text{mg SSV}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)			
BS	0.83	0.92	1.16
BK1	0.56	0.49	0.68
BCP	0.36	0.40	0.49
SSV/SST			
BS	0.63±0.15	0.58±0.13	0.56±0.11
BK1	0.63±0.15	0.83±0.11	0.78±0.12
BCP	0.87±0.22	0.82±0.10	0.82±0.06
μ_{max} (d^{-1})			
BS	0.91	1.02	0.28
BK1	0.55	2.84	0.32
BCP	1.64	1.37	0.30

Etapa	I	II	III
	[Cianuro total] (mg·L⁻¹)		
Influyente	26±2	40±4	55±4
BS	7.8±1.5 (69±8)	13.4±1.4 (66±6)	17.0±1.6 (69±4)
BK1	5.5±0.5 (78±3)	4.5±0.7 (89±2)	3.9±0.2 (93±1)
BCP	3.8±0.6 (85±2)	2.5±0.8 (93±3)	2.5±0.3 (95±1)

Además, se observó que la concentración de metales disueltos (cobre, hierro y níquel) disminuyó en las tres etapas (**Tabla 3-22**), obteniéndose como valores finales al concluir cada etapa, en la etapa I los mejores resultados fueron al trabajar con el BCP para el cobre, con el BK1 para el hierro y con el BS para el níquel; en la etapa II, para el cobre fue al trabajar con el BCP, y para el hierro y para el níquel con el BS; mientras que, para en la etapa III, en el caso del cobre se vio favorecido el BCP, para el hierro y el níquel, al igual que en la etapa II, en el BS.

Tabla 3-22. Metales disueltos en reactores en continuo al finalizar cada etapa

Etapa	I	II	III
Cobre (mg·L⁻¹)			
Influyente	0.342	0.380	0.418
BS	0.079	0.091	0.105
BK1	0.081	0.100	0.119
BCP	0.060	0.073	0.099
Hierro (mg·L⁻¹)			
Influyente	5.387	5.985	6.584
BS	4.548	3.945	4.701
BK1	3.901	4.363	5.083
BCP	4.282	4.962	5.458
Níquel (mg·L⁻¹)			
Influyente	0.531	0.590	0.649
BS	0.248	0.250	0.269
BK1	0.300	0.291	0.322
BCP	0.313	0.350	0.388

Para evaluar la remoción de metales entre las diferentes etapas para cada reactor se generó una comparación de medias con el software Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.06. Puesto que los valores-P de la razón-F (**Tabla 3-23**) son mayores que 0.05 se concluyó que no existe una diferencia estadísticamente significativa en la remoción de cada uno de los metales con un nivel del 95% de confianza.

Tabla 3-23. Resultados del análisis de varianza (relación F y valor P) en la remoción de metales en sistemas en continuo

Metal	Razón-F	Razón-P
Cobre	0.09	0.9107
Hierro	1.47	0.2804
Níquel	0.16	0.8558


Puede apreciarse que las μ_{\max} en los reactores en continuo durante las primeras dos etapas son mayores que en los operados en lote, siendo en la etapa I 0.91, 0.55 y 1.64 d^{-1} , en la etapa II de 1.02, 2.84 y 1.37 d^{-1} en comparación con la de los reactores en lote siendo de 0.41, 0.32 y 0.43 d^{-1} para el BS, BK1 y BCP respectivamente; mientras que, en la tercera etapa los valores de μ_{\max} disminuyeron respecto a los operados en lote siendo de 0.28, 0.32 y 0.30 d^{-1} . Por otra parte, en los reactores en lote se logró disminuir la concentración de cianuro a concentraciones menores de 3 mgL^{-1} , sin embargo, en los operados en continuo el único reactor que logró cumplir con lo establecido por la [NOM-001-SEMARNAT-1996](#) para descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales en embalses naturales y artificiales para uso en riego agrícola, fue el BCP durante la etapa II y III.


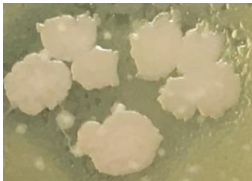
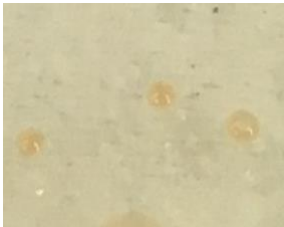
Además, las concentraciones de los SST fueron mayores en los reactores operados lote (1,685 $mg\ SST \cdot L^{-1}$ en el BS, 2,900 $mg\ SST \cdot L^{-1}$ en el BK y 2,777 $mg\ SST \cdot L^{-1}$ en el BCP) en comparación con los reactores en continuo durante las primeras dos etapas (1,489±341 y 1,411±314 $mg\ SST \cdot L^{-1}$ en el BS, 2,204±612 y 2,654±358 $mg\ SST \cdot L^{-1}$ en el BK y 3,429±837 y 3,230±288 $mg\ SST \cdot L^{-1}$ en el BCP) y los reactores BS (1,324±270 $mg\ SST \cdot L^{-1}$) y BK1 (2,258±552 $mg\ SST \cdot L^{-1}$) en la tercera etapa; mientras que en la concentración de SST¹ en el BCP fue mayor (3,138±514 $mg\ SST \cdot L^{-1}$).

3.5 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Para llevar a cabo la identificación de los microorganismos involucrados en la biodegradación de cianuro contenido en relaves mineros durante el presente estudio, se llevaron a cabo dos tipos de análisis, uno morfológico y otro mediante la identificación por biología molecular. El análisis morfológico consistió en realizar el aislamiento de las bacterias inoculadas en los reactores mediante el uso de la técnica de dilución y estriado en placa y la propagación de cada una de las bacterias aisladas en medios de cultivo líquido (caldo peptonado).; mientras que, para el análisis molecular se llevó a cabo la secuenciación masiva de cada uno de los reactores al finalizar la etapa experimental en continuo al tratar los relaves mineros. Las características físicas y morfológicas se muestran en la **Tabla 3-24** así como su correspondiente fotografía.

Tabla 3-24. Morfología de bacterias aisladas

Bacteria (No.)	Color/morfología	Imagen
1	Café claro, circular, convexa, mucoide	

Bacteria (No.)	Color/morfología	Imagen
2	Blanco, circular, plana	
3	Café claro, fusiforme, plana, mucoide	
4	Amarillo, circular, convexa, mucoide	

Las clases que tuvieron una mayor presencia en los distintos reactores fueron en el BS y BK1: *Alphaproteobacteria* (33.15% y 28.50%), *Clostridia* (24.46% y 17.87%) y *Bacteroidia* (22.83% y 28.08); mientras que en el BCP fueron *Gammaproteobacteria* (53.03%) y *Alphaproteobacteria* (30.30%). Por otra parte, se pudo observar la presencia de 26 y 27 familias diferentes en el BS y BK1 respectivamente, entre las que destacan por su mayor porcentaje de presencia la *Caulobacteraceae* (5.98% y 5.31%), *Clostridiaceae* (11.41% y 6.76%), *Cyclobacteriaceae* (20.65% y 24.64%), *Hyphomonadaceae* (7.61% y 5.31%), *Peptostreptococcaceae* (10.87% y 9.18%) y *Rhizobiaceae* (18.48% y 14.01%); y en el BCP se identificaron 12 familias distintas siendo las de mayor concentración *Halomonadaceae* (46.97%) y *Hyphomonadaceae* (24.24%).

En la **Figura 3-30** puede observar la clasificación de acuerdo al género, donde es posible apreciar que en reactor que contenía la biomasa suspendida hubo una mayor cantidad de *Mongoliitalea* (15.22%), seguido por otras bacterias como las *Paenochroactrum* (9.78%), *Paraclostridium* (9.24%), *Hyphomonas* (7.61%), *Pseudomonas* (6.52%) y *Clostridium* sensu stricto 2 (5.98%). En cuanto al reactor que contenía los soportes tipo Kaldnes la mayor abundancia fue de *Nitrosospira* y *Mongoliitalea* (ambas con 8.70%), seguida por *Paraclostridium* (8.21%), *Fontibacter* (7.73%), *Oceanobacter* (7.73%), *Aliihoeflea* (5.31%), *Brevundimonas* (5.31%) e *Hyphomonas* (5.31%). Por otra parte, la mayor predominancia en

el reactor empacado con cubos de poliuretano fue *Halomonas* (46.97%) e *Hyphomonas* (24.24%).

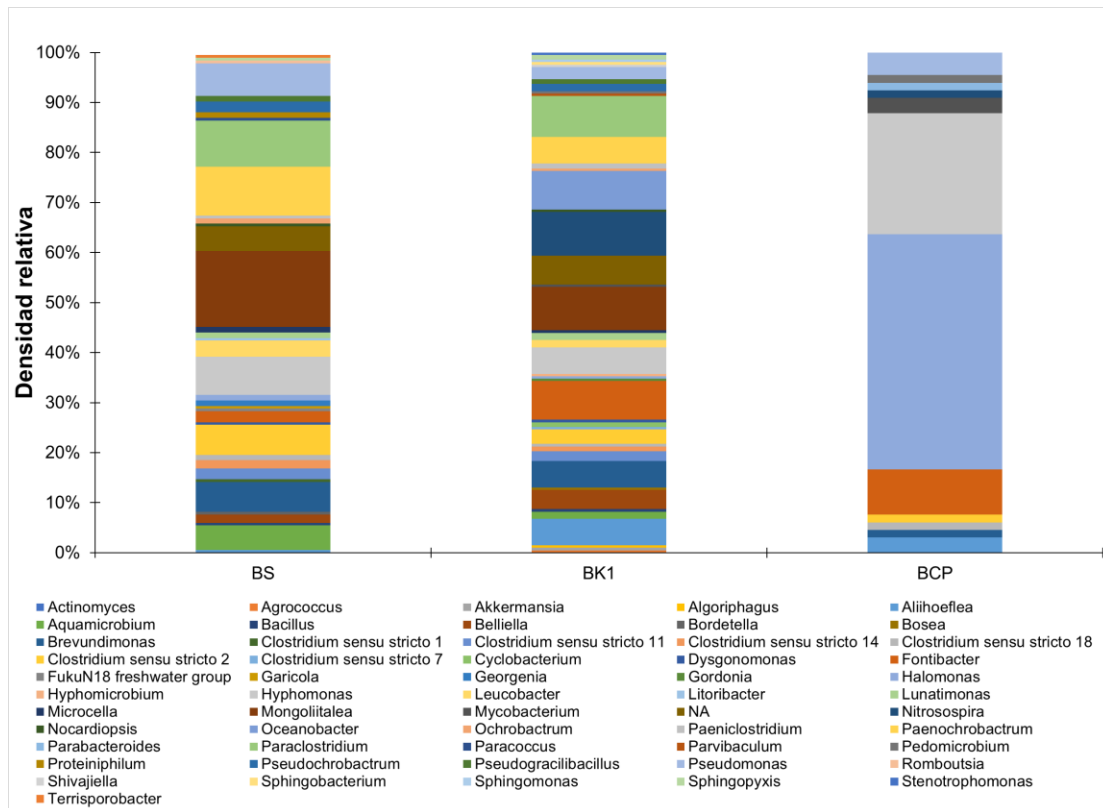


Figura 3-30. Abundancia relativa de géneros en reactores operados en continuo

Las *Mongoliitalea* son aerobias quimioautótrofas y se caracterizan por ser halotolerantes y alcalófilas, siendo su pH y temperatura óptimas de crecimiento de 9 unidades y 30°C (Yang et al., 2012). Las *Paenochrobactrum* han sido estudiadas para el tratamiento de piridinas brindando buenos resultados, favoreciendo su crecimiento a pH de 9 unidades y temperatura de 28°C (Zhao et al., 2021). Las *Paraclostridium* son gram positivas, anaerobias y generalmente crecen con concentraciones de NaCl de 0-3% w/v, temperaturas de 35-45°C y pH neutros (6.0-7.5 unidades), su presencia en este reactor puede deberse a la formación de varias capas de microorganismos, reduciéndose el oxígeno disuelto en el interior de éstas (Kutsuna et al., 2018). Las *Hyphomonas* se caracterizan por ser bacterias gram negativas marinas, sin embargo, se han encontrado en aguas estancadas poco profundas (Quintero et al., 2001). Las *Pseudomonas* han sido las más ampliamente reportadas como degradadoras de cianuro, son estrictamente aerobias y cuentan con un metabolismo no fermentativo (Khamar et al., 2015; Alkcil et al., 2003 & Huertas et al., 2010). Los *Clostridium* son gram positivas y ha sido previamente reportado su crecimiento en presencia de cianuro (Oswald et al., 2018).

En cuanto al reactor BK1 la mayor abundancia fue de *Nitrosospora* y *Mongoliitalea* (ambas con 8.70%), seguida por *Paraclostridium* (8.21%), *Fontibacter* (7.73%), *Oceanobacter* (7.73%), *Aliihoeflea* (5.31%), *Brevundimonas* (5.31%) e *Hyphomonas* (5.31%). Las *Nitrosospora* son aerobias quimioautótrofas y se caracterizan por ser nitrito-oxidantes y son

una de las bacterias amonio oxidantes más importantes, son de lento crecimiento (Flores-Velázquez, 2017) y se ha reportado su uso para el tratamiento de metales en suelos agrícolas contaminados (Luo et al., 2019). En el *Fontibacter* existen bacterias hierro-reductoras que son capaces de oxidar la materia orgánica y reducir el Fe (III) simultáneamente (Zhang et al., 2013). *Oceanobacter* han sido utilizada para degradar compuestos persistentes y tóxicos, como el petróleo (Dong et al., 2015; Teramoto et al., 2009). La *Aliihoeflea* es marina y se ha estudiado para llevar a cabo la remoción de arsénico en agua contaminada (Corsini et al., 2015). Las *Brevundimonas* se caracterizan por ser rizobacterias, sin embargo, también se han encontrado en estanques poco profundos y se han estudiado para llevar a cabo el tratamiento de cobre mediante fitoremediación (Rathi & Yogalakshmi, 2021).

La mayor predominancia en el reactor BCP fue *Halomonas* (46.97%) e *Hyphomonas* (24.24%). Las bacterias dentro del género *Halomonas* tienen un gran rango de hábitats, incluyendo los terrestres y varios ambientes salados, como los son los estuarios y el mar, su crecimiento se ve favorecido con concentraciones de NaCl entre 0-20% m/v (Kita-Tsukamoto et al., 2004), además han sido reportadas para llevar a cabo el tratamiento de metales pesados, como Hg, Pb y Cd, en agua (Asksonthong et al., 2018).

A pesar de que en los reactores BS y BK1 hubo una mayor diversidad bacteriana, el reactor BCP fue el que presentó mejores resultados, lo cual podemos asociarlo a la elevada presencia de *Halomonas* en este último, las cuales, como se mencionó anteriormente, se caracterizan por desarrollarse en ambientes salinos cuyo pH es alcalino, y el cual es un factor de gran importancia al tratar relaves mineros debido a la fácil volatilización del cianuro en pH menores a 10 unidades.

El proceso de **formación de una biopelícula** se caracteriza por la presencia de sustancias poliméricas extracelulares, que rodean y recubren las células e incluye diferentes etapas: 1) formación de una fina capa de materia orgánica sobre una superficie inicialmente limpia (fijación); 2) colonización por bacterias, que son capaces de adherirse a la superficie mediante estructuras como filamentos (pilis, fimbrias), y proteínas o polisacáridos extracelulares; 3) atrapamiento de partículas orgánicas e inorgánicas y de productos del metabolismo de las células que han iniciado la colonización; 4) crecimiento de los microorganismos adheridos e incorporación de otros microorganismos, que contribuyen a incrementar el grosor de la biopelícula (maduración); y 5) desprendimiento de porciones de la biopelícula (dispersión), que pueden ser arrastradas hasta otras partes del sistema e iniciar una nueva colonización.. En la **Figura 3-31** se pueden observar estos polisacáridos mediante microscopía electrónica de barrido. Las micrografías mostraron que la biomasa microbiana inmovilizada en los medios de soporte juega un papel importante en la integridad estructural de la biopelícula formada; de ahí su resistencia a los tóxicos. Del mismo modo, la biomasa del BS (**Figura 3-31, a y b**) apareció físicamente distinta de la inmovilizada en los reactores BK1 (**Figura 3-31, c y d**) y BCP (**Figura 3-31, e y f**). Es posible distinguir una mayor presencia de sustancias poliméricas extracelulares en el BCP en comparación con el BK1, lo cual favoreció a contar con una mayor concentración de SST y SSV en el empacado con cubos de poliuretano. El soluto en los reactores con soportes es más grande, lo que mejora la absorción de nutrientes en las biopelículas con cianuro y por ende disminuye el efecto inhibidor del cianuro y metales pesados.

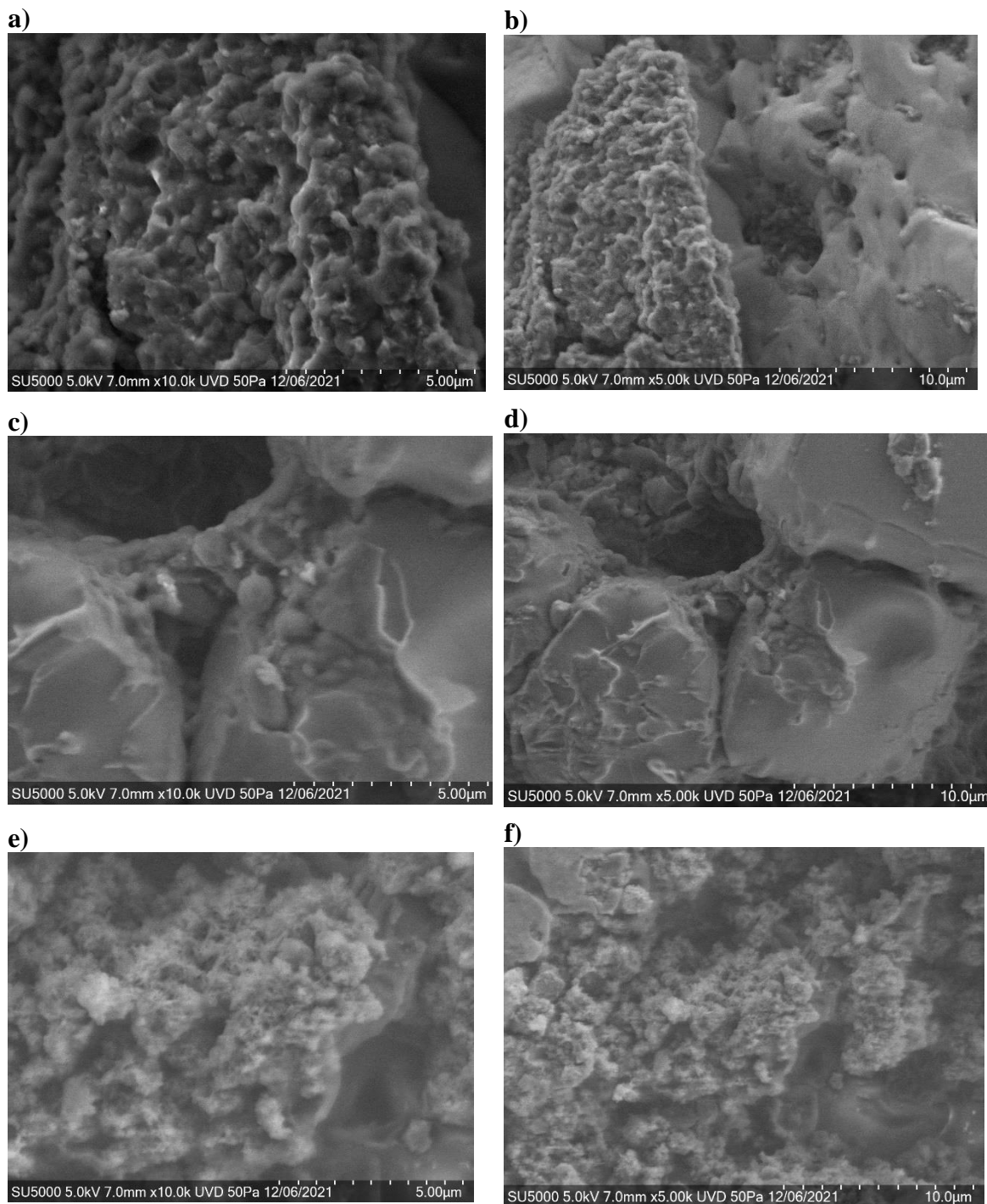


Figura 3-31. Micrografías electrónicas de barrido de biopelículas en los reactores: a) BS a 5 μm , b) BS a 10 μm , c) BK1 a 5 μm , d) BK1 a 10 μm , e) BCP a 5 μm y f) BCP a 10 μm

3.6 EVALUACIÓN ECONÓMICA DEL TRATAMIENTO PROPUESTO

Los conceptos principales para cualquier proyecto son la inversión inicial y los costos de funcionamiento (operación y mantenimiento). Los costos de inversión inicial del sistema

están asociados con los recursos financieros requeridos para la construcción de la infraestructura de los tanques. En este sentido, incluye los costos del terreno, diseño, materiales, maquinaria, equipos y mano de obra. Adicionalmente, se debe tener en cuenta los gastos administrativos, legales y financieros. Los costos de operación y mantenimiento son los que se generan para garantizar el buen desempeño de las operaciones y procesos del tratamiento en los relaves mineros y para asegurar que las instalaciones sean operadas y mantenidas eficientemente. En el sistema propuesto, los costos de operación y mantenimiento principalmente influenciados por los requerimientos de la tecnología son: energía eléctrica, insumos químicos, control de calidad del agua de proceso, mantenimiento y reparación de equipos y personal para operación (operador y auxiliar de operación), de laboratorio (químico y/o técnico de laboratorio) y mantenimiento de las instalaciones (técnico mecánico, técnico electricista, auxiliar y celador).

En el presente trabajo se calcularon los costos de inversión y operación para el tratamiento de 1 m^3 de relave minero. En la **Tabla 3-25** se presenta el desglose de los costos de reactivos, considerando la relación de consumo y el costo unitario de cada reactivo por metro cúbico de relave tratado, además de los costos energéticos. Generalmente, el relave presenta valores de pH alcalinos, entre 9 y 12 unidades, por lo que la dosis de NaOH o H_2SO_4 puede variar para cada caso para ajustar al valor óptimo, sin embargo, para este caso en particular se consideró el uso de 750 mL de NaOH (5 M) por cada m^3 de relave tratado.

Tabla 3-25 Costos de operación del tratamiento biológico de relaves mineros

Reactivos			
Concepto	Dosis (Kg· m⁻³ agua producida)	Precio unitario (\$· Kg⁻¹)	Costo total (\$· m⁻³ producido)
NaOH	0.28	5.1	1.43
H ₂ SO ₄	-		-
Energía			
Equipo	Demanda de energía (Kwh·m⁻³)	Costo de energía unitario (\$·Kwh⁻¹)	Costo total (\$·m⁻³)
Bomba peristáltica	37.5	0.853	31.99
Compresor de aire	96.67	0.853	82.46

Se obtuvo que por 1 m^3 de relave tratado se tiene un costo de \$35, el cual es inferior a lo citado por [Ramírez-Cardoso \(2015\)](#) donde se obtuvieron costos de \$41/ m^3 al utilizar un sistema de ozonación-coagulación y de \$107/ m^3 al invertir el proceso, coagulación-ozonación. Mientras que, [Zuluaga & Hernández-Roldán \(2020\)](#) calcularon un costo de operación promedio de \$119/ m^3 al tratar los relaves mineros por medio de oxidación avanzada (ozonación) y coagulación-floculación. Lo cual concuerda con lo descrito por [Berastain \(s.f.\)](#) donde menciona que los procesos de biodegradación son lo que generan un menor costo de operación siendo de \$12/kg de cianuro tratado, seguido de la oxidación con peróxido de hidrógeno con un costo de \$133/kg cianuro y por último la cloración alcalina, en el cual es costo se incrementa hasta \$324/kg cianuro.

4 CONCLUSIONES

Se logró obtener, adaptar e identificar un consorcio microbiano mixto que es útil para biodegradar cianuro presente en jales mineros, y el medio de cultivo que presentó las propiedades idóneas para llevar a cabo el crecimiento y la propagación del consorcio microbiano fue el caldo peptonado, ya que permitió aumentar la tasa de crecimiento y el número de generaciones replicadas, así como disminuir el tiempo de duplicación en comparación con el medio mineral.

El mejor inóculo para llevar a cabo la biodegradación de cianuro fue el denominado MC10, el cual se encontraba previamente aclimatado al contaminante. Se encontró que el uso de un inóculo previamente aclimatado (MC10) permite incrementar la biodegradación de cianuro (>80%) después de 29 días de operación.

La composición del medio para la evaluación de una fuente alterna de carbono (SP, SPFC y SPFCG) no mostró una diferencia estadísticamente significativa en la biodegradación de cianuro. La volatilización del contaminante es menor al 5%, por lo cual la disminución de cianuro es principalmente llevada a cabo por un mecanismo de biodegradación y no por un factor físico. Los parámetros cinéticos μ_{\max} y K_s del modelo de Monod indican que a una concentración de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cianuro se presenta una mayor afinidad por parte de la biomasa, seguida de una concentración inicial de 20, 15 y $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cianuro.

Se encontraron los factores que indican en la biodegradación del cianuro, siendo éstos el pH, temperatura y concentración de inóculo, siendo sus valores óptimos siendo de 9.5, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ y 15% v/v, respectivamente. Además, se determinó que tanto el hierro como el cobre son metales estadísticamente significativos al llevar a cabo la biodegradación de cianuro y cuyas concentraciones no deben exceder los 0 y $7.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente, mientras que el níquel a pesar de no influir en el tratamiento de cianuro su concentración debe ser por debajo de $0.46 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Al trabajar en reactores en lote con biomasa suspendida y biomasa inmovilizada, no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la biodegradación de cianuro, mientras que al utilizar reactores continuos la remoción de cianuro se incrementó al 95 % al usar cubos de poliuretano como medio de soporte. Los tres reactores operados en continuo trabajaron adecuadamente, siendo el mejor de ellos el BCP, seguido del BK1 y por último el BS, obteniendo concentraciones de cianuro en los efluentes de $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (95%), $3.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (93%) y $17 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (69%) respectivamente.

Se identificaron 56 géneros distintos de bacterias en los diferentes reactores, siendo las de mayores unidades taxonómicas operativas (UTO) en el BS las *Paenochrobactrum* (15.22%); en el BK1 las *Nitrosospira* y *Mongolitalea* (8.70%); y en el BCP las *Halomonas* (46.97%). Además, se lograron obtener costos de tratamiento de relaves mineros de $\$35/\text{m}^3$.

El uso del electrodo de ion selectivo es eficiente en la medición de cianuro, cuando la muestra de agua es sintética y no cuenta con la presencia de interferencias como sulfuros o metales en ésta. Las relaciones entre las UFC, el peso seco y la densidad óptica, no presentan una diferencia estadísticamente significativa entre ambos medios, sin embargo, el medio mineral

presenta un crecimiento más uniforme y mejores coeficientes de correlación lineal en comparación con el caldo peptonado, además es posible retirar la fuente de carbono de éste ($C_2H_3NaO_2$) y sustituirla por el contaminante en cuestión (cianuro).

Con el tratamiento propuesto en esta tesis, se cumple con la normatividad mexicana para disposición en cuerpos receptores tipo A, ya sea ríos o suelos del agua destinada para uso en riego agrícola, después de llevar a cabo el tratamiento biológico de relaves mineros con sistemas de biomasa inmovilizada en soportes tipo Kaldnes y cubos de poliuretano.

5 RECOMENDACIONES

Derivado de los resultados obtenidos en el presente estudio, y con objeto de aumentar la comprensión de los mecanismos que pudiesen ayudar a optimizar el proceso de remoción de cianuro contenido en los relaves mineros, se recomienda evaluar los siguientes factores:

- Efecto de la recirculación de la biomasa en los reactores.
- Incidencia de la concentración de otros metales no evaluados en el presente estudio, pero que también puedan estar presentes en los relaves mineros, tales como zinc y plomo.
- Efecto de la concentración de oxígeno en la biodegradación de cianuro.

Así mismo se recomienda escalar el proceso a nivel piloto para obtener resultados más representativos del proceso a escala industrial, obtener criterios de diseño y para identificar posibles riesgos en el escalamiento de las operaciones unitarias.

6 REFERENCIAS

- Abdoul-Raimi B., Shamim A., Ynoussa M. & Nosa O. (2013). Biodegradation of Cyanide Complex Compounds in Aqueous Media by *Pseudomonas resinovorans*. *Environmental Engineering Science*. 30 (12): 757-764. DOI: 10.1089/ees.2013.0254.
- Acheampong M., Meulepas R. & Lens P. (2010). Removal of heavy metals and cyanide from gold mine wastewater. *Journal of Chemistry Technology and Biotechnology*, 85: 590-613.
- Aguilar J., Espinoza M., Cabanillas J., Ávila I., García A., Julca J., Tacanga D., Zuta I. & Linares G. (2015). Evaluación de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo. *Agroindustrial Science*. 5 (1): 37-47.
- Akcil A. (2002). First application of cyanidation process in Turkish gold mining and its environmental impacts. *Minerals Engineering*. 15: 695-699.
- Akcil A. (2003). Destruction of cyanide in gold mill effluents: Biological versus chemical treatments. *Biotechnology Adv.* 21, 501.
- Akcil A. & Mudder T. (2003). Microbial destruction of cyanide wastes in gold mining: process review. *Biotechnology Letters*. 25: 445-450.
- Akcil A., Karahan H., Ciftci H. & Sagdic O. (2003). Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas* sp.). *Minerals Engineering*. 16: 643-649.
- Akinpelu E., Ntwampe S., Mpongwana N., Nchu F. & Ojumu T. (2016). Biodegradation Kinetics of Free Cyanide in *Fusarium oxysporum-Beta vulgaris* Waste-metal (As, Cu, Fe, Pb, Zn) Cultures under Alkaline Conditions. *BioResources*. 11 (1): 2470-2482.
- Alfie-Cohen (2015). Conflictos socio-ambientales: la minería en Wirikuta y Cananea. *El Cotidiano*, Universidad Autónoma Metropolitana. 191: 9-108. ISSN: 0186-1840.
- Aleem, A., Isar, J. & Malik, A. (2003). Impact of long-term application of industrial wastewater on the emergence of resistance traits in *Azotobacter chroococcum* isolated from rhizospheric soil, *Bioresource Technology*. 86 (1): 7-13.
- Allen M., Edberg S. & Reasoner D. (2004). Heterotrophic plate count bacteria- what is their significance in drinking water? *International Journal of Food Microbiology*. 92: 265-274.
- Álvarez-García R. (2005). Tesis Doctoral: Aplicación de sistemas pasivos para el tratamiento de soluciones residuales de procesos de cianuración en minería de oro. Universidad de Oviedo. España.
- Alvares A., Parsons S. & Diaper, C. (2001). Partial oxidation by ozone to remove recalcitrant from wastewaters. *Environmental Technology*. 22: 409-427.
- Andreottola G., Foladori R., Ragazzi M. & Tatáno F. (2000). Experimental comparison between MBBR and activated sludge system for the treatment of municipal wastewater. *Water Science & Technology*.
- Asksonthong R., Siripongvutikorn S. & Usawakesmanee W. (2018). Heavy metal removal ability of *Halomonas elongata* and *Tetragenococcus halophilus* in a media model system as affected by pH and incubation time. *International Food Research Journal*. 25(1): 234-240.
- Astete J., Cáceres W., Gastañaga M., Lucero M., Sabastizagal I., Oblitas T, Pari J. & Rodríguez F. (2009). Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. *Revista de Perú Medica Exp. Salud Pública*. 26 (1): 15-19.

- Avcioglu N. & Seyis-Bilkay I. (2016). Biological Treatment of Cyanide by Using *Klebsiella pneumoniae* Species. Food Technology Biotechnology. 54(4): 450-454. ISSN: 1330-9862.
- Banno A., Hussain J., Akbar A., Mehmood K., Anwar M., Sharif Hasni M., Ullah S., Sajid S., Ali I. (2018). Biosorption of heavy metals by obligate halophilic fungi. Chemosphere. 199: 218-222.
- Bassin J., Kleerebezem R., Rosado A., Vvan Loosdrecht M. & Dezotti M. (2011). Effect of Different Operational Conditions on Biofilm Development, Nitrification, and Nitrifying Microbial Population in Moving-Bed Biofilm Reactors. Environmental Science and Technology. 46: 1546-1555.
- Batt A.L., Kim S. & Aga D.S. (2006). Enhanced Biodegradation of Iopromide and Trimethoprim in Nitrifying Activated Sludge. Environmental Science and Technology. 40: 7367-7373.
- Becerra-Mejía C.A. (2007). Tesis licenciatura: Optimización de un medio de cultivo para la producción de biomasa de la cepa *Pseudomonas putida* ua 44 aislada del suelo Bananero de Uraba –Antioquia. Medellín. Colombia
- Beltrán J. F., González M. & Álvarez P. (1997) Tratamiento de aguas mediante oxidación avanzada, Revista de Ingeniería Química. 161-164
- Beltrán, F.J., García-Araya, J.F., Frades, J., Álvarez, P. & Gimeno, O., 1999. Effects of single and combined ozonation with hydrogen peroxide or UV radiation on the chemical degradation and biodegradability of debittering table olive industrial wastewaters. Water Research. 3, 723–732
- Berastain A. (s.f.) Destrucción de Cianuro en Efluentes Mineros. Consorcio Minero Horizonte S.A. Universidad Nacional de Ingeniería. Dirección electrónica: <http://www.solomineria.com.pe/html/metalurgia/26.pdf>. Lima, Perú.
- Black Z., Brown J. & Choquette J. (2017). National Instrument 43-101 Technical Report: Updated Mineral Resource and Reserve Estimates for the El Cubo Project, Guanajuato State, Mexico. Hard Rock Consulting, LCC.
- Caballero-Armenta M. & González-González M. (2006). Microbiología Ambiental. Cuaderno de Prácticas. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Madrid, España. ISBN: 84-362-5287-X.
- Cabello P., Luque-Almagro V. M., Olaya-Abril A., Sáez L. P., Moreno-Vivián C., & Dolores-Roldán, M. (2018). Assimilation of cyanide and cyano-derivatives by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344: From omic approaches to biotechnological applications. FEMS Microbiology Letters. 365 (6): 1–7.
- Cabrera G., Pérez R., Gómez J., Ábalo A. & Cantero D. (2006). Toxic effects of dissolved heavy metals on *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio sp.* strains. Journal of Hazardous Materials. 135: 40-46.
- Cabuk A., Unal A. & Kolankaya N. (2006). Biodegradation of cyanide by a white rot fungus, *Trametes versicolor*. Biotechnology Lett. 28: 1313-1317.
- Camargo-Rodríguez M. (2011). Tesis de maestría: Efecto de la aireación sobre la remoción de materia orgánica y nitrógeno en bioreactores de lecho móvil. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- CAMIMEX (2018). Mapa de Indicadores Mineros 2016. Cámara de Minería de México. Dirección electrónica: <https://www.camimex.org.mx/>
- Cañizares-Villanueva R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Revista Latinoamericana de Microbiología. 42: 131-143.

- Carillo-Flores, L. I. 2018. Tesis maestría: Estudio del efecto de ozonación y coagulación-floculación en la estabilización del cianuro presente en relaves de la industria minera de Au y Ag. Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Puebla. México.
- Cascart-Carmentay D., Calzado-Lamela O. & Pérez-Silva R. (2014). Determinación de la capacidad de adsorción de cromo (VI) por biomasa bacteriana. *Revista Cubana de Química*. XXVI (3): 215-224.
- Casseres S., Mesa S. & Hernández H. (2008). Estabilización/Solidificación, una alternativa para la deposición segura de los lodos saturados con metales pesados. *Revista de la Facultad de Ingenierías Físico Mecánicas*. 169-178
- Cervantes C., Espino-Saldaña A., Acevedo-Aguilar F., León-Rodríguez I., Rivera-Cano M., Avila-Rodríguez M., Wróbel-Kaczmarczyk K., Wróbel-Zasada K., Gutiérrez-Corona J., Rodríguez-Zavala J. & Moreno-Sánchez R. (2006). Interacciones microbianas con metales pesados. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 48 (2): 203-210.
- Chapatwala K., Babu G., Vijaya O., Kumar K. & Wolfram J. (1998). Biodegradation of cyanides, cyanates and thiocyanates to ammonia and carbon dioxide by immobilized cells of *Pseudomonas putida*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 20: 28-33.
- CICA. Ingenieros Consultores. 2013. Prueba Piloto para la Oxidación Avanzada de Soluciones Polimetálicas Ácidas y/o Neutras, y Abatimiento de Soluciones Cianuradas. Lima, Perú.
- CIMAV (2015). Microscopía Electrónica de Barrido. Centro de Investigación en Materiales Avanzados S.C. Dirección electrónica: <http://mty.cimav.edu.mx/sem/> (Accesado el 15 de febrero 2017)
- CONAGUA (2014). Manual de agua potable, alcantarillado y saneamiento, Diseño de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales: filtros anaerobios de flujo ascendente. Comisión Nacional del Agua. ISBN: 978-607-626-017-3.
- Comparative evaluation of cyanide removal by adsorption, biodegradation, and simultaneous adsorption and biodegradation (SAB) process using *Bacillus cereus* and almond Shell (2016). *Journal of Environmental Biology*. 37: 551-556. ISSN: 0254-8704.
- Corral-Lugo A., Morales-García Y., Pazos-Rojas L., Ramírez-Valverde A., Martínez-Contreras R. & Muñoz-Rojas J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo”. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 14 (2); 147-156.
- Corrales-Pérez D. & Martín-Romero F. (2013). Evaluación de la peligrosidad de jales de zonas mineras de Nicaragua y México y alternativas de solución. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*. 65 (3): 427-446.
- Cornejo M. (2016). Tesis de maestría: Bioremediación de relaves mineros con un consorcio microbiano nativo caracterizado molecularmente y productor de enzimas degradadoras de cianuro y derivados. Universidad Nacional de Tumbes. Perú.
- Corsini A., Colombo M., Muyzer G., & Cavalca L. (2015). Characterization of the arsenite oxidizer *Aliihoeflea sp.* strain 2WW and its potential application in the removal of arsenic from groundwater in combination with Pf-ferritin. *Antonie van Leeuwenhoek*. 108(3): 673-684.
- Dabrowsky B., Hupka J., Zurawska M. & Miller, J. (2005). Laboratory and pilot scale photodegradation of cyanide-containing wastewaters. *Physicochemical Problems of Mineral Processing*. 39: 229–248.

- Dale C., Laliberte M., Oliphant D. & Ekenberg M. (2015). Wastewater treatment using MBBR in cold climates. Proceeding of Mine Water Solutions in Extreme Environments. ISBN: 978-0-09917905-7-9.
- Dash R., Balomajumder C. & Kumar A. (2008). Treatment of metal cyanide bearing wastewater by simultaneous adsorption and biodegradation (SAB). Journal of Hazardous Materials. 152: 387-396.
- Dash R., Gaur A. & Balomajumder C. (2009). Cyanide in industrial wastewaters and its removal: A review on biotreatment. Journal of Hazardous Materials. 163: 1-11.
- Di, B. L. (1993). Métodos e Técnicas de Tratamento de Água. Associação. Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro, Brasil. 1: 1020.
- Deloya-Martínez (2012). Tratamiento de desechos del cianuro por biorremediación. Tecnología en Marcha. 25 (2): 61-72.
- Dong C., Bai X., Sheng H., Jiao L., Zhou H. & Shao, Z. (2015). Distribution of PAHs and the PAH-degrading bacteria in the deep-sea sediments of the high-latitude Arctic Ocean. Biogeosciences. 12(7): 2163-2177.
- Dos-Santos A. (2007). Tesis Doctorado: Estudio del comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.
- Draper N.R. & Smith H. (1981). Applied Regression Analysis. 2da edición. Editorial: John Wiley, New York. pp. 511.
- Dumestre A., Chone T., Portal J., Gerard M. & Berthelin J. (1997). Cyanide Degradation under Alkaline Conditions by a Strain *Fusarium solani* Isolated from Contaminated Soils. Applied and Environmental Microbiology. 2729-2734.
- Dvořák, L., Lederer, T., Jirků, V., Masak, J., & Novak, L. (2014). Removal of aniline, cyanides and diphenylguanidine from industrial wastewater using a full-scale moving bed biofilm reactor. Process Biochemistry. 49 (1): 102-109.
- Dwivedi N., Balomajumder C. & Mondal P. (2016). Comparative evaluation of cyanide removal by adsorption, biodegradation, and simultaneous adsorption and biodegradation (SAB) process using *Bacillus cereus* and almond Shell. Journal of Environmental Biology. 37: 551-556.
- Ebbs S. (2004). Biological degradation of cyanide compounds. Current Opinion in Biotechnology. 15: 231-236.
- Endeavour Silver (2018). Propiedades Mineras, Producción, El Cubo. Endeavour Silver. Dirección electrónica: <http://www.edrsilver.com/Spanish/home/default.aspx>
- Estrada-Arriaga E.B. (2011). Tesis doctoral: Tratamiento de aguas residuales municipales con presencia de compuestos disruptores endocrinos mediante un bioproceso aerobio con membranas. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Ezzi M. & Lynch J. (2005). Biodegradation of cyanide by *Trichoderma spp.* and *Fusarium spp.* Enzyme and Microbial Technology. 36:849-854.
- Fajardo J., Bubano D., Bubano E., Apraez N. & Moreano M. (2010). Estudios de métodos químicos de remoción de cianuro presente en residuos de cianuración provenientes del proceso de extracción de oro de veta en el departamento de Nariño. Revista Luna Azul. 31. ISSN: 1909-2474.
- Farges B., Poughnon L., Roriz D., Creuly C., Dussap C. & Lasseur C. (2012). Anoxic cultures of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* in autotrophic conditions:

- a new protocol for kinetic studies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 167: 1076-1091.
- Fernández-Pérez B. (2007). Tesis doctoral: Desarrollo de un nuevo método para la eliminación de cianuro de aguas residuales de mina. Universidad de Oviedo. ISBN: 978-84-694-5579-1.
- Fernández-Villalón M., Calzado-Lamela O., Cascaret-Carmenaty D. & Pérez-Silva R. (2018). The most influential factors on the adsorption of heavy metals by dry biomass the *K luyveromyces Marxianus* CCEBI 2011. *Revista Tecnología Química*. 38 (2): 335-3445. ISSN: 2224-6185.
- Fleming H., Szewzyk U. & Griebe T. (2000). *Biofilms: Investigative Methods and Applications*. Technomic Publishing. U.S.A.
- Flores-Velázquez Y. (2017). Tesis doctoral: Remoción de compuestos farmacéuticos en reactores con biomasa inmovilizada. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- FUNASA (2013). Fundación Nacional de Salud. Manual práctico de análisis de agua. 4ª edición. Brasilia, Brasil.
- Garcés-Molina A., Agudelo-Betancur L., Macías-Mazo K. & Salinas-Alzate A. (2006). Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro. *Revista Lasallista de Investigación*. 3 (1): 7-12.
- García-González S. (2008). Tesis maestría: Oxidación química de aminas gastadas provenientes de procesos de endulzamiento de gas en refinerías. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Gerginova M., Zlateva P., Peneva N. & Alexieva Z. (2014). Influence of phenolics substrates utilised by yeast *Trichosporon cutaneum* on the degradation kinetics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 28 (1): 33-37.
- González-Brambila M. & López-Isunza F. (2008). Comportamiento de un reactor de biopelícula para tratamiento de agua residual a diferentes velocidades de flujo. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 7 (3): 183-193.
- Guadarrama-Pérez O. (2017). Tesis maestría: Caracterización de un sistema híbrido de celda de combustible microbiana productora de hidrógeno-celda de combustible de hidrógeno para la producción de electricidad. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Morelos. México.
- Guamán-Guadalima M. P., & Nieto-Monteros D. A. (2018). Evaluation of the rotational speed and carbon source on the biological removal of free cyanide present on gold mine wastewater, using a rotating biological contactor. *Journal of Water Process Engineering*. 23: 84–90.
- Guo W., Ngo H., Dharmawan F. & Palmer C. (2010). Roles of polyurethane foam in aerobic moving and fixed bed bioreactors. *Bioresource Technology*. 101: 1435-1439.
- Gupta N., Balomajumder C. & Agarwal V. (2010). Enzymatic mechanism and biochemistry for cyanide degradation: A review. *Journal of Hazardous Materials*. 176: 1-13.
- Gurbuz F., Ciftci H. & Akcil A. (2009). Biodegradation of cyanide containing effluents by *Scenedesmus obliquus*. *Journal of Hazardous Materials*. 162: 74-79.
- Gutierrez P. & Salazar R. (2004). *Análisis y diseño de experimentos*. Mc Graw-Hill. Distrito Federal, México. Pp. 571.
- Hanela S., Durán J. & Jacabo S. (2015). Removal of iron-cyanide complexes from wastewaters by combined UV-ozone and modified zeolite treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 3:1794-1801.

- Hibiya K., Nagai J., Tsuneda S. & Hirata A. (2004). Simple prediction of oxygen penetration depth in biofilms for wastewater treatment. *Biochemical Engineering Journal*. 16: 61-68.
- Hoben H. & Somasegaran P. (1982). Comparison of the pour, spread and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. In inoculants made from presterilized peat. *Applied and Environmental Microbiology*. 44 (5): 1246-1247.
- Huertas M., Sáez L., Roldán M., Luque-Almagro V., Martínez-Luque M., Blaxo E., Castillo F., Moreno-Vivián C. & García-García I. (2010). Alkaline cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 in a batch reactor. Influence of pH. *Journal of Hazardous Materials*. 179: 72-78.
- Hurtado J. & Berastain A. (2012). Optimización de la bioremediación en relaves de cianuración adicionando nutrientes y microorganismos. *Revista Peruana de Biología*. 19 (2): 187-192.
- Ibrahim H. T., Qiang H., Al-Rekabi W.S. & Qiqi Y. (2012). Improvements in Biofilm Processes for Wastewater Treatment. *Pakistan Journal of Nutrition*. 11: 610-636.
- Informe Anual de Corpwatch (2007). Los secretos sucios de Barrick, comunidades responden a los impactos de las minas en todo el mundo. Corpwatch. Disponible en: www.corpwatch.org
- Jurado-Gómez H. & Guzmán-Insuasty M. (2015). Determinación de la cinética, pruebas de crecimiento y efecto de inhibición in vitro de *Lactobacillus casei* en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 23-39.
- Kaewkannetra P., Imai T., García-García F. & Chiu T. (2009). Cyanide removal from cassava mil wastewater using *Azotobacter vinelandii* TISTR 1094 with mixed microorganisms in activated sludge treatment system. *Journal of Hazardous Materials*. 172: 224-228.
- Kanayev A., Bulaev A., Semenchenko G., Kanayeva Z. & Shilmanova A. (2016). Biooxidation of Gold-Bearing Sulfide Ore and Subsequent Biological Treatment of Cyanidation Residuos. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 52 (4): 397-405.
- Kao C., Liu J., Lou H., Lin C. & Chen S. (2003). Biotransformation of cyanide to methane and ammonia by *Klebsiella oxytoca*. *Chemosphere*. 50: 1055-1061.
- Karamba K., Syed M., Shukor M. & Ahmad S.A. (2014). Effect of heavy metals on cyanide biodegradation by resting cells of *Serratia marcescens* strain AQ07. *Journal of Environmental Microbiology Toxicology*. 2 (2): 17-20.
- Karamba K., Ahmad S., Zulkharnain A., Yasid N., Khalid A. & Shukor M. (2017). Biodegradation of cyanide and evaluation of kinetic models by immobilized cells of *Serratia marcescens* strain AQ07. *International Journal Science and Technology*. 14: 1945-1958.
- Khamar Z., Makhdoumi-Kakhki & Mahmudy M. (2015). Remediation of cyanide from the gold mine tailing pond by a novel bacterial co-culture. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 99: 123-128.
- Kikot P. (2012). Tesis doctoral: Bioprecipitación de metales pesados por bacterias reductoras de sulfato aisladas de muestras ambientales. Universidad Nacional de la Plata. Argentina.
- Kim D., Chung S., Lee S. & Choi J. (2012). Relation of microbial biomass to counting units for *Pseudomonas aeruginosa*. *African Journal of Microbiology Research*. 6 (21): 4620-4622.

- Kita-Tsukamoto K., Wada M., Yao K., Nishino T. & Kogure K. (2004). Flagellar motors of marine bacteria *Halomonas* are driven by both protons and sodium ions. *Canadian journal of microbiology*. 50(5): 369-374.
- Klimek B., Fialkowska E., Kocerba-Soroka W., Fyda J., Sobezyk M. & Pajdak-Stós A. (2013). The Toxicity of Selected Trace Metals to *Lecane inermis* Rotifers Isolated from Activated Sludge. *Bull Environmental Contamination Toxicology*. 91: 330-333.
- Kutsuna R., Miyoshi-Akiyama T., Mori K., Hayashi M., Tomida J., Morita Y. & Kawamura Y. (2019). Description of *Paraclostridium bifermentans* subsp. *muricolitidis* subsp. nov., emended description of *Paraclostridium bifermentans* and creation of *Paraclostridium bifermentans* subsp. *bifermentans* subsp. nov. *Microbiology and immunology*. 63(1): 1-10.
- Kuyucak N. & Akcil A. (2013). Cyanide and removal options from effluents in gold mining and metallurgical processes. *Minerals Engineering*. 50-51:13-29.
- Logsdon M., Hagelstein K. & Mudder T. (2001). El manejo del cianuro en la extracción de oro. Consejo Internacional de Metales y Medio Ambiente. Primera impresión. Ontario, Canadá. ISBN: 1-895720-35-4.
- Lottermoser B. (2007). *Mine Wastes: Characterization, Treatment, Environmental Impacts*. Springer. Second Edition. ISBN-10: 3-540-4869-1.
- Luo J., Liu Y., Tao Q., Hou Q., Wu K., Song Y. & Li T. (2019). Successive phytoextraction alters ammonia oxidation and associated microbial communities in heavy metal contaminated agricultural soils. *Science of the Total Environment*. 664: 616-625.
- Luque-Almagro V., Huertas M., Martínez-Luque M., Moreno-Vivián C., Roldán M., García-Gil J., Castillo F. & Blasco R. (2005). Bacterial degradation of cyanide and its metal complexes under alkaline conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. 71 (2): 940-947.
- Luque-Almagro V., Moreno-Vivián C. & Dolores-Roldán M. (2016). Biodegradation of cyanide wastes from mining and jewellery industries. *Current Opinion in Biotechnology*. 38: 9-13
- Madigan, M., Martinko, J. & Parker, J. (1999). *Broke Biología de los microorganismos*. Editorial Prentice Hall International, Inc. pp. 149-177.
- Maier R., Pepper I. & Gerba C. (2009). *Environmental Microbiology*. Second Edition. Elsevier Inc. Pp. 37-54.
- Malhotra, S., Pandit, M., Kapoor, J.C. & Tyagi, D.K. (2005). Photo-oxidation of cyanide in aqueous solution by the UV/H₂O₂ process. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80(1): 13-19.
- Maniyan M., Sjahrir F., Ibrahim A. & Cass A. (2013). Biodegradation of cyanide by *Rhodococcus* UKMP-5M- *Biología*. 68 (2): 177-185.
- Marsden, J. & House, I. 1993. *The chemistry of gold extraction*. Ed. Ellis Horwood. EUA.
- Martínková L., Veselá A., Rinágelová A. & Chmátal M. (2015). Cyanide hydratases and cyanide dihydratases: emerging tools in the biodegradation and biodetection of cyanide. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99: 8875-8882.
- Mckinley, A. (2015). *La amenaza de la minería metálica en un mundo con sed*. UCA, Editores. El Salvador. ISBN: 978-99961-1-005-4.
- McQuarrie J. & Boltz J. (2016). Moving bed biofilm reactor technology: process applications, design and performance. *Water Environment Research*. 83(6): 560-575.
- Mekuto L., Ntwampe S. & Jackson V. (2015). Biodegradation of free cyanide and subsequent utilisation of biodegradation by-products by *Bacillus* consortia: optimisation using

- response surface methodology. *Environmental Science Pollutant Research*. 22: 10434-10443.
- Mekuto L., Ntwampe S. & Akcil A. (2016). An integrated biological approach for treatment of cyanidation wastewater. *Science of the Total Environment*. 571: 711-720.
- Mekuto L., Ntwampe S. K. O., & Mudumbi J. B. N. (2018). Microbial communities associated with the co-metabolism of free cyanide and thiocyanate under alkaline conditions. *3 Biotech*. 8 (93): 1-11.
- Metcalf & Eddy. (2003). *Wastewater Engineering. Treatment and Reuse*. Fourth Edition. Mc Graw Hill Education. New York, U.S.A.
- Metcalf & Eddy. (2014). *Wastewater Engineering. Treatment and Reuse Recovery*. Fifth Edition. Mc Graw Hill Education. New York, U.S.A.
- Mijaylova P., Moeller G., Bustos C., Garzón M. & Hornelas Y. (2008). Comparison of bioreactors with different kinds of submerged packed beds for domestic wastewater treatment. *Water Science and Technology*. 58 (1): 29-36.
- Mijaylova-Nacheva P., Estrada-Arriaga E. & Ramírez-Camperos E. (2014). Tecnologías para la remoción de contaminantes emergentes, nutrientes y producción de energía en aguas y lodos residuales para cuencas hidrográficas del estado de Morelos. Informe final TC1404.1. Subcoordinación de tratamiento de aguas residuales. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Ministry of Environment Ontario (2013). *Safe Drinking Water Act, 2002 and Amendment in 2006*.
- Monballiu A., Cardon N., Nguyen M., Cornelly C., Meesschaert B. & Chiang Y. (2015). Tolerance of Chemoorganotrophic Bioleaching Microorganisms to Heavy Metal and Alkaline Stresses. *Bioinorganic Chemistry and Applications*.
- Molokwane P. & Chirwa E. (2013). Modelling biological Cr (VI) reduction in aquifer microcosm column systems. *Water Science and Technology*. 67 (12): 2733-2738.
- Moraga R., Merino C. & Mondaca M. (2003). Resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de la bahía de Iquique. *Investigaciones Marinas Valparaíso*. 3 (1): 91-95.
- Moradkhani M., Yaghmaei, S. & Nejad, Z. G. (2018). Biodegradation of Cyanide under Alkaline Conditions by a Strain of *Pseudomonas putida* Isolated from Gold Mine Soil and Optimization of Process Variables through Response Surface Methodology (RSM). *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 62 (3): 265–273.
- Moreno-Casco J. & Moral-Herrero R. (2007). *Compostaje*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. ISBN:12-978-84-8476-346-8.
- Morillo-Mendoza J., & Guevara-Gonzales, J. (2015). Degradación de cianuro de sodio por *Pseudomonas sp.* a dos temperaturas y tres pH. *Revista Científica de Estudiantes*. 1 (3): 23–32.
- Muñoz R., Alvarez M., Muñoz A., Terrazas E., Guieysse B. & Mattiasson, B. (2006). Sequential removal of heavy metals ions and organic pollutants using an algal-bacterial consortium. *Chemosphere*. 63 (6): 903-911.
- National Wildlife Health Center (1999). *Field Manual of Wildlife Diseases: Birds*. Chapter 46 Cyanide. Imagen: Schematic of a typical heap leach system. pg. 341 Dirección electrónica:
http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/field_manual_of_wildlife_diseases.pdf. Washington, D.C. Estados Unidos de América
- Nava-Urrego L., Gasperín-Sánchez R. & Durán-Moreno A. (2014). Comparación de un reactor de biomasa suspendida y un reactor de biomasa adherida para la

- biodegradación de compuestos tóxicos presentes en aguas residuales de refinerías de petróleo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 30 (1): 101-112.
- NJHealth (2017). Hoja Informativa sobre sustancias peligrosas. New Jersey Department of Health. Consultado en octubre de 2017. Disponible en: <http://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1013sp.pdf>
- NMX-AA-034-SCFI-2015. Análisis de agua. Medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. Diario Oficial de la Federación. México.
- NMX-AA-051-SCFI-2016. Análisis de agua. Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. Diario Oficial de la Federación. México.
- NMX-AA-058-SCFI-2000. Análisis de agua. Determinación de cianuros totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. Diario Oficial de la Federación. México.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Norma Oficial Mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en agua y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación. México.
- NOM-002-SEMARNAT-1996. Norma Oficial Mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Diario Oficial de la Federación. México.
- NOM-003-SEMARNAT-1997. Norma Oficial Mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. Diario Oficial de la Federación. México.
- NOM-052-SEMARNAT-2005. Norma Oficial Mexicana que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. Diario Oficial de la Federación. México.
- NOM-092-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la Federación. México.
- NOM-110-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana, bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Diario Oficial de la Federación. México.
- NOM-127-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación. México.
- Núñez S. (2014). Tesis doctoral: Estimación y control de procesos biotecnológicos multivariados. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.
- OCDE (1992) Guidelines for the Testing of Chemicals. Organization for Economic Cooperation and Development. París, Francia.
- Olivas E. & Alarcón L. (2004). Manual de prácticas de microbiología básica y microbiología de alimentos: Programa de nutrición. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Academia de Microbiología y Parasitología. ISBN: 9687845287.
- Oliveira M., Reis E. & Nozaki J. (2001). Biological treatment of wastewater from the cassava meal industry. *Environmental Research*. 85: 177-183
- Ortiz-Sayavedra K. & Tejeda-Gil A. (2018). Tesis de licenciatura: Pruebas de biodegradabilidad de relaves mineros producto de la cianuración en la extracción de Au y Ag. Universidad Popular Autónoma de Puebla. Puebla. Puebla.

- Oswald, F., Zwick, M., Omar, O., Hotz, E. N., & Neumann, A. (2018). Growth and product formation of *Clostridium ljungdahlii* in presence of cyanide. *Frontiers in microbiology*. 9 (1213): 1-12.
- Park J., Trevor B. & Benedik M. (2017). Cyanide bioremediation: the potential of engineered nitrilases. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 101: 3029-3042.
- Parmar P., Soni A. & Desai P. (2013). Enzymatic study of cyanide utilizing *Pseudomonas* species isolated from contaminated soil. *Journal of Scientific and Innovative Research*. 2 (6): 1058-1066.
- Pepper I., Gerba C. & Gentry T. (2015). *Environmental Microbiology*. Third edition. Elsevier Inc. pp. 37-56.
- Péquignot C., Larroche C. & Gros J. (1998). A spectrophotometric method for determination of bacterial biomass in the presence of a polymer. *Biotechnology Technique*. 12 (12): 899-903.
- Pérez-Bou L., Salgado-Bernal I., Larrea-Duarte C., Martínez-Sardiñas A., Cruz-Arias M. E. & Carballo-Valdés M. E. (2018). Biosorption of heavy metals: characteristics of the process. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*. 6 (1): 1-12. ISSN: 2307-695X.
- Podder M. & Majumder C. (2017). A comparative investigation on the inhibition kinetics of bioaccumulation of As (III) and As (V) ions using *Bacillus arsenicus* MTCC 4380. *Ecology & Hydrobiology*. 17: 148-163.
- Quan F., Yuxiao W., Tianmin W., Hao Z., Libing C., Chong Z., Hongzhang C., Xiuqin K. & Xin-Hui X. (2012). Effects of packing rates of cubic-shaped polyurethane foam carriers on the microbial community and the removal of organics and nitrogen in moving bed biofilm reactors. *Bioresource Technology*. 117: 301-207.
- Quintero E. J., Langille S. E. & Weiner R. M. (2001). The polar polysaccharide capsule of *Hyphomonas adhaerens* MHS-3 has a strong affinity for gold. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 27(1): 1-4.
- Quispe L., Arteaga M., Cárdenas E., López L., Santelices C., Palenque E. & Cabrera S. (2011). Eliminación de cianuro mediante sistema combinado UV/H₂O₂/TiO₂. *Revista Boliviana de Química*. 28 (2): 113-118. ISSN: 0250-5460.
- Radhika V., Subramanian S. & Natarajan K. (2006). Bioremediation of zinc using *Desulfotomaculum nigrificans*: Bioprecipitation and characterization studies. *Water Research*. 40: 3628-3636.
- Ramírez A. (2010). Toxicidad del cianuro. Investigación bibliográfica sobre los efectos en animales y en el hombre. *Anales de la Facultad de Medicina*. UNMSM, Facultad de Medicina, Perú. 71 (1): 54-61.
- Ramírez-Cardoso J. (2015). Tesis licenciatura: Estudio del efecto de ozonación en la estabilización del cianuro presente en relaves de la industria minera de Au y Ag. Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Puebla. México.
- Ramírez-Díaz M., Díaz-Pérez C., Vargas E., Riveros-Rosas H., Campos-García J. & Cervantes C. (2008). Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. *Biometals*. 21: 321-332.
- Ramírez N., Serrano J. & Sandoval H. (2006). Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 37 (3): 56-71.
- Ramos-García (2016). Tesis maestría: Oxidación fotocatalítica como alternativa de tratamiento de aguas residuales del proceso de extracción de oro con cianuro. Universidad Nacional de Colombia. Manizales. Colombia.

- Rathi M. & Yogalakshmi K. N. (2021). *Brevundimonas diminuta* MYS6 associated *Helianthus annuus* L. for enhanced copper phytoremediation. *Chemosphere*. 263: 128195.
- Razanamahandry L., Anderson H., Karoui H., Marcelin K. & Yacouba H. (2016). Biodegradation of free cyanide by bacterial species isolated from cyanide-contaminated artisanal gold mining catchment area in Burkina Faso. *Chemosphere*. 157: 71-78.
- Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (BOE). 219.
- Restrepo O., Montoya C. & Muñoz N. (2006). Microbial degradation of cyanide from gold metallurgical plants utilizing *P. fluorecens*. *Dyuna*. 73 (143): 45-51. ISSN: 0012-7353.
- Rittman B. & McCarty. (2001). *Biología del Medio Ambiente Principios y Aplicaciones*. Editorial Mc-Graw Hill. Madrid, España.
- Rodríguez R., Oldecop L., Linares R. & Salvado V. (2009). Los grandes desastres medioambientales producidos por la actividad minero-metalúrgica a nivel mundial: causas y consecuencias ecológicas y sociales. *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG*. 12 (24): 7-25. ISSN: 1561-0888.
- Rodríguez-Santiago B. & Armengol L. (2012). Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre- y postnatal. *Diagnóstico Prenatal*. 23 (2): 56-66.
- Rojano L. (2020). Tesis maestría: Síntesis y caracterización de adsorbentes minerales de Fe, Mn, Al para la remoción de selenio en el agua de relave. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Rosas-Rodríguez J. (2017). Tesis de maestría: Identificación de bacterias halófitas tolerantes a metales pesados. Universidad Autónoma del Estado de México. Estado de México. México.
- Rusten B., Eikebrokk B., Ulgenes Y. & Lygren E. (2006). Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Engineering*. 34: 322-331.
- Santos B., Obed-Ntwampe S. & Hamuel-Doughari J. (2013). Continues Biotechnological Treatment of Cyanide Contaminated Waters by Using a Cyanide Resistant Species of *Aspergillus awamori*. *INTECH*. 123-146.
- Secretaría de Economía (2016a). Minería Mundial, Servicio Geológico Mexicano Acceso: Enero, 2017. Disponible en: <http://portalweb.sgm.gob.mx/economia/es/mineria-mundial.html>
- Secretaría de Economía (2016b). Minería México, Servicio Geológico Mexicano Acceso: Enero, 2017. Disponible en: <http://portalweb.sgm.gob.mx/economia/es/mineria-en-mexico.html>
- Sengupta S. (2014). Polymerase chain reaction (PCR) method. *Salem Press Encyclopedia of Health*.
- Shehong L., Baoshan Z., Jianming Z. & Xiaoying Y. (2005). The distribution and natural degradation of cyanide in goldmine tailings and polluted soil in arid and semiarid areas. *Environmental Geochemistry*. 47: 1150-1154.
- Silva-Luna C.D. (2011). Tesis doctoral: Estudio fisiológico de la nitrificación y oxidación del p-cresol en un consorcio nitrificante. Universidad Autónoma Metropolitana. México.

- Smith, A. & Mudder, T. (1991). The chemistry and treatment of cyanidation wastes. Chapters 1, 2, 5 and 6. London, England: Mining Journal Books Limited, EUA.
- Smith-Nava H. (2016). Tesis maestría: Tratamiento de aguas residuales de plataformas marinas habitacionales mediante sistemas con biomasa inmovilizada. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Srinandan C., D'souza G., Srivastava N., Nayak B. & Nerurkar A. (2012). Carbon sources influence the nitrate removal activity, community structure and biofilm architecture. *Bioresource Technology*. 117: 292-299.
- Stasinakis A., Mamais D., Nikolaos S., Thomaidis N. & Lekkas T. (2002). Effect of chromium (VI) on bacterial kinetics of heterotrophic biomass of activated sludge. *Water Research*. 36: 3341-3349.
- Stasinakis A., Thomaidis N., Mamais D. & Lekkas T. (2004). Investigation of Cr (VI) reduction in continuous-flow activated sludge systems. *Chemosphere*. 57: 1069-1077.
- Suazo-Madrid E. A., Morales-Barrera L., Cristiani-Urbina M. C. & Cristiani-Urbina E. (2010). Effect of pH on nickel (II) biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 2010. 41:1-12.
- Tejeda-Tovar C., Villabona-Ortiz A. & Garcés-Jarabe L. (2014). Adsorption of heavy metals in waste water using biological materials. *Tecno Lógicas*. 18 (34): 109-123. ISSN: 0123-7799.
- Teramoto M., Suzuki M., Okazaki F., Hatmanti A. & Harayama S. (2009). Oceanobacter-related bacteria are important for the degradation of petroleum aliphatic hydrocarbons in the tropical marine environment. *Microbiology*. 155(10): 3362-3370.
- Torres-Borjorges A. (2012). Tesis de doctorado: Degradación de isómeros de nonilfenol por medio de un consorcio nitrificante en un reactor de membrana sumergida. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Truque, P. (2011). Armonización de los estándares de agua potable en las Américas. Organización de Estados Americanos, Washinton, D.C. EE. UU.
- Tuya J. (2014). Tesis de licenciatura: Evaluación de la capacidad degradativa de cianuro por bacterias alcalófilas aisladas de los relaves de la planta concentradora de metales mesapata cáta-c-ancash. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.
- Vacková L., Stloukal R. & Wanner J. (2012). Determination of low concentration of *Paracoccus denitrificans* encapsulated in polyvinyl alcohol LentiKat's pellets. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 94: 1359-1364.
- Vázquez-Rodríguez G. & Beltrán-Hernández R. (2004). Pruebas normalizadas para la evaluación de la biodegradabilidad de sustancias químicas. *Interciencia*. 29 (10): 568-573.
- Vázquez-Rodríguez G., Palluy F., Goma G. & Rols J. (1999). Procedures in ready biodegradability testing: effects of the inoculation and the monitored parameter. *Environmental Technology*. 20: 301-308.
- Vesilind P. (2003). *Wastewater Treatment Plant Design*. IWA Publishing.
- Vincent, S., Dale, C., Young, B., Laliberté, M. & Pouzenc, A. (2016). Gold mine effluent treatment: cyanide compounds and total nitrogen biodegradation using moving bed biofilm reactor. *Proceedings of the Water Environment Federation*. 2016 (7): 5636-5651.
- Villegas-Mendoza (2011). Tesis de maestría: Influencia de parámetros hidráulicos y fisicoquímicos en la eficiencia de remoción de sílice mediante un sistema de

- electrocoagulación. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- Villemur R., Juteau P., Bougie V., Ménard J. & Déziel E. (2015). Development of four-stages moving bed biofilm reactor train with a pre-denitrification configuration for the removal of thicyanate and cyanate. *Bioresource Technology*. 181: 254-262.
- Wu C-F, Xu X-M, Zhu Q, Deng M-C, Feng L, Peng J, Yuan J-P & Wang J-H. (2014). An effective method for the detoxification of cyaniderich wastewater by *Bacillus* sp. CN-22. *Applied Microbiology Biotechnology*. 98: 3801–3807
- Wuertz S., Bishop P. & Wilderer P. (2008). *Biofilms in Wastewater Treatment. An Interdisciplinary Approach*. IWA Publishing. London, U.K.
- Xu Jin., Xian-Chong Song, Qian Zhang, Hong Pan, Yu Liang, Xian-Wei Fan & You-Zhi Li (2011). Characterization of metal removal of immobilized *Bacillus* strain CR7 biomass from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials* 187 (1-3): 450–458.
- Yang, C. X., Liu, Y. P., Bao, Q. H., Feng, F. Y., Liu, H. R., Zhang, X. J., & Zhao, Y. L. (2012). *Mongoliitalea lutea* gen. nov., sp. nov., an alkaliphilic, halotolerant bacterium isolated from a haloalkaline lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 62(3): 647-653.
- Young C. & Jordan T. (1995). Cyanide remediation: current and past technologies. In *Proceedings of the 10th Annual Conference on Hazardous Waste Research* (pp. 104-129). Kansas State University: Manhattan, KS.
- Zalakain G. & Manterola G. (2011). Procesos avanzados de biomasa fija sobre lecho móvil para el tratamiento de aguas residuales en la industria farmacéutica. *Industria Farmacéutica*. 166: 98-101.
- Zhang J., Yang G., Zhou S., Wang, Y., Yuan Y. & Zhuang, L. (2013). *Fontibacter ferrireducens* sp. nov., an Fe (III)-reducing bacterium isolated from a microbial fuel cell. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 63(3): 925-929.
- Zhao Y., Yuan Q. He Z. Wang H., Yan G., Chang Y, Chu Z., Ling Y. & Wang H. (2019). Influence of Carrier Filling Ratio on the Advanced Nitrogen Removal from Wastewater Treatment Plant Effluent by Denitrifying MBBR. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 16 (3244): 1-12.
- Zhao X., Chen L., Ren Q., Wu Z., Fang S., Jiang Y. & Zhang, G. (2021). Potential Applications in Sewage Bioremediation of the Highly Efficient Pyridine-Transforming *Paenochrobactrum* sp. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 57(3): 344-350.
- Zhe-Hao L., Chun-Ling L., Xiang- Zheng J. & Qiang L. (2013). Deep treatment method for cyanide-containing waste water of tailings pond in gold industry. Patente número CN103253834A. Otorgada 21 de agosto, 2013. China.
- Zhe-Xue Q., Jin-Woo B., Sung-Keun R., Young-Gyun C. & Sung-Taik L. (2004). Toxicity and degradation of metal-complexed cyanide by a bacterial consortium under sulfate-reducing conditions. *Biotechnology Letters*. 1007-1011.
- Zhue Y., Zhang Y., Ren H., Geng J., Xu K., Huang H. & Ding L. (2015). Physicochemical characteristics and microbial community evolution of biofilms during the start-up period in a moving bed biofilm reactor. *Bioresource Technology*. 180: 345-351.
- Zuluaga M. & Hernández-Roldán D. (2020). Tesis de maestría: Tratamiento de cianuro a escala piloto (1.0 m³/día) de relaves de la industria minera de Au y Ag por medio de

oxidación con ozono y proceso fisicoquímico. Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. México.

7 ANEXOS

6.1 ANEXO I- Determinación de cianuro



Figura 7-1. Desarrollo de color en las curvas de calibración para la medición de cianuro mediante espectrofotometría



Figura 7-2. Destilación por reflujo de muestras cianuradas

Tabla 7-1. Curva de calibración por espectrofotometría ($0.02-0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Concentración de cianuro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Absorbancia (578 nm)			
	1	2	3	Promedio
0.02	0.077	0.079	0.080	0.123
0.04	0.168	0.168	0.168	0.168
0.08	0.301	0.300	0.299	0.300
0.12	0.466	0.467	0.468	0.467
0.16	0.632	0.631	0.631	0.631
0.2	0.728	0.727	0.727	0.727

Tabla 7-2. Curva de calibración por espectrofotometría (1-20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Concentración de cianuro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Absorbancia (578 nm)			
	1	2	3	Promedio
1	0.623	0.624	0.624	0.624
5	0.809	0.810	0.811	0.810
10	1.104	1.103	1.106	1.104
15	1.395	1.440	1.406	1.414
20	1.663	1.676	1.684	1.674
200	3.535	3.467	3.336	3.446

Tabla 7-3. Curva de calibración por espectrofotometría (20-200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Concentración de cianuro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Absorbancia (578 nm)			
	1	2	3	Promedio
20	1.977	1.977	1.968	2.023
25	2.194	2.161	2.099	2.151
50	2.307	2.307	2.309	2.308
100	2.668	2.650	2.629	2.649
150	3.029	3.042	3.047	3.039
200	3.535	3.467	3.336	3.446

Tabla 7-4. Curva de calibración con ISE (0.02-0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Concentración de cianuro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Concentración de cianuro ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	[M]	$-\log$ [M]	Potencial REDOX (mV)
0.025	0.000025	9.6E-07	6.02	28.1
0.04	0.00004	1.5E-06	5.81	19.9
0.08	0.00008	3.1E-06	5.51	5.1
0.12	0.00012	4.6E-06	5.34	-2.8
0.16	0.00016	6.1E-06	5.21	-9.4
0.2	0.0002	7.7E-06	5.11	-15.8

Tabla 7-5. Resultados de la validación del uso del ISE y espectrofotómetro

Concentración teórica de cianuro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Concentración de cianuro con espectrofotómetro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Concentración de cianuro con ISE ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Potencial REDOX (mV)
Muestra destilada			
2.5	1.90	3	-117.7
5	3.79	5	-136.4
7.5	5.58	7	-157
10	7.48	9	-164.3

Concentración teórica de cianuro (mg·L ⁻¹)	Concentración de cianuro con espectrofotómetro (mg·L ⁻¹)	Concentración de cianuro con ISE (mg·L ⁻¹)	Potencial REDOX (mV)
Muestra sin destilar			
2.5	-	3	-134.2
5	-	6	-156.8
7.5	-	8	-168.3
10	-	10	-180.1

Tabla 7-6. Validación de lecturas destiladas (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo)

Concentración de cianuro con agua tipo I (mg·L ⁻¹)	Espectrofotómetro (mg·L ⁻¹)	Potenciómetro con ISA (mg·L ⁻¹)	Potenciómetro sin ISA (mg·L ⁻¹)
1	0.99	1.00	1.15
2.5	2.51	2.53	2.64
5	5.10	4.98	5.39
15	15.01	15.12	15.48
30	30.00	30.15	30.54
50	50.03	50.10	50.58

Tabla 7-7. Validación de lecturas sin destilar (espectrofotómetro y electrodo de ion selectivo)

Concentración de cianuro con agua tipo I (mg·L ⁻¹)	Espectrofotómetro (mg·L ⁻¹)	Potenciómetro con ISA (mg·L ⁻¹)	Potenciómetro sin ISA (mg·L ⁻¹)
1	1.01	1.01	1.13
2.5	2.53	2.53	2.64
5	5.11	4.98	5.39
15	15.01	15.15	15.38
30	29.99	30.15	30.04
50	50.01	50.20	50.28

6.2 ANEXO II- Obtención de microorganismos (localización de sitios de muestreo)

Tabla 7-8. Ubicación de puntos de muestreo

Nombre de la muestra	Ubicación	Coordenadas	
		Y	X
AL01	Río Atoyac, Puebla	2109405.60	589687.60
AL02		2106388.40	588708.40
AL03		2105429.30	587397.54
AL05		2104626.39	586612.04
AL06		2100688.24	585841.00

Nombre de la muestra	Ubicación	Coordenadas	
		Y	X
AL07		20991199.66	585643.57
AL08		2095676.62	585571.72
AL09		2106017.77	588330.16
AL10		2107741.92	588906.49
AL11		2105677.98	587981.01
AL12		2098504.90	585646.41
AL13		2113298.06	599428.23
ALV01	Presa Manuel Ávila Camacho, Puebla	2093682.72	586458.42
ALV02		2090394.06	586532.22
ALV03		2093249.82	585904.66
Mina	Mina "El Cubo"	2323435.86	273147.22

6.3 ANEXO III- Curvas de crecimiento microbiano

Tabla 7-9 Curva de crecimiento de microorganismos

Tiempo (h)	Medio mineral	Caldo peptonado
1	0.221	0.241
2	0.224	0.238
3	0.217	0.243
4	0.261	0.217
5	0.285	0.263
6	0.307	0.463
7	0.330	0.471
8	0.488	0.540
9	0.543	0.786
10	0.589	0.812
11	0.679	0.889
12	0.701	0.954
13	0.717	1.165
14	0.771	1.204
15	0.799	1.185
16	0.888	1.133
17	0.918	1.149
18	1.059	1.131
19	1.068	1.226
20	1.095	1.183
21	1.088	1.126
22	1.068	1.101
23	0.954	1.054

Tiempo (h)	Medio mineral	Caldo peptonado
24	0.906	1.023

6.4 ANEXO IV- Cuento de microorganismos

Tabla 7-10. Medición de la densidad óptica (Absorbancia 600 nm)

Medio mineral					Caldo peptonado				
Muestra/ Dilución	1	2	3	P	Muestra/ Dilución	1	2	3	P
10^{-1}	0.377	0.380	0.376	0.378	10^{-1}	0.649	1.082	1.589	1.107
10^{-2}	0.343	0.197	0.180	0.240	10^{-2}	0.642	0.475	1.383	0.833
10^{-3}	0.130	0.130	0.126	0.129	10^{-3}	0.613	0.628	1.375	0.872
10^{-4}	0.115	0.093	0.096	0.101	10^{-4}	0.578	0.559	0.994	0.710
10^{-5}	0.086	0.089	0.085	0.087	10^{-5}	0.574	0.490	0.848	0.637
10^{-6}	0.075	0.077	0.062	0.071	10^{-6}	0.524	0.485	0.822	0.610
10^{-7}	0.055	0.056	0.059	0.057	10^{-7}	0.314	0.409	0.614	0.446
10^{-8}	0	0	0	0	10^{-8}	0	0	0	0

*P-Promedio

Tabla 7-11. Medición de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC· mL⁻¹)

Medio mineral					Caldo peptonado				
Muestra/ Dilución	1	2	3	P	Muestra/ Dilución	1	2	3	P
10^{-1}	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	10^{-1}	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
10^{-2}	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	10^{-2}	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
10^{-3}	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	10^{-3}	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
10^{-4}	1.00E+08 [¥]	6.91E+07 [¥]	1.01E+08 [¥]	9.00E+07	10^{-4}	8.05E+07 [¥]	MNPC	6.19E+07 [¥]	7.12E+07
10^{-5}	5.84E+06	7.22E+06	6.83E+06	6.63E+06	10^{-5}	1.02E+07	8.26E+06	5.84E+06	8.10E+06
10^{-6}	1.73E+05	1.51E+06	2.16E+06	1.28E+06	10^{-6}	1.56E+06	1.47E+06	2.68E+06	1.90E+06
10^{-7}	1.30E+05	2.60E+05	2.16E+05	2.02E+05	10^{-7}	1.73E+05	4.33E+05	2.60E+05	2.89E+05
10^{-8}	0	0	0	0	10^{-8}	0	0	0	0

*P-Promedio, MNPC- Muy Numerosas para Contar, ¥- Valor estimado

Tabla 7-12. Medición de los Sólidos Suspendedos Totales (mg·L⁻¹)

Medio mineral					Caldo peptonado				
Muestra/ Dilución	1	2	3	P	Muestra/ Dilución	1	2	3	P
10^{-1}	300	380	280	300	10^{-1}	159	260	290	236
10^{-2}	170	290	180	170	10^{-2}	150	140	250	180
10^{-3}	130	150	130	130	10^{-3}	130	138	180	149
10^{-4}	120	115	128	120	10^{-4}	129	130	150	136
10^{-5}	80	100	75	80	10^{-5}	80	110	90	93
10^{-6}	60	67	50	60	10^{-6}	60	89	73	74

10^{-7}	30	50	40	30	10^{-7}	20	45	60	42
10^{-8}	0	0	0	0	10^{-8}	0	0	0	0

*P-Promedio

6.5 ANEXO V- Ilustraciones conteo de microorganismos

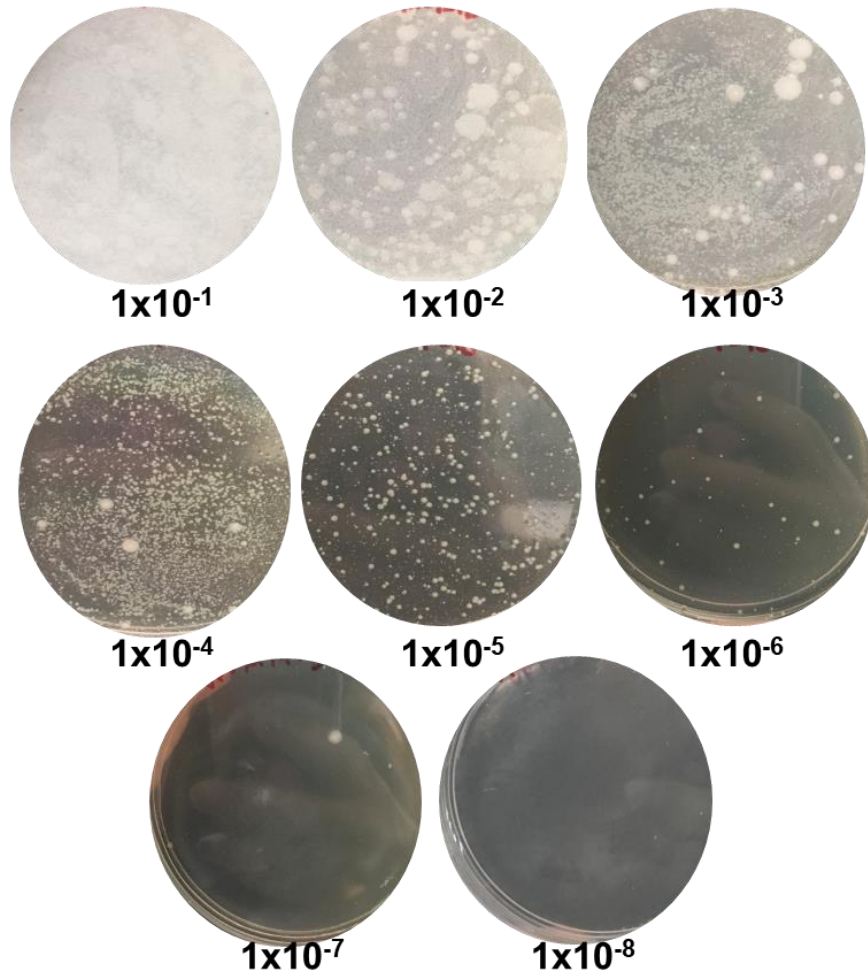


Figura 7-3. Crecimiento de microorganismos en medio mineral

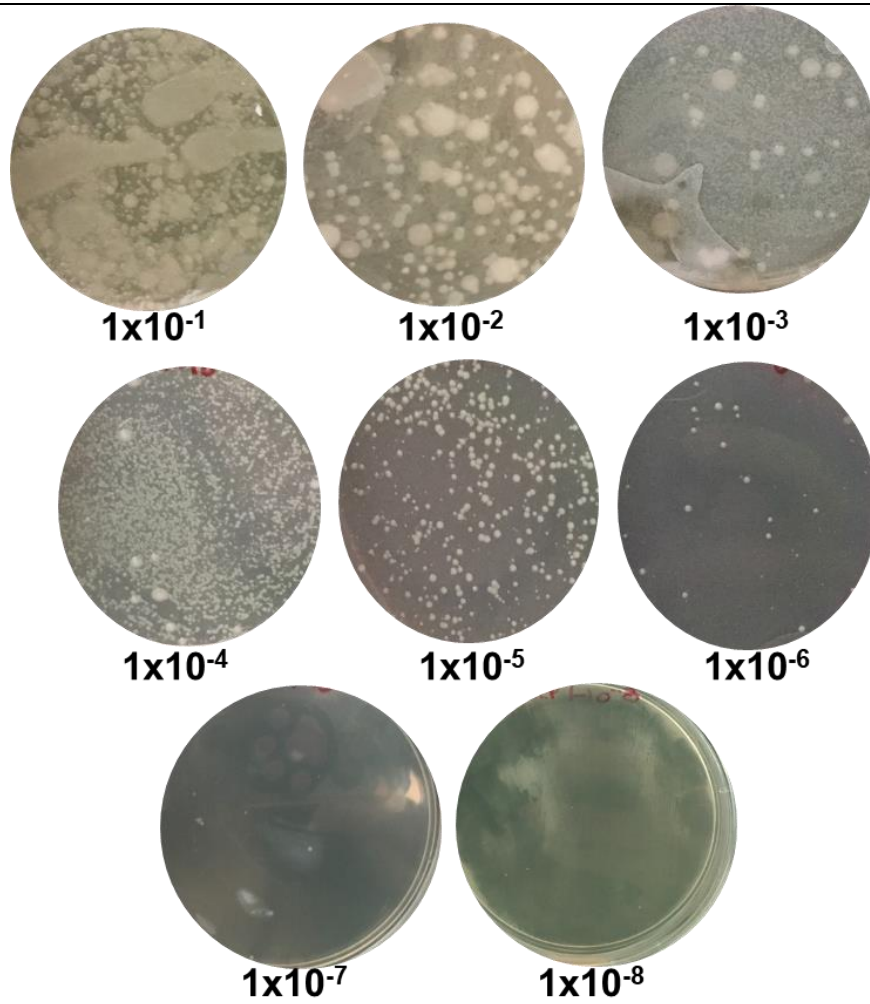


Figura 7-4. Crecimiento de microorganismos en caldo peptonado

6.6 ANEXO VI- Pruebas de biodegradabilidad y evaluación de inóculos

Fecha	Día de operación	CVSP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	MC0 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	MC10 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
03/09/2018	0	11.90	0	11.50	0	11.80	0
04/09/2018	1	11.80	1	11.35	1	10.00	15
05/09/2018	2	11.75	1	10.85	6	9.05	23
06/09/2018	3	11.60	3	10.10	12	8.30	30
07/09/2018	4	11.50	3	9.80	15	6.81	42
10/09/2019	7	11.40	4	9.53	17	6.51	45
11/09/2019	8	11.70	2	9.48	18	6.44	45
12/09/2019	9	11.90	0	9.32	19	6.25	47
13/09/2019	10	11.50	3	9.20	20	6.20	47
14/09/2019	11	11.80	1	9.10	21	5.82	51
17/09/2019	14	11.90	0	8.54	26	5.69	52
18/09/2019	15	11.30	5	7.81	32	5.46	54
19/09/2019	16	11.90	0	7.57	34	5.22	56
20/09/2019	17	11.20	6	7.43	35	5.08	57
21/09/2019	18	12.00	0	7.42	35	4.92	58
24/09/2019	21	11.80	1	7.09	38	4.74	60
25/09/2019	22	11.70	2	7.00	39	4.60	61
26/09/2019	23	12.10	0	6.98	39	4.19	64
27/09/2019	24	12.00	0	6.50	43	3.65	69
28/09/2019	25	11.90	0	6.45	44	3.10	74
01/10/2019	28	11.80	1	5.12	55	2.77	77
02/10/2019	29	12.00	0	5.07	56	2.32	80

Tabla 7-13. *Coefficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN como única fuente de carbono*

[CN] (mg·L ⁻¹)	Orden cero	Primer orden	Segundo orden	Monod
15	y=-0.189x+7.5208 R ² =0.64	y=-0.0391x-0.5824 R ² =0.84	y=0.009x+0.1272 R ² =0.96	y=9.3858x+0.8176 R ² =0.97
20	y = -0.255x + 10.589 R ² = 0.69	y = -0.0383x -0.4817 R ² = 0.87	y = 0.0069x + 0.0785 R ² = 0.85	y=11.701x+0.7276 R ² =0.98
30	y = -0.364x + 16.603 R ² = 0.70	y = -0.0321x -0.4591 R ² = 0.87	y = 0.0031x + 0.0567 R ² = 0.96	y=14.991x+0.6262 R ² =0.98
50	y = -0.4977x + 32.209 R ² = 0.68	y = -0.0196x -0.3917 R ² = 0.82	y = 0.0008x + 0.0306 R ² = 0.90	y=37.878x+0.9905 R ² =0.91

Tabla 7-14. *Coefficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN+C₂H₃NaO₂ como fuentes de carbono*

[CN] (mg·L ⁻¹)	Orden cero	Primer orden	Segundo orden	Monod
15	y = -0.1854x + 7.1619 R ² = 0.60	y = -0.042x - 0.6247 R ² = 0.87	y = 0.0116x + 0.1194 R ² = 0.96	y=7.6464x+0.7582 R ² =0.97
20	y = -0.2638x + 10.604 R ² = 0.73	y = -0.0414x -0.4437 R ² = 0.92	y = 0.0077x + 0.0726 R ² = 0.93	y=9.6101x+0.5464 R ² =0.96
30	y = -0.3807x + 18.116 R ² = 0.73	y = -0.0308x -0.4242 R ² = 0.89	y = 0.0027x + 0.0507 R ² = 0.95	y=15.574x+0.6101 R ² =0.93
50	y = -0.5234x + 31.681 R ² = 0.76	y = -0.0217x -0.3355 R ² = 0.88	y = 0,0009x + 0.0306 R ² = 0.95	y=33.79x+0.8998 R ² =0.96

Tabla 7-15. *Coefficientes por diferentes modelos cinéticos para medios preparados con CN+ C₆H₁₂O₆ como fuentes de carbono*

[CN] (mg·L ⁻¹)	Orden cero	Primer orden	Segundo orden	Monod
15	y = -0.2754x + 9.3264 R ² = 0.57	y = -0.0527x - 0.5574 R ² = 0.83	y = 0.014x + 0.0812 R ² = 0.88	y=4.188x+0.0065 R ² =0.78

[CN ⁻] (mg·L ⁻¹)	Orden cero	Primer orden	Segundo orden	Monod
20	$y = -0.3548x + 12.325$ $R^2 = 0.70$	$y = -0.0534x - 0.4865$ $R^2 = 0.92$	$y = 0.0102x + 0.0537$ $R^2 = 0.98$	$y = 4.8665x + 0.0846$ $R^2 = 0.96$
30	$y = -0.8002x + 27.747$ $R^2 = 0.74$	$y = -0.0521x - 0.248$ $R^2 = 0.8598$	$y = 0.0041x + 0.0306$ $R^2 = 0.94$	$y = 5.9305x + 0.0639$ $R^2 = 0.77$
50	$y = -1.0407x + 45.759$ $R^2 = 0.87$	$y = -0.0364x - 0.1109$ $R^2 = 0.96$	$y = 0.0014x + 0.018$ $R^2 = 0.98$	$y = 13.315x + 0.0099$ $R^2 = 0.89$

6.7 ANEXO VII- Concentración de cianuro en pruebas de inhibición

Tabla 7-16. Concentración y remoción de 15 mg CN · L⁻¹ inicial en pruebas de inhibición

Fecha	Tiempo operación (d)	CV (mg·L ⁻¹)	Bio- degradación (%)	CV (2) (mg·L ⁻¹)	Bio- degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio- degradación (%)	SP (2) (mg·L ⁻¹)	Bio- degradación (%)
21/01/2019	0	14.00	0.00	14.00	0.00	14.30	0.00	12.40	0.00
22/01/2019	1	13.35	4.64	13.97	0.21	8.91	37.69	7.78	37.26
23/01/2019	2	14.01	0.00	13.71	2.07	8.84	38.18	7.15	42.34
24/01/2019	3	13.90	0.71	13.80	1.43	7.09	50.42	6.10	50.81
25/01/2019	4	13.40	4.29	13.71	2.07	6.36	55.52	5.37	56.69
28/01/2019	7	13.80	1.43	13.60	2.86	6.97	51.26	4.01	67.66
29/01/2019	8	13.69	2.21	13.43	4.07	5.10	64.34	3.92	68.39
30/01/2019	9	13.65	2.50	13.67	2.36	4.91	65.66	3.75	69.76
31/01/2019	10	13.90	0.71	13.90	0.71	4.68	67.27	3.55	71.37
01/02/2019	11	14.30	0.00	14.50	0.00	4.46	68.81	3.44	72.26
05/02/2019	15	13.78	1.57	13.95	0.36	4.28	70.07	3.04	75.48
06/02/2019	16	14.50	0.00	13.68	2.29	3.96	72.31	2.91	76.53
07/02/2019	17	13.77	1.64	13.96	0.29	3.66	74.41	2.84	77.10
11/02/2019	21	14.10	0.00	14.00	0.00	3.48	75.66	2.76	77.74

Fecha	Tiempo operación (d)	CV (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	CV (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
12/02/2019	22	13.77	1.64	14.17	0.00	3.44	75.94	2.74	77.90
14/02/2019	24	14.38	0.00	13.55	3.21	3.28	77.06	2.73	77.98
15/02/2019	25	13.75	1.79	14.30	0.00	3.06	78.60	2.62	78.87
19/02/2019	29	14.10	0.00	14.30	0.00	3.01	78.95	2.40	80.65
20/02/2019	30	13.70	2.14	14.00	0.00	3.00	79.02	2.25	81.85
21/02/2019	31	13.60	2.86	13.75	1.79	2.95	79.37	2.22	82.10
22/02/2019	32	14.50	0.00	13.50	3.57	2.92	79.58	1.80	85.48
25/02/2019	35	13.68	2.29	13.67	2.36	2.25	84.27	1.18	90.48

Tabla 7-17. Concentración y remoción de 15 mg CN · L⁻¹ inicial en pruebas de inhibición (continuación)

Fecha	Tiempo operación (d)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
21/01/2019	0	14.00	0.00	14.00	0.00	15.80	0.00
22/01/2019	1	13.35	4.64	13.97	0.21	14.80	6.33
23/01/2019	2	14.01	0.00	13.71	2.07	13.00	17.72
24/01/2019	3	13.90	0.71	13.80	1.43	5.46	65.44
25/01/2019	4	13.40	4.29	13.71	2.07	5.45	65.51
28/01/2019	7	13.80	1.43	13.60	2.86	5.11	67.66
29/01/2019	8	13.69	2.21	13.43	4.07	5.00	68.35
30/01/2019	9	13.65	2.50	13.67	2.36	4.70	70.25
31/01/2019	10	13.90	0.71	13.90	0.71	4.56	71.14
01/02/2019	11	14.30	0.00	14.50	0.00	3.50	77.85
05/02/2019	15	13.78	1.57	13.95	0.36	3.40	78.48
06/02/2019	16	14.50	0.00	13.68	2.29	3.40	78.48
07/02/2019	17	13.77	1.64	13.96	0.29	3.07	80.57

Fecha	Tiempo operación (d)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
11/02/2019	21	14.10	0.00	14.00	0.00	3.05	80.70
12/02/2019	22	13.77	1.64	14.17	0.00	3.04	80.76
14/02/2019	24	14.38	0.00	13.55	3.21	2.55	83.86
15/02/2019	25	13.75	1.79	14.30	0.00	2.43	84.62
19/02/2019	29	14.10	0.00	14.30	0.00	2.35	85.13
20/02/2019	30	13.70	2.14	14.00	0.00	2.31	85.38
21/02/2019	31	13.60	2.86	13.75	1.79	2.31	85.38
22/02/2019	32	14.50	0.00	13.50	3.57	1.59	89.94
25/02/2019	35	13.68	2.29	13.67	2.36	1.37	91.33

Tabla 7-18. Concentración y remoción de 20 mg CN · L⁻¹ inicial en pruebas de inhibición

Fecha	Tiempo operación (d)	CVSP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	CVSPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
21/01/2019	0	23.10	0.00	20.00	0.00	16.80	0.00	18.10	0.00
22/01/2019	1	22.50	2.60	20.20	0.00	13.30	20.83	12.50	30.94
23/01/2019	2	22.10	4.33	20.50	0.00	10.20	39.29	10.50	41.99
24/01/2019	3	22.90	0.87	19.70	1.50	9.04	46.19	9.08	49.83
25/01/2019	4	22.40	3.03	19.50	2.50	8.11	51.73	8.49	53.09
28/01/2019	7	22.90	0.87	20.10	0.00	6.67	60.30	8.24	54.48
29/01/2019	8	22.50	2.60	20.20	0.00	6.59	60.77	7.12	60.66
30/01/2019	9	22.40	3.03	20.30	0.00	6.44	61.67	6.82	62.32
31/01/2019	10	23.00	0.43	19.60	2.00	5.83	65.30	6.62	63.43
01/02/2019	11	23.10	0.00	20.40	0.00	5.66	66.31	6.17	65.91
05/02/2019	15	22.40	3.03	19.90	0.50	5.57	66.85	5.81	67.90
06/02/2019	16	22.80	1.30	20.10	0.00	5.11	69.58	5.36	70.39

Fecha	Tiempo operación (d)	CVSP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	CVSPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
07/02/2019	17	23.13	0.00	20.14	0.00	5.08	69.76	5.27	70.88
11/02/2019	21	22.60	2.16	20.00	0.00	4.93	70.65	4.68	74.14
12/02/2019	22	23.00	0.43	20.00	0.00	4.85	71.13	4.53	74.97
14/02/2019	24	23.30	0.00	20.00	0.00	4.63	72.44	4.40	75.69
15/02/2019	25	23.10	0.00	19.60	2.00	4.27	74.58	4.34	76.02
19/02/2019	29	23.00	0.43	20.30	0.00	3.99	76.25	4.00	77.90
20/02/2019	30	22.70	1.73	20.20	0.00	3.95	76.49	4.00	77.90
21/02/2019	31	23.15	0.00	20.00	0.00	3.70	77.98	3.87	78.62
22/02/2019	32	22.60	2.16	19.80	1.00	3.52	79.05	3.82	78.90
25/02/2019	35	22.70	1.73	19.50	2.50	2.18	87.02	2.28	87.40

Tabla 7-19. Concentración y remoción de 20 mg CN · L⁻¹ inicial en pruebas de inhibición (continuación)

Fecha	Tiempo operación (d)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
21/01/2019	0	15.20	0.00	19.10	0.00	19.80	0.00
22/01/2019	1	11.70	23.03	13.40	29.84	15.60	21.21
23/01/2019	2	9.96	34.47	10.20	46.60	13.70	30.81
24/01/2019	3	8.72	42.63	9.03	52.72	9.01	54.49
25/01/2019	4	8.20	46.05	8.07	57.75	8.81	55.51
28/01/2019	7	8.09	46.78	7.85	58.90	8.40	57.58
29/01/2019	8	6.77	55.46	7.12	62.72	8.30	58.08
30/01/2019	9	6.55	56.91	6.92	63.77	7.64	61.41
31/01/2019	10	6.17	59.41	6.74	64.71	6.55	66.92
01/02/2019	11	5.10	66.45	6.63	65.29	5.50	72.22
05/02/2019	15	5.00	67.11	6.31	66.96	5.03	74.60

Fecha	Tiempo operación (d)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
06/02/2019	16	4.90	67.76	6.28	67.12	4.80	75.76
07/02/2019	17	4.89	67.83	6.05	68.32	4.60	76.77
11/02/2019	21	4.24	72.11	5.89	69.16	4.26	78.48
12/02/2019	22	3.80	75.00	4.80	74.87	3.57	81.97
14/02/2019	24	3.20	78.95	4.40	76.96	3.48	82.42
15/02/2019	25	3.19	79.01	4.32	77.38	2.90	85.35
19/02/2019	29	3.17	79.14	4.08	78.64	2.86	85.56
20/02/2019	30	3.15	79.28	3.78	80.21	2.75	86.11
21/02/2019	31	2.93	80.72	3.93	79.42	2.61	86.82
22/02/2019	32	2.85	81.25	3.57	81.31	2.57	87.02
25/02/2019	35	2.10	86.18	2.53	86.75	2.51	87.32

Tabla 7-20. Concentración y remoción de 30 mg CN · L⁻¹ inicial en pruebas de inhibición

Fecha	Tiempo operación (d)	CVSP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	CVSPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
21/01/2019	0	31.30	0.00	31.90	0.00	26.50	0.00	26.20	0.00
22/01/2019	1	28.20	9.90	30.90	3.13	18.00	32.08	19.20	26.72
23/01/2019	2	29.40	6.07	30.80	3.45	16.60	37.36	17.20	34.35
24/01/2019	3	29.60	5.43	30.60	4.08	13.70	48.30	15.70	40.08
25/01/2019	4	29.80	4.79	30.60	4.08	11.50	56.60	15.40	41.22
28/01/2019	7	30.60	2.24	29.00	9.09	11.30	57.36	13.20	49.62
29/01/2019	8	30.20	3.51	29.10	8.78	11.20	57.74	12.70	51.53
30/01/2019	9	30.70	1.92	29.50	7.52	10.25	61.32	12.10	53.82
31/01/2019	10	30.50	2.56	30.10	5.64	10.10	61.89	11.60	55.73

Fecha	Tiempo operación (d)	CVSP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	CVSPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
01/02/2019	11	30.50	2.56	30.90	3.13	9.92	62.57	10.10	61.45
05/02/2019	15	31.40	0.00	31.30	1.88	9.46	64.30	9.78	62.67
06/02/2019	16	29.90	4.47	31.20	2.19	7.86	70.34	9.57	63.47
07/02/2019	17	29.81	4.76	31.10	2.51	7.09	73.25	9.24	64.73
11/02/2019	21	30.50	2.56	31.10	2.51	6.92	73.89	9.20	64.89
12/02/2019	22	30.80	1.60	31.20	2.19	6.92	73.89	9.03	65.53
14/02/2019	24	31.30	0.00	30.70	3.76	6.89	74.00	8.90	66.03
15/02/2019	25	31.30	0.00	31.10	2.51	6.11	76.94	8.74	66.64
19/02/2019	29	29.70	5.11	31.30	1.88	5.97	77.47	8.42	67.86
20/02/2019	30	29.70	5.11	29.90	6.27	5.61	78.83	7.95	69.66
21/02/2019	31	29.70	5.11	29.90	6.27	5.57	78.98	7.89	69.89
22/02/2019	32	30.20	3.51	29.70	6.90	5.25	80.19	7.88	69.92
25/02/2019	35	31.00	0.96	29.50	7.52	4.66	82.42	6.86	73.82

Tabla 7-21. Concentración y remoción de 30 mg CN · L⁻¹ inicial en pruebas de inhibición (continuación)

Fecha	Tiempo operación (d)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
21/01/2019	0	30.00	0.00	26.14	0.00	29.00	0.00
22/01/2019	1	19.00	36.67	15.00	42.62	29.00	0.00
23/01/2019	2	18.30	39.00	17.60	32.67	29.00	0.00
24/01/2019	3	16.70	44.33	18.50	29.23	28.40	2.07
25/01/2019	4	16.60	44.67	14.80	43.38	25.50	12.07
28/01/2019	7	16.00	46.67	11.90	54.48	21.00	27.59
29/01/2019	8	15.80	47.33	12.30	52.95	20.60	28.97
30/01/2019	9	14.50	51.67	10.60	59.45	15.20	47.59

Fecha	Tiempo operación (d)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (2) (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
31/01/2019	10	14.40	52.00	10.30	60.60	12.80	55.86
01/02/2019	11	14.20	52.67	9.44	63.89	10.80	62.76
05/02/2019	15	13.50	55.00	8.21	68.59	8.90	69.31
06/02/2019	16	11.90	60.33	7.29	72.11	8.51	70.66
07/02/2019	17	11.90	60.33	7.01	73.18	8.40	71.03
11/02/2019	21	11.50	61.67	6.98	73.30	7.88	72.83
12/02/2019	22	11.50	61.67	6.95	73.41	7.55	73.97
14/02/2019	24	11.20	62.67	6.64	74.60	7.45	74.31
15/02/2019	25	11.20	62.67	6.22	76.21	7.23	75.07
19/02/2019	29	11.10	63.00	6.13	76.55	7.00	75.86
20/02/2019	30	10.60	64.67	5.52	78.88	6.69	76.93
21/02/2019	31	10.30	65.67	4.90	81.25	6.61	77.21
22/02/2019	32	9.36	68.80	4.88	81.33	6.60	77.24
25/02/2019	35	7.86	73.80	4.39	83.21	6.32	78.21

Tabla 7-22. Concentración y remoción de 50 mg CN · L⁻¹ inicial en pruebas de inhibición

Fecha	Tiempo operación (d)	CVSP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	CVSPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
21/01/2019	0	47.50	0.00	47.30	0.00	47.60	0.00	44.60	0.00	48.00	0.00
22/01/2019	1	46.50	2.11	46.70	1.27	31.60	33.61	31.20	30.04	47.66	0.71
23/01/2019	2	47.00	1.05	47.30	0.00	30.20	36.55	30.90	30.72	44.00	8.33
24/01/2019	3	46.70	1.68	46.60	1.48	29.70	37.61	29.90	32.96	39.00	14.58
25/01/2019	4	47.10	0.84	47.20	0.21	29.20	38.66	27.70	37.89	35.00	27.08
28/01/2019	7	46.90	1.26	46.60	1.48	28.60	39.92	25.80	42.15	34.00	29.17

Fecha	Tiempo operación (d)	CVSP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	CVSPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFC (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	SPFCG (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
29/01/2019	8	47.10	0.84	46.80	1.06	25.00	47.48	25.80	42.15	32.52	32.25
30/01/2019	9	47.20	0.63	47.10	0.42	24.80	47.90	25.60	42.60	32.40	32.50
31/01/2019	10	47.10	0.84	47.20	0.21	23.40	50.84	24.70	44.62	31.60	34.17
01/02/2019	11	47.30	0.42	46.40	1.90	23.30	51.05	22.80	48.88	30.00	37.50
05/02/2019	15	46.90	1.26	46.80	1.06	22.40	52.94	22.30	50.00	28.70	40.21
06/02/2019	16	47.10	0.84	47.10	0.42	22.10	53.57	20.60	53.81	25.20	47.50
07/02/2019	17	46.70	1.68	47.00	0.63	21.90	53.99	20.20	54.71	24.40	49.17
11/02/2019	21	47.40	0.21	46.90	0.85	21.70	54.41	19.80	55.61	21.60	55.00
12/02/2019	22	46.80	1.47	47.30	0.00	21.00	55.88	18.80	57.85	20.70	56.88
14/02/2019	24	46.80	1.47	46.90	0.85	20.20	57.56	18.70	58.07	20.50	57.29
15/02/2019	25	47.10	0.84	47.20	0.21	20.10	57.77	18.25	59.08	18.90	60.63
19/02/2019	29	47.20	0.63	46.80	1.06	19.60	58.82	18.20	59.19	17.60	63.33
20/02/2019	30	47.30	0.42	46.80	1.06	18.60	60.92	17.80	60.09	15.80	67.08
21/02/2019	31	47.25	0.53	46.80	1.06	18.40	61.34	17.40	60.99	15.40	67.92
22/02/2019	32	47.00	1.05	47.20	0.21	18.30	61.55	16.50	63.00	15.20	68.33
25/02/2019	35	46.80	1.47	46.60	1.48	15.70	67.02	15.19	65.94	15.15	68.44

6.8 ANEXO VIII- Crecimiento de biomasa en pruebas de inhibición

Tabla 7-23. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición a 600 nm

Fecha	Tiempo operación (d)	CI	CI (2)	15 mg CN · L ⁻¹				
				SP	SP (2)	SPFC	SPFC (2)	SPFCG
21/01/2019	0	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587
22/01/2019	1	0.522	0.518	0.552	0.521	0.613	0.552	0.685
23/01/2019	2	0.551	0.541	0.574	0.524	0.567	0.617	0.597
24/01/2019	3	0.558	0.522	0.590	0.526	0.564	0.576	0.370
25/01/2019	4	0.548	0.516	0.590	0.534	0.561	0.511	0.291
28/01/2019	7	0.617	0.605	0.651	0.605	0.570	0.633	0.281
29/01/2019	8	0.743	0.646	0.654	0.607	0.568	0.692	0.292
30/01/2019	9	0.776	0.631	0.650	0.610	0.570	0.677	0.285
31/01/2019	10	0.855	0.877	0.644	0.611	0.596	0.718	0.284
01/02/2019	11	0.848	0.847	0.655	0.610	0.607	0.755	0.291
05/02/2019	15	0.813	0.728	0.638	0.605	0.642	0.913	0.294
06/02/2019	16	0.806	0.733	0.642	0.630	0.678	0.861	0.261
07/02/2019	17	0.811	0.831	0.616	0.638	0.781	0.801	0.292
11/02/2019	21	0.822	0.636	0.539	0.681	0.839	0.831	0.250
12/02/2019	22	0.831	0.706	0.542	0.680	0.855	0.803	0.272
14/02/2019	24	0.818	0.715	0.549	0.690	0.829	0.755	0.318
15/02/2019	25	0.804	0.841	0.564	0.687	0.790	0.762	0.326
19/02/2019	29	0.775	0.793	0.569	0.674	0.754	0.716	0.300
20/02/2019	30	0.774	0.799	0.569	0.616	0.754	0.741	0.276
21/02/2019	31	0.752	0.781	0.553	0.607	0.743	0.720	0.298
22/02/2019	32	0.750	0.763	0.553	0.598	0.712	0.698	0.291
25/02/2019	35	0.739	0.788	0.521	0.590	0.710	0.711	0.310

Tabla 7-24. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición a 600 nm (continuación)

Fecha	Tiempo operación (d)	20 mg CN · L ⁻¹					30 mg CN · L ⁻¹				
		SP	SP (2)	SPFC	SPFC (2)	SFGCG	SP	SP (2)	SPFC	SPFC (2)	SFGCG
21/01/2019	0	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587	1.587
22/01/2019	1	0.538	0.500	0.469	0.528	0.550	0.596	0.508	0.549	0.583	0.554
23/01/2019	2	0.538	0.505	0.450	0.471	0.580	0.554	0.520	0.511	0.618	0.580
24/01/2019	3	0.524	0.507	0.460	0.423	0.524	0.560	0.528	0.502	0.575	0.447
25/01/2019	4	0.504	0.527	0.444	0.445	0.394	0.507	0.527	0.508	0.506	0.383
28/01/2019	7	0.540	0.560	0.549	0.608	0.352	0.527	0.538	0.502	0.452	0.361
29/01/2019	8	0.559	0.550	0.550	0.646	0.328	0.517	0.544	0.503	0.432	0.390
30/01/2019	9	0.551	0.556	0.560	0.651	0.314	0.515	0.545	0.507	0.436	0.381
31/01/2019	10	0.558	0.560	0.563	0.678	0.276	0.535	0.554	0.524	0.470	0.368
01/02/2019	11	0.564	0.565	0.565	0.717	0.271	0.566	0.576	0.516	0.471	0.288
05/02/2019	15	0.560	0.585	0.616	0.768	0.277	0.579	0.579	0.578	0.501	0.310
06/02/2019	16	0.551	0.574	0.648	0.766	0.251	0.574	0.587	0.586	0.534	0.357
07/02/2019	17	0.560	0.590	0.671	0.717	0.240	0.541	0.583	0.588	0.582	0.358
11/02/2019	21	0.537	0.563	0.678	0.634	0.239	0.535	0.585	0.585	0.739	0.355
12/02/2019	22	0.557	0.579	0.671	0.637	0.278	0.513	0.595	0.598	0.721	0.321
14/02/2019	24	0.550	0.572	0.647	0.638	0.279	0.495	0.591	0.596	0.616	0.374
15/02/2019	25	0.559	0.573	0.640	0.640	0.334	0.486	0.584	0.597	0.623	0.399
19/02/2019	29	0.535	0.546	0.629	0.599	0.339	0.472	0.585	0.606	0.626	0.387
20/02/2019	30	0.536	0.540	0.631	0.616	0.317	0.491	0.565	0.613	0.604	0.351
21/02/2019	31	0.512	0.549	0.633	0.597	0.320	0.501	0.557	0.600	0.579	0.362
22/02/2019	32	0.488	0.527	0.614	0.577	0.301	0.510	0.558	0.570	0.553	0.355
25/02/2019	35	0.455	0.521	0.593	0.574	0.366	0.501	0.554	0.510	0.554	0.428

Tabla 7-25. Crecimiento de la biomasa en pruebas de inhibición a 600 nm (continuación)

Fecha	Tiempo operación (d)	50 mg CN · L ⁻¹		
		SP	SPFC	SPFCG
21/01/2019	0	1.587	1.587	1.587
22/01/2019	1	0.659	0.520	0.511
23/01/2019	2	0.669	0.577	0.526
24/01/2019	3	0.615	0.609	0.516
25/01/2019	4	0.478	0.575	0.394
28/01/2019	7	0.459	0.520	0.384
29/01/2019	8	0.465	0.511	0.388
30/01/2019	9	0.495	0.478	0.384
31/01/2019	10	0.496	0.469	0.372
01/02/2019	11	0.510	0.452	0.319
05/02/2019	15	0.513	0.500	0.304
06/02/2019	16	0.533	0.485	0.311
07/02/2019	17	0.534	0.466	0.309
11/02/2019	21	0.540	0.479	0.210
12/02/2019	22	0.546	0.474	0.205
14/02/2019	24	0.511	0.479	0.202
15/02/2019	25	0.508	0.437	0.208
19/02/2019	29	0.486	0.406	0.248
20/02/2019	30	0.490	0.390	0.216
21/02/2019	31	0.495	0.386	0.213
22/02/2019	32	0.470	0.382	0.207
25/02/2019	35	0.410	0.368	0.206

6.9 ANEXO IX- Parámetros monitoreados en la evaluación de factores en la biodegradación de cianuro ($[\text{CN}]_i=30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Tabla 7-26. Monitoreo de pH a 25°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
17/06/2019	1	9.53	10.50	11.47	9.57	10.50	11.48	9.56	10.55	11.42	11.48	11.15
18/06/2019	2	9.49	10.47	11.46	9.65	10.55	11.50	9.56	10.57	11.40	11.34	11.32
19/06/2019	3	9.52	10.50	11.49	9.73	10.56	11.59	9.63	10.66	11.49	11.45	11.49
21/06/2019	5	9.82	10.51	11.40	9.41	10.44	11.50	9.54	10.55	11.38	12.00	11.46
24/06/2019	9	9.52	10.57	11.51	9.58	10.59	11.54	9.54	10.58	11.55	12.89	11.48
26/06/2019	10	9.49	10.57	11.51	9.58	10.59	11.54	9.54	10.58	11.55	11.57	11.45
28/06/2019	12	9.52	10.54	11.50	9.55	10.57	11.57	9.48	10.58	11.51	11.56	11.59
01/07/2019	15	9.46	10.54	11.54	9.48	10.56	11.56	9.50	10.55	11.50	11.58	11.50
03/07/2019	17	9.43	10.53	11.54	9.56	10.52	11.58	9.57	10.47	11.52	11.59	11.55
05/07/2019	19	9.58	10.52	11.47	9.43	10.46	11.45	9.50	10.53	11.51	11.52	11.59
08/07/2019	22	9.57	10.49	11.45	9.46	10.46	11.50	9.51	10.54	11.46	11.48	11.46
10/07/2019	24	9.56	10.53	11.50	9.46	10.57	11.51	9.45	10.52	11.49	11.57	11.50
12/07/2019	26	9.55	10.53	11.50	9.49	10.56	11.54	9.54	10.57	11.53	11.58	11.56
15/07/2019	29	9.54	10.54	11.53	9.48	10.58	11.57	9.49	10.51	11.59	11.58	11.56
17/07/2019	31	9.54	10.59	11.54	9.59	10.59	11.54	9.56	10.55	11.56	11.57	11.55

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
19/07/2019	33	9.60	10.40	11.47	9.56	10.53	11.54	9.53	10.52	11.45	11.56	11.54
22/07/2019	36	9.80	10.43	11.44	9.46	10.44	11.39	9.28	10.55	11.43	11.52	11.56

Tabla 7-27. Monitoreo de pH a 30°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
17/06/2019	1	9.52	10.58	11.51	9.50	10.58	11.50	9.50	10.53	11.49	11.49	11.58
18/06/2019	2	9.53	10.52	11.46	9.48	10.49	11.46	9.54	10.48	11.48	11.53	11.62
19/06/2019	3	9.45	10.53	11.52	9.57	10.49	11.55	9.48	10.58	11.51	11.56	11.53
21/06/2019	5	9.53	10.54	11.47	9.58	10.51	11.46	9.47	10.48	11.47	11.47	11.55
24/06/2019	9	9.53	10.56	11.51	9.59	10.57	11.49	9.48	10.50	11.52	11.53	11.56
26/06/2019	10	9.49	10.56	11.49	9.50	10.51	11.48	9.50	10.48	11.49	11.51	11.58
28/06/2019	12	9.46	10.46	11.49	9.57	10.48	11.48	9.58	10.52	11.50	11.54	11.60
01/07/2019	15	9.47	10.59	11.55	9.56	10.59	11.52	9.49	10.52	11.53	11.49	11.54
03/07/2019	17	9.45	10.59	11.54	9.54	10.59	11.52	9.45	10.54	11.55	11.50	11.55
05/07/2019	19	9.49	10.46	11.45	9.53	10.49	11.45	9.50	10.49	11.49	11.43	11.60
08/07/2019	22	9.53	10.68	11.65	9.53	10.61	11.60	9.45	10.55	11.66	11.60	11.71

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
10/07/2019	24	9.50	10.53	11.42	9.56	10.44	11.47	9.50	10.48	11.50	11.52	11.64
12/07/2019	26	9.48	10.53	11.46	9.66	10.58	11.51	9.54	10.43	11.56	11.48	11.69
15/07/2019	29	9.45	10.53	11.49	9.76	10.71	11.54	9.57	10.38	11.55	11.44	11.73
17/07/2019	31	9.12	10.44	11.41	9.21	10.62	11.46	9.21	10.14	11.48	11.66	11.63
19/07/2019	33	9.52	10.58	11.51	9.50	10.58	11.50	9.50	10.53	11.49	11.49	11.58
22/07/2019	36	9.53	10.52	11.46	9.48	10.49	11.46	9.54	10.48	11.48	11.53	11.62

Tabla 7-28. Monitoreo de pH a 35°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
17/06/2019	1	9.58	10.51	11.55	9.57	10.52	11.57	9.52	10.52	11.54	11.51	11.51
18/06/2019	2	9.48	10.49	11.51	9.58	10.55	11.51	9.49	10.47	11.48	11.57	11.58
19/06/2019	3	9.76	10.62	11.69	9.56	10.63	11.70	9.46	10.60	11.67	11.74	11.78
21/06/2019	5	9.53	10.47	11.57	9.45	10.57	11.52	9.63	10.55	11.49	11.57	11.62
24/06/2019	9	9.62	10.51	11.60	9.51	10.55	11.58	9.64	10.57	11.52	11.60	11.66
26/06/2019	10	9.70	10.54	11.63	9.57	10.52	11.64	9.65	10.58	11.55	11.68	11.70
28/06/2019	12	9.55	10.44	11.57	9.41	10.48	11.57	9.47	10.52	11.50	11.60	11.62

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
01/07/2019	15	9.60	10.75	11.55	9.47	10.44	11.56	9.50	10.52	11.51	11.60	11.60
03/07/2019	17	9.54	10.76	11.55	9.46	10.45	11.57	9.46	10.53	11.52	11.61	11.64
05/07/2019	19	9.47	10.77	11.55	9.44	10.46	11.57	9.42	10.54	11.52	11.62	11.68
08/07/2019	22	9.44	10.73	11.56	9.41	10.46	11.60	9.52	10.54	11.49	11.61	11.63
10/07/2019	24	9.43	10.75	11.55	9.52	10.44	11.55	9.40	10.54	11.49	11.62	11.62
12/07/2019	26	9.52	10.72	11.55	9.51	10.52	11.54	9.46	10.52	11.47	11.60	11.60
15/07/2019	29	9.60	10.69	11.54	9.50	10.59	11.52	9.51	10.50	11.44	11.57	11.58
17/07/2019	31	9.66	10.69	11.54	9.66	10.57	11.55	9.53	10.54	11.47	11.63	11.62
19/07/2019	33	9.65	10.60	11.51	9.45	10.51	11.54	9.30	10.50	11.46	11.61	11.63
22/07/2019	36	9.58	10.51	11.55	9.57	10.52	11.57	9.52	10.52	11.54	11.51	11.51

Tabla 7-29. Monitoreo de Temperatura (25°C)

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
17/06/2019	1	22.4	24.5	25.7	24.4	24.1	24.3	25.0	28.3	26.0	27.1	26.9
18/06/2019	2	24.2	24.3	24.6	24.4	24.4	24.4	24.1	24.3	24.2	24.5	24.4
19/06/2019	3	23.6	22.8	24.8	23.3	22.7	22.9	23.5	23.3	24.8	24.7	24.8
21/06/2019	5	25.3	25.2	25.4	25.3	25.4	25.3	25.2	25.0	26.9	28.0	27.2
24/06/2019	9	26.8	24.7	28.2	28.4	27.7	28.0	28.3	28.1	28.1	26.4	26.3
26/06/2019	10	26.2	24.4	23.8	23.5	23.4	23.3	23.4	23.4	23.5	28.1	25.9
28/06/2019	12	27.0	25.7	25.6	25.6	25.9	25.6	25.9	25.8	25.7	24.6	24.8
01/07/2019	15	23.3	23.2	23.3	23.4	23.1	23.3	23.3	23.3	23.3	23.5	23.5
03/07/2019	17	25.0	25.2	24.5	24.8	24.6	24.6	25.2	25.1	25.1	26.6	24.1
05/07/2019	19	26.3	26.6	26.4	26.6	26.1	26.5	26.4	26.5	26.4	26.2	26.5
08/07/2019	22	25.4	25.1	25.5	25.6	25.6	25.3	25.7	25.7	25.5	25.4	25.1
10/07/2019	24	26.0	26.1	26.1	25.9	26.4	26.2	26.5	26.7	26.3	25.1	25.4
12/07/2019	26	24.6	24.6	24.6	25.0	25.0	24.5	24.9	25.0	24.7	23.9	23.6
15/07/2019	29	25.6	26.1	25.8	25.7	25.7	25.8	25.7	25.6	25.6	24.5	24.8
17/07/2019	31	25.4	25.3	25.5	25.6	25.6	25.7	25.6	25.0	25.5	24.7	24.8
19/07/2019	33	25.1	25.5	25.1	25.0	25.3	25.2	25.3	25.3	25.3	24.9	24.8
22/07/2019	36	24.0	24.1	24.3	24.2	24.3	24.1	24.5	24.8	24.0	24.6	24.9

Tabla 7-30. Monitoreo de Temperatura (30°C)

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
17/06/2019	1	29.7	28.3	29.2	29.0	29.3	30.5	30.0	29.8	30.1	29.5	29.5
18/06/2019	2	29.0	29.8	29.0	29.0	29.4	29.2	29.3	29.8	29.8	29.4	29.6
19/06/2019	3	29.8	29.8	29.9	29.9	29.7	29.0	29.7	29.9	29.8	29.5	29.7
21/06/2019	5	29.4	29.4	29.5	29.4	29.5	29.6	29.6	29.7	29.3	29.0	29.4
24/06/2019	9	29.3	29.4	29.1	29.4	29.1	29.2	29.0	29.0	29.5	29.1	29.3
26/06/2019	10	29.0	29.2	30.2	29.2	29.9	30.1	30.3	30.2	29.4	29.9	30.2
28/06/2019	12	29.2	29.2	29.2	29.2	29.5	29.2	29.6	29.5	29.5	29.0	29.4
01/07/2019	15	29.5	29.6	29.0	29.7	29.7	29.8	29.8	29.8	29.8	28.9	29.5
03/07/2019	17	29.8	29.0	29.0	29.0	29.0	29.1	29.2	29.1	29.0	28.8	28.9
05/07/2019	19	27.8	28.5	27.3	27.9	27.6	28.0	26.9	26.4	27.4	29.5	29.1
08/07/2019	22	28.5	28.9	28.6	28.8	28.6	28.6	28.7	28.5	28.7	28.0	28.2
10/07/2019	24	29.5	29.0	28.3	29.5	29.0	28.7	29.7	28.8	29.3	29.2	29.0
12/07/2019	26	29.6	29.1	29.2	29.7	29.3	29.3	29.9	29.1	29.6	29.2	29.4
15/07/2019	29	29.6	29.2	30.0	29.9	29.6	29.9	30.0	29.3	29.9	29.1	29.7
17/07/2019	31	29.2	28.6	28.2	28.8	28.7	28.6	28.8	28.8	28.3	29.7	30.0
19/07/2019	33	29.7	28.3	29.2	29.0	29.3	30.5	30.0	29.8	30.1	29.5	29.5

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
22/07/2019	36	29.0	29.8	29.0	29.0	29.4	29.2	29.3	29.8	29.8	29.4	29.6

Tabla 7-31. Monitoreo de Temperatura (35°C)

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
17/06/2019	1	34.8	34.3	35	34.9	35.6	35	35.2	35.2	35.4	34.9	35.0
18/06/2019	2	34.8	34.5	34.6	35.2	34.4	34.8	34.9	34.9	35.5	34.8	34.2
19/06/2019	3	34.9	34.6	34.9	34.6	34.4	34.1	34.4	34.4	34.3	34.3	34.3
21/06/2019	5	35.5	35.0	35.1	35.4	35.6	35.8	35.5	35.5	35.3	35.0	35.4
24/06/2019	9	35.6	35.4	36.0	35.0	36.1	35.7	35.6	35.6	35.7	35.4	35.5
26/06/2019	10	35.7	35.8	36.8	34.5	36.6	35.6	35.8	35.8	36.1	35.8	35.6
28/06/2019	12	35.0	34.7	34.5	34.7	35	35.5	34.9	34.9	35.4	35.2	35.0
01/07/2019	15	34.2	34.0	34.2	34.2	34.7	34.7	34.9	34.9	34.3	34.8	34.4
03/07/2019	17	34.5	34.5	34.6	34.7	34.6	34.7	35.0	35.0	34.5	34.7	34.7
05/07/2019	19	34.8	34.9	35.0	35.1	34.5	34.6	35.1	35.1	34.6	34.6	35.0
08/07/2019	22	35.0	35.3	34.7	34.2	34.9	34.6	34.4	34.3	35.1	34.5	35.1
10/07/2019	24	34.7	35.1	36.4	34.7	35.7	35.1	34.9	35.8	35.1	35.7	35.0

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5- 10%	10.5- 10%	11.5- 10%	9.5- 12.5%	10.5- 12.5%	11.5- 12.5%	9.5- 15%	10.5- 15%	11.5- 15%	CV	CV (2)
12/07/2019	26	35.2	35.3	35.9	35.2	35.3	35.3	35.2	35.7	35.1	35.6	35.3
15/07/2019	29	35.7	35.4	35.4	35.6	34.9	35.5	35.5	35.6	35.1	35.5	35.5
17/07/2019	31	35.7	36.1	35.9	35.7	35.6	36.1	35.8	35.9	35.9	34.6	35.8
19/07/2019	33	34.6	35.0	34.4	34.4	35.0	34.7	34.0	34.8	34.4	34.4	34.8
22/07/2019	36	34.8	34.3	35.0	34.9	35.6	35	35.2	35.2	35.4	34.9	35.0

Tabla 7-32. Monitoreo de Biomasa a 25°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	0.405	0.645	0.386	0.865	0.830	0.351	0.559	0.530	0.586
18/06/2019	2	0.535	0.705	0.380	0.788	0.473	0.300	0.787	0.473	0.548
19/06/2019	3	0.285	0.535	0.200	0.683	0.499	0.165	0.682	0.451	0.540
20/06/2019	4	0.267	0.265	0.541	0.664	0.181	0.178	0.692	0.470	0.571
21/06/2019	5	0.253	0.297	0.550	0.542	0.171	0.256	0.667	0.424	0.535
24/06/2019	8	0.237	0.205	0.418	0.360	0.283	0.433	0.519	0.540	0.593
25/06/2019	9	0.247	0.265	0.490	0.264	0.205	0.467	0.502	0.538	0.549
26/06/2019	10	0.278	0.365	0.519	0.311	0.277	0.620	0.582	0.524	0.540
27/06/2019	11	0.271	0.334	0.540	0.272	0.291	0.578	0.533	0.517	0.508

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
28/06/2019	12	0.266	0.451	0.587	0.302	0.336	0.593	0.522	0.503	0.438
01/07/2019	15	0.203	0.307	0.461	0.258	0.267	0.527	0.511	0.511	0.599
02/07/2019	16	0.229	0.340	0.491	0.255	0.295	0.500	0.508	0.517	0.526
03/07/2019	17	0.482	0.372	0.547	0.308	0.387	0.568	0.538	0.526	0.501
04/07/2019	18	0.559	0.437	0.576	0.298	0.430	0.548	0.625	0.590	0.544
05/07/2019	19	0.480	0.522	0.557	0.396	0.534	0.683	0.577	0.543	0.637
08/07/2019	22	0.532	0.528	0.696	0.364	0.423	0.697	0.560	0.681	0.518
09/07/2019	23	0.695	0.531	0.767	0.348	0.433	0.676	0.566	0.658	0.575
10/07/2019	24	0.622	0.568	0.634	0.407	0.545	0.763	0.610	0.634	0.634
11/07/2019	25	0.645	0.560	0.756	0.446	0.538	0.816	0.686	0.687	0.930
12/07/2019	26	0.607	0.578	0.630	0.656	0.828	1.033	0.884	0.602	0.924
15/07/2019	29	0.686	0.566	0.613	0.710	0.836	1.133	0.911	0.685	0.952
16/07/2019	30	0.631	0.508	0.600	0.670	0.858	1.096	0.913	0.608	0.927
17/07/2019	31	0.657	0.584	0.609	0.640	0.813	1.073	0.839	0.650	0.879
18/07/2019	32	0.699	0.597	0.512	0.585	0.893	1.026	0.766	0.640	0.930
19/07/2019	33	0.638	0.502	0.650	0.585	0.816	1.057	0.716	0.540	0.992
22/07/2019	36	0.670	0.495	0.540	0.585	0.855	1.045	0.710	0.510	0.861

Tabla 7-33. Monitoreo de Biomasa a 30°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	0.229	0.278	0.219	0.727	0.718	0.534	0.604	0.546	0.744
18/06/2019	2	0.382	0.296	0.278	0.683	0.674	0.431	0.661	0.506	0.626
19/06/2019	3	0.379	0.267	0.240	0.574	0.521	0.368	0.595	0.492	0.497
20/06/2019	4	0.326	0.268	0.238	0.431	0.364	0.385	0.531	0.413	0.424
21/06/2019	5	0.314	0.231	0.259	0.431	0.439	0.457	0.544	0.455	0.465
24/06/2019	8	0.349	0.243	0.278	0.414	0.369	0.466	0.538	0.439	0.458
25/06/2019	9	0.262	0.278	0.311	0.355	0.339	0.417	0.441	0.475	0.408
26/06/2019	10	0.218	0.180	0.271	0.302	0.291	0.375	0.438	0.427	0.354
27/06/2019	11	0.228	0.216	0.286	0.362	0.302	0.376	0.436	0.448	0.306
28/06/2019	12	0.246	0.228	0.311	0.327	0.219	0.345	0.413	0.435	0.304
01/07/2019	15	0.170	0.328	0.380	0.353	0.225	0.413	0.417	0.452	0.339
02/07/2019	16	0.237	0.331	0.381	0.311	0.247	0.394	0.426	0.481	0.336
03/07/2019	17	0.261	0.348	0.387	0.335	0.213	0.454	0.444	0.476	0.322
04/07/2019	18	0.247	0.286	0.334	0.311	0.216	0.428	0.417	0.487	0.311
05/07/2019	19	0.252	0.288	0.330	0.326	0.258	0.438	0.431	0.482	0.308
08/07/2019	22	0.274	0.235	0.304	0.337	0.350	0.442	0.357	0.479	0.343
09/07/2019	23	0.210	0.278	0.310	0.304	0.297	0.384	0.351	0.475	0.374

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
10/07/2019	24	0.217	0.242	0.353	0.356	0.322	0.410	0.369	0.418	0.311
11/07/2019	25	0.218	0.267	0.317	0.361	0.315	0.420	0.334	0.419	0.307
12/07/2019	26	0.380	0.300	0.312	0.363	0.314	0.312	0.338	0.414	0.313
15/07/2019	29	0.347	0.384	0.364	0.359	0.319	0.343	0.303	0.429	0.312
16/07/2019	30	0.311	0.365	0.366	0.420	0.366	0.346	0.480	0.424	0.401
17/07/2019	31	0.293	0.304	0.395	0.420	0.393	0.350	0.498	0.410	0.450
18/07/2019	32	0.274	0.357	0.393	0.420	0.420	0.354	0.516	0.506	0.498
19/07/2019	33	0.291	0.444	0.326	0.514	0.514	0.309	0.557	0.501	0.494
22/07/2019	36	0.333	0.385	0.369	0.522	0.522	0.304	0.568	0.520	0.548

Tabla 7-34. Monitoreo de Biomasa a 35°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	0.421	0.382	0.499	0.534	0.645	0.622	0.675	0.578	0.596
18/06/2019	2	0.279	0.364	0.383	0.469	0.358	0.395	0.315	0.457	0.494
19/06/2019	3	0.267	0.374	0.365	0.417	0.379	0.329	0.378	0.403	0.428
20/06/2019	4	0.216	0.268	0.343	0.286	0.342	0.357	0.336	0.384	0.523
21/06/2019	5	0.229	0.312	0.270	0.224	0.309	0.415	0.358	0.396	0.494

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
24/06/2019	8	0.237	0.205	0.199	0.200	0.211	0.373	0.320	0.311	0.468
25/06/2019	9	0.184	0.174	0.146	0.280	0.288	0.362	0.220	0.290	0.409
26/06/2019	10	0.145	0.145	0.166	0.285	0.245	0.353	0.242	0.255	0.412
27/06/2019	11	0.160	0.150	0.186	0.269	0.221	0.374	0.264	0.250	0.421
28/06/2019	12	0.133	0.140	0.166	0.206	0.183	0.383	0.223	0.240	0.425
01/07/2019	15	0.123	0.157	0.229	0.135	0.161	0.376	0.212	0.142	0.433
02/07/2019	16	0.082	0.143	0.250	0.170	0.169	0.303	0.288	0.144	0.453
03/07/2019	17	0.076	0.165	0.246	0.171	0.159	0.329	0.301	0.150	0.482
04/07/2019	18	0.070	0.139	0.242	0.172	0.149	0.327	0.314	0.155	0.471
05/07/2019	19	0.059	0.109	0.282	0.175	0.141	0.317	0.263	0.187	0.455
08/07/2019	22	0.080	0.120	0.321	0.183	0.133	0.357	0.212	0.218	0.400
09/07/2019	23	0.073	0.102	0.301	0.193	0.133	0.345	0.215	0.222	0.409
10/07/2019	24	0.072	0.102	0.346	0.210	0.112	0.346	0.231	0.239	0.382
11/07/2019	25	0.084	0.117	0.337	0.242	0.117	0.328	0.249	0.233	0.410
12/07/2019	26	0.084	0.126	0.360	0.198	0.128	0.368	0.234	0.230	0.418
15/07/2019	29	0.074	0.122	0.375	0.170	0.125	0.324	0.295	0.232	0.414
16/07/2019	30	0.074	0.156	0.385	0.197	0.154	0.380	0.295	0.259	0.431
17/07/2019	31	0.073	0.190	0.390	0.225	0.186	0.435	0.330	0.287	0.448

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
18/07/2019	32	0.073	0.182	0.402	0.225	0.188	0.440	0.335	0.295	0.451
19/07/2019	33	0.073	0.174	0.408	0.200	0.190	0.462	0.364	0.303	0.453
22/07/2019	36	0.099	0.220	0.410	0.204	0.191	0.457	0.353	0.364	0.474

Tabla 7-35. Monitoreo de Cianuro a 25°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	46.2	44.8	39.9	44.1	47.2	47.6	42.5	44.6	46.7
18/06/2019	2	45.9	44.6	38.1	41.1	43.9	47.3	41.2	43.1	44.9
19/06/2019	3	43.2	43.4	38.1	35.2	42.0	46.5	33.4	38.2	43.0
20/06/2019	4	41.8	42.2	37.7	32.6	40.9	43.0	26.3	31.4	36.4
21/06/2019	5	41.6	39.5	37.6	27.6	31.9	38.8	25.6	30.8	35.9
24/06/2019	8	40.8	35.4	34.8	26.1	30.6	37.3	22.0	28.0	33.9
25/06/2019	9	39.9	31.4	32.7	25.6	30.4	36.4	21.3	27.6	33.8
26/06/2019	10	39.1	30.5	30.5	24.0	30.4	35.5	21.3	26.3	31.3
27/06/2019	11	37.9	30.5	29.6	23.3	30	34.9	20.1	25.6	31.1
28/06/2019	12	36.4	29.9	28.9	23	29	34.6	20.1	25.1	30.0
01/07/2019	15	35.0	29.3	28.4	20.8	27.7	34.5	17.8	22.9	28.0

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
02/07/2019	16	35.1	28.6	27.6	20.6	25.6	34.4	16.2	21.5	26.7
03/07/2019	17	34.1	27.2	27.3	19.9	25.5	32.1	15.2	20.9	26.5
04/07/2019	18	32.3	27.1	27.1	19.3	25.5	31.8	14.8	20.3	25.7
05/07/2019	19	31.9	26.7	25.8	18.6	24.2	31.5	12.9	19.1	25.3
08/07/2019	22	31.3	26.5	24.3	15.4	22.5	31.5	12.6	18.4	24.2
09/07/2019	23	31.0	25.3	24.2	14.8	21.9	30.7	12.6	18.2	23.8
10/07/2019	24	26.5	25.0	24.1	14.4	21.6	30.7	13.0	17.9	22.8
11/07/2019	25	23.1	25.0	23.8	14.2	20.7	28.1	11.0	16.8	22.6
12/07/2019	26	22.1	23.8	22.1	13.4	20.7	27.7	10.9	15.9	20.8
15/07/2019	29	17.7	23.3	21.8	13.2	19.5	25.8	10.3	14.8	19.2
16/07/2019	30	16.5	23.0	19.1	12.9	19.2	24.8	9.87	14.0	18.2
17/07/2019	31	14.4	20.5	17.45	12.6	19.1	24.7	8.76	13.2	17.6
18/07/2019	32	12.9	19.0	17.3	12.5	18.7	22.3	8.66	12.6	16.5
19/07/2019	33	10.7	14.8	16.2	10.9	15.2	21.8	6.66	10.2	13.8
22/07/2019	36	8.54	14.8	17.7	8.19	14.8	15.9	6.39	8.5	10.7

Tabla 7-36. Monitoreo de Cianuro a 30°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	36.9	44.2	35.3	38.4	39.5	44.1	33.7	36.6	40.8
18/06/2019	2	32.3	41	30.9	33	36.4	39.9	31.5	36.4	40.4
19/06/2019	3	32.1	35.2	28.8	30.5	35.9	41.8	30.4	36.1	40.2
20/06/2019	4	31.9	34.6	28.5	30.4	32	38.7	28.2	34.9	37.7
21/06/2019	5	31.1	29.6	25.2	27.6	27.4	33.3	24.1	34.0	30.3
24/06/2019	8	26.6	28.9	24.8	24.2	27.2	31.0	21.7	27.0	28.7
25/06/2019	9	23.3	28.4	24.8	23.3	26.7	30.9	21.0	25.6	28.6
26/06/2019	10	22.1	28.1	24.4	21.9	26.5	30.9	20.7	25.5	28.5
27/06/2019	11	22.1	28.0	23.8	20.9	26.4	30.9	19.8	24.8	28.1
28/06/2019	12	22.1	27.2	23.1	20.1	26.1	30.6	18.8	24.1	26.9
01/07/2019	15	21.4	26.6	22.7	20.1	25.9	30.4	18.5	23.9	26.8
02/07/2019	16	21.4	26.1	22.5	19.7	25.0	28.6	18.2	23.1	26.6
03/07/2019	17	21	25.6	22.2	19.7	25.05	26.6	17.9	22.3	24.9
04/07/2019	18	20	25.5	21.6	19.3	24.5	26.6	17.8	21.9	23.6
05/07/2019	19	19.1	24.9	21.1	18.1	24.0	26.0	17.3	20.6	23.1
08/07/2019	22	18.6	24.1	20.7	18.1	23.9	25.7	16.9	20.5	20.4
09/07/2019	23	18.5	23.6	20.1	17.5	23.7	25.1	16.6	19.9	20.2

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
10/07/2019	24	17.0	20.1	18.6	17.4	21.3	21.5	13.8	19	20.1
11/07/2019	25	13.9	19.8	16.7	14.8	18.8	20.8	13.6	16.3	19.5
12/07/2019	26	13.9	18.5	15.0	13.2	18.5	20.3	13.4	15.2	18.8
15/07/2019	29	13.8	17.8	15.0	12.2	18.3	20.1	12.2	14.5	18.6
16/07/2019	30	13.3	17.6	14.9	11.6	17.8	19.9	11.6	13.8	17.7
17/07/2019	31	13.0	17.0	14.75	11.55	17.4	19.5	11.1	13.8	17.4
18/07/2019	32	12.8	16.9	14.7	10.9	17.2	19.4	10.5	13.7	17.1
19/07/2019	33	11.1	16.9	14.5	10.7	16.7	19.1	9.6	13.25	16.6
22/07/2019	36	10.1	16.9	18.2	8.3	12.5	16.2	7.78	11.8	14.2

Tabla 7-37. Monitoreo de Cianuro a 35°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	46.9	43.3	40.1	34.8	40.9	39.3	33.3	40.8	37.9
18/06/2019	2	33.4	34.3	35.6	30.6	33.1	34.1	30.8	33.1	33.2
19/06/2019	3	32.8	34.0	33.6	25.2	31.8	31.9	23.9	30.4	32.9
20/06/2019	4	30.4	34.0	33.3	22.0	31.7	31.6	22.1	27.2	31.6
21/06/2019	5	30.4	29.5	29.5	19.6	25.4	27.8	21.9	25.5	26.5

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
24/06/2019	8	30.3	26.9	29.1	19.4	25.1	26.1	21.2	24.8	26.0
25/06/2019	9	28.0	26.7	25.4	19.3	25.0	25.1	20.7	24.2	25.4
26/06/2019	10	27.2	26.2	25.0	17.0	24.2	24.6	20.0	23.5	25.1
27/06/2019	11	26.7	26.1	24.6	16.7	24.1	24.5	19.9	23.4	25.1
28/06/2019	12	26.1	25.8	24.5	16.1	23.1	24.2	19.6	23.3	25.1
01/07/2019	15	25.5	25.7	24.0	14.0	22.1	23.5	19.2	23.3	24.8
02/07/2019	16	25.2	25.4	23.6	13.8	22.0	22.7	17.7	23.2	23.8
03/07/2019	17	23.0	25.4	23.5	13.5	21.4	22.3	16.8	22.1	23.4
04/07/2019	18	22.7	25.0	23.0	13.1	21.3	22.1	16.6	21.8	21.7
05/07/2019	19	22.1	23.6	22.2	12.8	21.2	21.7	16.0	21.6	21.5
08/07/2019	22	20.9	23.4	21.6	12.8	19.8	21.3	15.5	20.9	21.1
09/07/2019	23	20.4	23.0	21.6	11.5	18.7	21.1	15.4	20.2	20.6
10/07/2019	24	20.4	22.3	21.5	11.5	18.4	20.7	15.3	20.2	19.7
11/07/2019	25	20.1	21.4	21.3	10.3	17.7	20.7	15.3	19.1	19.5
12/07/2019	26	19.4	19.4	20.4	9.7	17.1	20.2	11.9	18.9	19.4
15/07/2019	29	19.2	19.3	19.7	9.5	16.8	19.1	11.9	18.6	18.7
16/07/2019	30	18.8	19.2	19.2	9.0	16.4	17.5	11.6	18.3	17.9
17/07/2019	31	18.6	17.8	18.3	8.9	15.4	17.5	10.2	16.8	16.5

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
18/07/2019	32	15.3	17.6	17.6	8.7	15.1	16.4	9.7	16.1	16.3
19/07/2019	33	15.1	15.0	16.8	7.8	14.5	16.4	9.5	14.2	16.1
22/07/2019	36	12.7	14.0	13.6	7.5	13.0	13.5	6.5	12.3	12.2

Tabla 7-38. Remoción de Cianuro a 25°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18/06/2019	2	1	0	5	7	7	1	3	3	4
19/06/2019	3	6	3	5	20	11	2	21	14	8
20/06/2019	4	10	6	6	26	13	10	38	30	22
21/06/2019	5	10	12	6	37	32	18	40	31	23
24/06/2019	8	12	21	13	41	35	22	48	37	27
25/06/2019	9	14	30	18	42	36	24	50	38	28
26/06/2019	10	15	32	24	46	36	25	50	41	33
27/06/2019	11	18	32	26	47	36	27	53	43	33
28/06/2019	12	21	33	28	48	39	27	53	44	36
01/07/2019	15	24	35	29	53	41	28	58	49	40

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
02/07/2019	16	24	36	31	53	46	28	62	52	43
03/07/2019	17	26	39	32	55	46	33	64	53	43
04/07/2019	18	30	40	32	56	46	33	65	55	45
05/07/2019	19	31	40	35	58	49	34	70	57	46
08/07/2019	22	32	41	39	65	52	34	70	59	48
09/07/2019	23	33	44	39	66	54	36	70	59	49
10/07/2019	24	43	44	40	67	54	36	69	60	51
11/07/2019	25	50	44	40	68	56	41	74	62	52
12/07/2019	26	52	47	45	70	56	42	74	64	55
15/07/2019	29	62	48	45	70	59	46	76	67	59
16/07/2019	30	64	49	52	71	59	48	77	69	61
17/07/2019	31	69	54	56	71	60	48	79	70	62
18/07/2019	32	72	58	57	72	60	53	80	72	65
19/07/2019	33	77	67	59	75	68	54	84	77	70
22/07/2019	36	82	67	56	81	69	67	85	81	77

Tabla 7-39. Remoción de Cianuro a 30°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18/06/2019	2	12	7	12	14	8	10	7	1	1
19/06/2019	3	13	20	18	21	9	5	10	1	1
20/06/2019	4	14	22	19	21	19	12	16	5	8
21/06/2019	5	16	33	29	28	31	24	28	7	26
24/06/2019	8	28	35	30	37	31	30	36	26	30
25/06/2019	9	37	36	30	39	32	30	38	30	30
26/06/2019	10	40	36	31	43	33	30	39	30	30
27/06/2019	11	40	37	33	46	33	30	41	32	31
28/06/2019	12	40	38	35	48	34	31	44	34	34
01/07/2019	15	42	40	36	48	34	31	45	35	34
02/07/2019	16	42	41	36	49	37	35	46	37	35
03/07/2019	17	43	42	37	49	37	40	47	39	39
04/07/2019	18	46	42	39	50	38	40	47	40	42
05/07/2019	19	48	44	40	53	39	41	49	44	43
08/07/2019	22	50	45	41	53	39	42	50	44	50
09/07/2019	23	50	47	43	54	40	43	51	46	50

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
10/07/2019	24	54	55	47	55	46	51	59	48	51
11/07/2019	25	62	55	53	61	52	53	60	55	52
12/07/2019	26	62	58	58	66	53	54	60	58	54
15/07/2019	29	63	60	58	68	54	54	64	60	54
16/07/2019	30	64	60	58	70	55	55	66	62	57
17/07/2019	31	65	62	58	70	56	56	67	62	57
18/07/2019	32	65	62	58	72	56	56	69	63	58
19/07/2019	33	70	62	59	72	58	57	72	64	59
22/07/2019	36	73	62	48	78	68	63	77	68	65

Tabla 7-40. Remoción de Cianuro a 35°C

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
17/06/2019	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18/06/2019	2	29	21	11	12	19	13	8	19	12
19/06/2019	3	30	21	16	28	22	19	28	25	13
20/06/2019	4	35	21	17	37	22	20	34	33	17
21/06/2019	5	35	32	26	44	38	29	34	38	30
24/06/2019	8	35	38	27	44	39	34	36	39	31

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
25/06/2019	9	40	38	37	45	39	36	38	41	33
26/06/2019	10	42	39	38	51	41	37	40	42	34
27/06/2019	11	43	40	39	52	41	38	40	43	34
28/06/2019	12	44	40	39	54	44	38	41	43	34
01/07/2019	15	46	41	40	60	46	40	42	43	35
02/07/2019	16	46	41	41	60	46	42	47	43	37
03/07/2019	17	51	41	42	61	48	43	50	46	38
04/07/2019	18	52	42	43	62	48	44	50	47	43
05/07/2019	19	53	45	45	63	48	45	52	47	43
08/07/2019	22	55	46	46	63	52	46	54	49	44
09/07/2019	23	57	47	46	67	54	46	54	50	46
10/07/2019	24	57	48	46	67	55	47	54	51	48
11/07/2019	25	57	51	47	70	57	47	54	53	49
12/07/2019	26	59	55	49	72	58	49	64	54	49
15/07/2019	29	59	55	51	73	59	51	64	54	51
16/07/2019	30	60	56	52	74	60	55	65	55	53
17/07/2019	31	60	59	54	74	62	56	69	59	56
18/07/2019	32	67	59	56	75	63	58	71	61	57

Fecha/ Muestra	Tiempo operación (d)	9.5-10%	10.5-10%	11.5-10%	9.5-12.5%	10.5-12.5%	11.5-12.5%	9.5-15%	10.5-15%	11.5-15%
19/07/2019	33	68	65	58	78	65	58	71	65	58
22/07/2019	36	73	68	66	78	68	66	80	70	68

6.10 ANEXO X- Tiempo de equilibrio para sorción de metales

Tabla 7-41. Tiempo de equilibrio para metales

Muestra (No.)	Tiempo (min)	Cobre (mg·L ⁻¹)	Hierro (mg·L ⁻¹)	Níquel (mg·L ⁻¹)
0	0	6	10	1.5
1	1	-	0.61	-
2	2.5	-	0.46	-
3	5	-	0.36	-
4	10	-	0.23	-
5	12.5	-	0.22	-
6	15	-	0.20	-
7	30	2.32	0.00	0.81
8	60	1.72	0.00	0.53
9	90	1.60	0.00	0.51
10	180	1.57	0.00	0.41
11	270	1.65	0.00	0.77
12	360	1.93	0.00	0.75
13	540	2.41	0.00	0.89
14	720	2.41	0.00	0.82
15	1080	1.34	0.00	0.77
16	1440	1.13	0.00	1.00
17	2160	1.65	0.00	0.71
18	2880	0.84	0.00	1.08

6.11 ANEXO XI- Parámetros monitoreados en la evaluación del acomplejamiento de metales con cianuro para su biodegradación ($[CN]_i=30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Tabla 7-42. Monitoreo de Biomasa al encontrarse acomplejado el cianuro con metales

Cu	Fe	Ni	Fechas de operación												
			28/10/2019	28/10/2019	29/10/2019	30/10/2019	31/10/2019	01/11/2019	04/11/2019	05/11/2019	06/11/2019	07/11/2019	08/11/2019	11/11/2019	12/11/2019
Tiempo operación (d)			1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17
0	5	0.75	1.689	0.527	0.537	0.650	0.748	0.932	0.752	0.801	0.850	0.710	0.831	0.688	0.844
0	0	1.5	1.727	0.583	0.845	0.844	0.756	0.994	1.316	1.247	1.177	0.738	0.736	0.750	0.709
0	0	0.75	1.958	0.680	0.704	1.210	1.155	1.137	1.102	1.139	1.176	0.826	0.543	0.591	0.533
0	10	0.75	1.953	0.623	0.616	0.641	0.643	0.685	0.696	0.768	0.839	0.934	0.969	0.954	1.226
6	5	0.75	1.796	0.556	0.774	0.797	0.724	0.754	1.434	1.487	1.540	1.359	1.074	1.088	1.214
3	5	0	2.101	0.802	0.994	1.290	1.188	1.159	1.187	1.192	1.196	1.177	1.110	1.278	1.214
0	10	0	1.801	0.569	0.740	1.152	1.170	1.129	1.304	1.366	1.427	1.396	1.390	1.624	1.623
6	10	1.5	1.869	0.589	0.623	0.786	0.738	0.721	0.824	0.865	0.905	0.846	0.880	0.805	0.846
3	5	1.5	1.836	0.650	0.847	0.952	0.755	0.754	1.135	1.186	1.024	0.988	1.033	0.745	0.979
0	0	0	1.711	0.495	0.506	0.604	0.574	0.549	0.695	0.776	0.557	0.490	0.567	0.614	0.702
3	0	0.75	1.840	0.588	0.639	0.701	0.667	0.626	0.440	0.532	0.624	0.521	0.610	0.426	0.649
3	10	0.75	1.882	0.713	0.859	0.789	0.784	0.778	0.719	0.863	1.007	0.958	1.054	1.350	1.202

Cu	Fe	Ni	Fechas de operación												
			28/10/2019	28/10/2019	29/10/2019	30/10/2019	31/10/2019	01/11/2019	04/11/2019	05/11/2019	06/11/2019	07/11/2019	08/11/2019	11/11/2019	12/11/2019
Tiempo operación (d)			1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17
6	5	0	1.605	0.486	0.306	0.766	0.478	0.526	0.404	0.855	0.805	0.720	0.885	0.766	1.119
3	0	0	1.583	0.521	0.905	0.834	0.702	0.749	0.730	0.736	0.741	0.732	0.825	0.835	0.939
6	0	1.5	1.941	0.640	0.441	0.847	0.722	0.747	0.756	1.064	1.372	0.946	0.784	0.957	0.915
3	0	1.5	1.868	0.606	0.778	1.032	0.971	1.211	1.078	1.037	1.297	1.192	0.777	0.702	0.753
3	5	0.75	1.919	0.645	0.964	0.918	0.815	0.817	0.930	1.115	1.299	1.118	0.978	0.931	1.120
6	0	0.75	1.670	0.443	0.727	0.670	0.654	0.532	0.481	0.899	0.816	0.861	0.718	0.701	0.799
0	10	1.5	1.879	0.604	1.059	0.912	0.845	0.834	0.845	0.877	0.908	0.884	0.922	0.818	1.216
3	10	1.5	1.751	0.557	0.440	0.426	0.463	1.053	0.625	0.715	0.804	1.026	0.865	0.830	1.107
6	10	0.75	1.906	0.584	0.993	0.695	0.682	1.241	1.253	1.327	1.400	1.103	1.001	1.291	1.086
3	10	0	1.738	0.702	0.610	0.914	0.817	0.750	1.096	1.081	1.066	1.182	1.005	1.347	1.169
0	5	0	1.964	0.709	0.768	0.852	0.693	1.246	1.266	0.955	0.644	0.665	0.740	0.760	0.819
6	10	0	1.893	0.751	0.856	0.940	0.817	1.291	0.967	1.209	1.451	1.243	1.188	1.380	1.230
6	0	0	1.882	0.695	0.524	0.754	0.625	1.229	0.745	1.011	1.276	0.664	0.786	1.010	1.010
6	5	1.5	1.924	0.457	0.683	0.648	0.682	1.160	0.505	0.612	0.718	0.685	0.775	0.834	1.166
0	5	1.5	1.720	0.509	1.045	0.806	0.771	0.652	0.819	0.964	1.109	0.652	1.025	1.071	1.229

Tabla 7-43. Monitoreo de biomasa al encontrarse acomplejado el cianuro con metales (continuación)

Cu	Fe	Ni	Fecha de operación												
			13/11/2019	14/11/2019	15/11/2019	19/11/2019	20/11/2019	21/11/2019	22/11/2019	25/11/2019	26/11/2019	27/11/2019	28/11/2019	29/11/2019	02/11/2019
Tiempo operación (d)			18	19	20	21	22	23	26	27	28	29	30	34	36
0	5	0.75	0.785	0.862	0.830	0.854	1.060	1.073	0.897	1.064	0.963	0.827	1.224	0.951	0.934
0	0	1.5	0.707	0.719	0.744	0.814	0.910	0.672	0.791	0.882	0.972	0.877	0.781	0.725	0.816
0	0	0.75	0.556	0.540	0.714	0.725	0.720	0.678	0.699	0.999	1.099	1.022	0.745	0.649	0.734
0	10	0.75	1.147	1.157	1.167	1.161	1.313	1.200	1.257	1.378	1.500	1.346	1.291	1.210	1.112
6	5	0.75	1.169	1.179	1.434	1.296	1.201	1.118	1.160	1.311	1.336	1.333	1.203	1.175	1.151
3	5	0	1.264	1.557	1.444	1.654	1.456	1.310	1.383	1.297	1.210	1.218	1.225	1.391	1.364
0	10	0	1.430	1.365	1.320	1.258	1.187	1.059	1.123	1.077	1.030	1.143	1.255	1.181	1.402
6	10	1.5	0.868	0.871	0.976	1.436	1.570	1.374	1.272	1.363	1.454	1.336	1.218	1.187	1.058
3	5	1.5	0.962	1.141	0.961	1.000	1.202	1.075	1.139	1.046	0.953	1.282	1.110	1.117	1.217
0	0	0	0.537	0.552	0.546	0.595	0.751	0.717	0.734	0.672	0.610	0.662	0.714	0.743	0.846
3	0	0.75	0.766	1.201	1.044	1.007	0.881	0.778	0.830	0.934	1.038	0.909	0.779	0.814	1.181
3	10	0.75	1.186	1.659	1.438	1.506	1.426	1.161	1.294	1.335	1.377	1.363	1.348	1.177	1.000
6	5	0	1.084	1.512	1.302	1.471	1.195	1.072	1.134	1.084	1.034	1.109	1.184	1.067	1.143
3	0	0	0.990	0.928	1.153	0.850	0.902	0.806	0.854	0.979	1.103	1.028	0.952	0.922	1.154

Cu	Fe	Ni	Fecha de operación												
			13/11/2019	14/11/2019	15/11/2019	19/11/2019	20/11/2019	21/11/2019	22/11/2019	25/11/2019	26/11/2019	27/11/2019	28/11/2019	29/11/2019	02/11/2019
Tiempo operación (d)			18	19	20	21	22	23	26	27	28	29	30	34	36
6	0	1.5	0.875	1.413	1.097	0.861	1.159	0.840	1.000	1.212	1.424	1.254	1.083	1.107	0.940
3	0	1.5	0.809	0.693	0.727	0.931	1.027	0.852	0.940	1.239	1.538	1.276	1.014	0.992	0.909
3	5	0.75	1.110	1.115	0.920	1.274	1.347	1.249	1.298	1.320	1.341	1.330	1.319	1.295	1.218
6	0	0.75	0.875	0.803	0.917	1.046	1.110	1.051	1.081	1.180	1.280	1.154	1.027	1.221	1.082
0	10	1.5	1.340	1.452	1.354	1.631	1.414	1.336	1.375	1.137	0.898	0.896	0.893	1.145	1.352
3	10	1.5	1.319	1.022	1.063	1.544	1.283	1.184	1.234	1.156	1.078	1.138	1.198	1.158	1.175
6	10	0.75	1.147	1.464	1.430	1.183	1.350	1.261	1.306	1.180	1.055	1.176	1.296	1.163	1.381
3	10	0	1.005	1.012	1.482	1.467	1.091	0.969	1.030	1.064	1.097	1.114	1.130	1.076	1.290
0	5	0	0.857	1.064	1.000	1.259	1.129	1.018	1.074	0.971	0.869	0.986	1.103	1.106	1.173
6	10	0	1.257	1.144	1.045	1.316	1.378	1.273	1.326	1.253	1.180	1.281	1.382	1.304	1.401
6	0	0	0.831	1.241	1.140	1.031	1.035	0.925	0.980	0.896	0.812	0.930	1.047	0.855	1.106
6	5	1.5	0.914	0.982	1.210	1.360	1.106	0.937	1.022	1.118	1.214	1.186	1.158	0.975	1.236
0	5	1.5	1.207	0.852	1.337	1.464	1.087	1.284	1.186	1.198	1.210	1.224	1.237	0.939	0.979

Tabla 7-44. Monitoreo de cianuro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) al encontrarse acomplejado con metales

Cu	Fe	Ni	Fechas de operación												
			28/10/2019	28/10/2019	29/10/2019	30/10/2019	31/10/2019	01/11/2019	04/11/2019	05/11/2019	06/11/2019	07/11/2019	08/11/2019	11/11/2019	12/11/2019
Tiempo operación (d)			1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17
0	5	0.75	33.48	29.50	16.00	16.70	16.07	15.44	13.72	12.00	10.50	8.95	8.92	8.90	8.24
0	0	1.5	32.71	29.50	19.37	19.37	19.37	18.74	16.89	14.40	14.40	12.30	12.00	10.70	10.25
0	0	0.75	33.91	30.70	20.40	19.80	17.75	17.45	15.30	15.10	15.10	12.80	12.50	11.70	11.50
0	10	0.75	34.11	30.90	25.00	16.30	12.79	8.58	8.33	8.08	7.97	6.71	6.69	6.60	6.24
6	5	0.75	22.01	19.30	18.80	17.50	13.86	12.96	12.00	11.10	10.30	10.10	9.51	9.28	8.78
3	5	0	28.51	25.30	18.10	15.40	14.15	13.65	13.40	12.90	12.90	10.40	9.45	8.63	7.87
0	10	0	30.51	27.30	17.90	17.30	12.64	8.61	7.98	7.56	7.56	7.13	7.13	7.13	6.05
6	10	1.5	18.11	16.80	14.90	14.75	13.80	13.25	12.70	12.70	11.70	10.90	10.80	10.30	10.20
3	5	1.5	25.61	22.40	19.88	19.88	19.69	18.64	17.40	17.30	13.10	12.50	11.60	10.70	9.82
0	0	0	41.11	37.90	25.50	20.86	18.70	17.46	17.46	16.60	16.22	16.22	13.60	13.40	13.20
3	0	0.75	24.51	21.30	19.80	19.70	17.75	15.90	15.80	15.80	14.90	14.20	14.00	13.60	13.30
3	10	0.75	27.51	24.30	22.30	20.00	17.70	17.70	14.80	11.90	11.90	11.40	10.40	9.93	8.82
6	5	0	22.01	21.00	19.20	18.80	16.70	14.85	13.00	12.70	12.40	12.40	11.80	11.50	11.10
3	0	0	28.51	25.30	21.90	21.20	17.90	17.70	17.00	16.15	15.20	14.70	14.60	14.40	14.10

Cu	Fe	Ni	Fechas de operación												
			28/10/2019	28/10/2019	29/10/2019	30/10/2019	31/10/2019	01/11/2019	04/11/2019	05/11/2019	06/11/2019	07/11/2019	08/11/2019	11/11/2019	12/11/2019
Tiempo operación (d)			1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17
6	0	1.5	31.01	20.50	19.05	18.10	17.60	17.15	16.70	15.90	15.70	15.40	15.30	15.10	13.90
3	0	1.5	26.81	24.10	21.50	19.70	19.50	18.90	18.50	18.10	17.60	15.70	15.00	13.70	13.60
3	5	0.75	30.21	20.50	18.20	17.00	15.90	15.45	15.00	13.80	11.60	11.20	10.80	10.70	10.50
6	0	0.75	24.51	23.40	21.00	20.55	20.10	19.00	18.20	17.90	17.20	16.40	15.80	15.60	15.40
0	10	1.5	27.01	23.80	20.70	18.70	18.10	15.50	15.25	15.00	12.90	12.01	10.40	9.21	8.67
3	10	1.5	21.41	18.30	18.20	16.80	14.14	13.20	13.20	12.20	11.00	10.80	10.10	9.97	9.88
6	10	0.75	19.31	17.70	17.50	16.30	16.10	16.05	16.00	15.45	14.60	13.60	11.20	11.20	11.00
3	10	0	20.31	18.80	17.10	16.95	16.10	15.10	14.45	13.80	11.10	10.50	10.50	9.70	9.50
0	5	0	24.51	21.30	20.70	17.00	14.95	13.90	12.55	11.20	10.10	9.58	8.11	7.70	7.25
6	10	0	22.91	22.60	20.30	19.95	19.70	18.00	17.30	15.30	14.80	10.50	10.40	10.10	10.00
6	0	0	25.80	22.01	20.55	18.80	18.80	18.20	18.00	15.40	15.30	15.30	14.80	14.80	14.30
6	5	1.5	31.51	28.30	22.00	21.90	20.85	19.80	19.30	17.98	17.90	17.70	17.00	16.70	16.20
0	5	1.5	24.91	21.70	16.90	12.30	11.80	11.35	11.10	10.40	10.10	9.44	9.32	8.41	8.27

Tabla 7-45. Monitoreo de cianuro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) al encontrarse acomplejado con metales (continuación)

Cu	Fe	Ni	Fecha de operación												
			13/11/2019	14/11/2019	15/11/2019	19/11/2019	20/11/2019	21/11/2019	22/11/2019	25/11/2019	26/11/2019	27/11/2019	28/11/2019	29/11/2019	02/11/2019
Tiempo operación (d)			18	19	20	21	22	23	26	27	28	29	30	34	36
0	5	0.75	8.23	7.55	7.48	5.97	5.73	5.25	5.07	4.72	4.63	3.71	3.57	3.38	8.23
0	0	1.5	10.20	9.40	8.50	8.43	8.23	8.07	7.48	7.34	6.90	6.61	5.76	5.69	10.20
0	0	0.75	11.40	11.30	11.07	11.00	10.20	10.30	9.64	9.39	9.14	8.91	8.65	7.60	11.40
0	10	0.75	5.45	5.37	5.24	4.58	4.52	4.21	4.17	3.76	3.61	3.56	3.18	3.06	5.45
6	5	0.75	8.71	8.60	8.41	8.41	7.90	7.29	6.96	6.69	6.47	5.95	5.21	4.64	8.71
3	5	0	7.15	7.13	7.03	6.36	6.28	6.26	5.51	5.08	5.07	4.88	4.65	3.97	7.15
0	10	0	5.05	4.88	4.82	4.41	4.39	3.88	3.85	3.73	3.58	3.45	3.43	3.00	5.05
6	10	1.5	9.68	9.41	8.67	8.67	8.21	7.93	7.84	7.69	7.01	6.42	5.82	5.65	9.68
3	5	1.5	9.42	9.22	9.14	8.67	8.09	8.04	8.00	7.87	7.63	7.38	6.91	6.18	9.42
0	0	0	13.10	12.50	12.40	12.20	11.85	11.40	11.30	10.70	10.70	10.10	9.52	9.45	13.10
3	0	0.75	12.10	12.00	11.40	11.40	11.29	11.10	10.68	10.62	9.95	8.97	8.92	4.16	12.10
3	10	0.75	8.26	7.97	7.23	6.75	6.20	6.01	5.98	5.40	4.92	4.55	4.43	4.30	8.26
6	5	0	10.70	10.40	9.95	9.13	8.14	7.85	7.13	7.12	6.44	5.83	5.79	5.14	10.70
3	0	0	13.80	11.90	10.50	10.40	10.31	9.66	9.61	9.56	9.52	9.50	8.91	8.71	13.80

Cu	Fe	Ni	Fecha de operación												
			13/11/2019	14/11/2019	15/11/2019	19/11/2019	20/11/2019	21/11/2019	22/11/2019	25/11/2019	26/11/2019	27/11/2019	28/11/2019	29/11/2019	02/11/2019
Tiempo operación (d)			18	19	20	21	22	23	26	27	28	29	30	34	36
6	0	1.5	13.90	13.40	12.80	12.80	12.50	12.40	11.70	11.10	10.88	10.73	8.95	7.80	13.90
3	0	1.5	13.20	12.40	11.65	11.40	10.20	10.20	10.10	10.00	9.78	9.65	9.12	7.90	13.20
3	5	0.75	9.86	9.45	9.41	9.08	8.94	8.52	8.31	8.27	7.42	7.16	5.78	5.43	9.86
6	0	0.75	14.40	14.40	14.08	14.00	13.20	12.55	12.00	11.60	11.40	11.30	10.70	10.60	14.40
0	10	1.5	7.99	7.60	7.38	6.78	6.76	6.43	6.08	5.83	4.87	5.87	5.86	5.83	7.99
3	10	1.5	9.79	8.80	8.30	7.88	6.82	6.60	6.39	5.70	5.38	5.27	5.15	4.83	9.79
6	10	0.75	10.22	10.20	9.24	8.90	8.22	7.74	7.39	7.28	7.26	7.10	6.27	5.25	10.22
3	10	0	9.38	9.37	9.32	8.50	8.34	7.85	7.68	6.81	6.18	6.01	5.77	5.47	9.38
0	5	0	6.85	6.66	5.82	5.38	5.38	5.20	5.14	4.62	4.55	4.77	4.12	4.10	6.85
6	10	0	9.71	9.18	8.77	8.30	7.43	7.38	7.24	6.77	6.67	5.72	6.20	6.10	9.71
6	0	0	13.70	13.40	13.30	12.50	12.05	11.90	10.99	10.80	10.77	10.40	9.90	9.48	13.70
6	5	1.5	14.90	14.00	13.60	12.90	12.00	12.00	11.10	11.10	11.00	10.48	10.48	8.96	14.90
0	5	1.5	7.82	7.63	7.38	6.94	6.72	6.49	6.28	6.01	5.98	5.73	5.46	5.10	7.82

Tabla 7-46. Monitoreo de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales

Cu	Fe	Ni	Fechas de operación												
			28/10/2019	28/10/2019	29/10/2019	30/10/2019	31/10/2019	01/11/2019	04/11/2019	05/11/2019	06/11/2019	07/11/2019	08/11/2019	11/11/2019	12/11/2019
Tiempo operación (d)			1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17
0	5	0.75	0	12	52	50	52	54	59	64	69	73	73	73	75
0	0	1.5	0	10	41	41	41	43	48	56	56	62	63	67	69
0	0	0.75	0	9	40	42	48	49	55	55	55	62	63	65	66
0	10	0.75	0	9	27	52	63	75	76	76	77	80	80	81	82
6	5	0.75	0	12	15	20	37	41	45	50	53	54	57	58	60
3	5	0	0	11	37	46	50	52	53	55	55	64	67	70	72
0	10	0	0	11	41	43	59	72	74	75	75	77	77	77	80
6	10	1.5	0	7	18	19	24	27	30	30	35	40	40	43	44
3	5	1.5	0	13	22	22	23	27	32	32	49	51	55	58	62
0	0	0	0	8	38	49	55	58	58	60	61	61	67	67	68
3	0	0.75	0	13	19	20	28	35	36	36	39	42	43	45	46
3	10	0.75	0	12	19	27	36	36	46	57	57	59	62	64	68
6	5	0	0	5	13	15	24	33	41	42	44	44	46	48	50
3	0	0	0	11	23	26	37	38	40	43	47	48	49	49	51

Cu	Fe	Ni	Fechas de operación												
			28/10/2019	28/10/2019	29/10/2019	30/10/2019	31/10/2019	01/11/2019	04/11/2019	05/11/2019	06/11/2019	07/11/2019	08/11/2019	11/11/2019	12/11/2019
Tiempo operación (d)			1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17
6	0	1.5	0	34	39	42	43	45	46	49	49	50	51	51	55
3	0	1.5	0	10	20	27	27	30	31	32	34	41	44	49	49
3	5	0.75	0	32	40	44	47	49	50	54	62	63	64	65	65
6	0	0.75	0	5	14	16	18	22	26	27	30	33	36	36	37
0	10	1.5	0	12	23	31	33	43	44	44	52	56	61	66	68
3	10	1.5	0	15	15	22	34	38	38	43	49	50	53	53	54
6	10	0.75	0	8	9	16	17	17	17	20	24	30	42	42	43
3	10	0	0	7	16	17	21	26	29	32	45	48	48	52	53
0	5	0	0	13	16	31	39	43	49	54	59	61	67	69	70
6	10	0	0	1	11	13	14	21	24	33	35	54	55	56	56
6	0	0	0	15	20	27	27	29	30	40	41	41	43	43	45
6	5	1.5	0	10	30	30	34	37	39	43	43	44	46	47	49
0	5	1.5	0	13	32	51	53	54	55	58	59	62	63	66	67

Tabla 7-47. Monitoreo de la biodegradación de cianuro (%) al encontrarse acomplejado con metales (continuación)

Cu	Fe	Ni	Fecha de operación												
			13/11/2019	14/11/2019	15/11/2019	19/11/2019	20/11/2019	21/11/2019	22/11/2019	25/11/2019	26/11/2019	27/11/2019	28/11/2019	29/11/2019	02/11/2019
Tiempo operación (d)			18	19	20	21	22	23	26	27	28	29	30	34	36
0	5	0.75	75	77	78	82	83	84	85	86	86	89	89	90	75
0	0	1.5	69	71	74	74	75	75	77	78	79	80	82	83	69
0	0	0.75	66	67	67	68	70	70	72	72	73	74	74	78	66
0	10	0.75	84	84	85	87	87	88	88	89	89	90	91	91	84
6	5	0.75	60	61	62	62	64	67	68	70	71	73	76	79	60
3	5	0	75	75	75	78	78	78	81	82	82	83	84	86	75
0	10	0	83	84	84	86	86	87	87	88	88	89	89	90	83
6	10	1.5	47	48	52	52	55	56	57	58	61	65	68	69	47
3	5	1.5	63	64	64	66	68	69	69	69	70	71	73	76	63
0	0	0	68	70	70	70	71	72	73	74	74	75	77	77	68
3	0	0.75	51	51	53	53	54	55	56	57	59	63	64	83	51
3	10	0.75	70	71	74	75	77	78	78	80	82	83	84	84	70
6	5	0	51	53	55	59	63	64	68	68	71	74	74	77	51
3	0	0	52	58	63	64	64	66	66	66	67	67	69	69	52

Cu	Fe	Ni	Fecha de operación												
			13/11/2019	14/11/2019	15/11/2019	19/11/2019	20/11/2019	21/11/2019	22/11/2019	25/11/2019	26/11/2019	27/11/2019	28/11/2019	29/11/2019	02/11/2019
Tiempo operación (d)			18	19	20	21	22	23	26	27	28	29	30	34	36
6	0	1.5	55	57	59	59	60	60	62	64	65	65	71	75	55
3	0	1.5	51	54	57	57	62	62	62	63	64	64	66	71	51
3	5	0.75	67	69	69	70	70	72	72	73	75	76	81	82	67
6	0	0.75	41	41	43	43	46	49	51	53	53	54	56	57	41
0	10	1.5	70	72	73	75	75	76	77	78	82	78	78	78	70
3	10	1.5	54	59	61	63	68	69	70	73	75	75	76	77	54
6	10	0.75	47	47	52	54	57	60	62	62	62	63	68	73	47
3	10	0	54	54	54	58	59	61	62	66	70	70	72	73	54
0	5	0	72	73	76	78	78	79	79	81	81	81	83	83	72
6	10	0	58	60	62	64	68	68	68	70	71	75	73	73	58
6	0	0	47	48	48	52	53	54	57	58	58	60	62	63	47
6	5	1.5	53	56	57	59	62	62	65	65	65	67	67	72	53
0	5	1.5	69	69	70	72	73	74	75	76	76	77	78	80	69

6.12 ANEXO XII- Parámetros monitoreados en la evaluación del tratamiento de cianuro acomplejado mediante reactores en lote con biomasa suspendida y biomasa inmovilizada ($[\text{CN}]_i=30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Tabla 7-48. Monitoreo del crecimiento de la biomasa y la biodegradación de cianuro en reactores en lote

Fecha	Día de operación	Densidad óptica (600 nm)			Cianuro					
		BS	BK1	BCP	BS (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BK1 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BCP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
18/03/2020	0				27.5		25.8		26.1	
18/03/2020	1	1.104	1.97	2.081	22.1	20	21.7	16	19.7	25
19/03/2020	2	1.292	1.67	1.7	19.2	30	17.3	33	19.2	26
20/03/2020	3	1.214	1.5	1.7765	19	31	14.40	44	13.34	49
23/03/2020	6	1.136	1.678	1.853	17	38	13.6	47	10.5	60
24/03/2020	7	1.148	1.65	1.656	16.75	39	13.2	49	7.57	71
25/03/2020	8	1.127	1.64	1.815	16.6	40	11.5	55	7.48	71
26/03/2020	9	1.106	1.63	1.7	14.3	48	8	69	6.16	76
27/03/2020	10	1.17	1.644	1.865	10.5	62	7.79	70	6.08	77
30/03/2020	13	1.141	1.761	1.8415	8.02	71	6.31	76	5.69	78
31/03/2020	14	1.112	1.878	1.818	6.73	76	5.09	80	5.38	79
01/04/2020	15	1.0875	1.7935	1.801	6.03	78	4.85	81	5.07	81
02/04/2020	16	1.063	1.709	1.784	5.91	79	4.76	82	4.99	81
03/04/2020	17	1.081	1.669	1.688	5.89	79	4.74	82	4.78	82
06/04/2020	20	1.084	1.624	1.497	5.86	79	4.63	82	4.67	82
07/04/2020	21	1.108	1.674	1.487	5.79	79	4.62	82	4.58	82
08/04/2020	22	1.132	1.724	1.477	5.44	80	4.58	82	4.42	83
09/04/2020	23	1.104	1.715	1.465	5.44	80	4.11	84	4.26	84
10/04/2020	24	1.076	1.706	1.453	5.40	80	4.07	84	4.2	84
13/04/2020	27	0.9645	1.721	1.477	5.18	81	3.98	85	4.16	84
14/04/2020	28	0.853	1.736	1.501	5	82	3.97	85	4.01	85
15/04/2020	29	0.979	1.748	1.542	4.99	82	3.87	85	3.85	85
16/04/2020	30	0.947	1.75	1.49	4.74	83	3.86	85	2.81	89

Fecha	Día de operación	Densidad óptica (600 nm)			Cianuro					
		BS	BK1	BCP	BS (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BK1 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BCP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
17/04/2020	31	1.083	1.81	1.521	4.53	84	3.64	86	3.73	86
20/04/2020	34	0.927	1.693	1.455	4.52	84	3.61	86	3.53	86
21/04/2020	35	0.886	1.678	1.408	4.18	85	3.31	87	3.5	87
22/04/2020	36	0.935	1.617	1.469	3.61	87	3.16	88	3.16	88
23/04/2020	37	0.945	1.712	1.516	2.97	89	2.51	90	2.31	91

6.13 ANEXO XIII- Parámetros monitoreados en la evaluación del tratamiento de relaves minero mediante reactores en continuo con biomasa suspendida y biomasa inmovilizada

Tabla 7-49. Monitoreo del pH y temperatura en reactores en continuo

Fecha	Día de operación	pH (unidades)				Temperatura (°C)				
		Influyente	BS	BK1	BCP	Influyente	BS	BK1	BCP	BS
18/06/2020	0	8.92	8.40	8.15	6.44	24	24	25	25	24
22/06/2020	4	9.90	9.79	9.00	9.37	24	26	25	25	26
29/06/2020	11	9.62	9.60	9.81	9.03	24	25	25	25	25
06/07/2020	18	9.71	9.41	9.61	9.68	24	26	24	25	26
13/07/2020	25	9.70	9.40	9.54	9.52	24	27	26	26	27
16/07/2020	28	9.24	9.40	9.80	9.50	25	23	22	23	23
20/07/2020	32	9.56	9.42	9.93	9.52	25	26	24	24	26
21/07/2020	33	8.84	9.43	9.72	9.56	26	24	25	26	24
22/07/2020	34	9.55	9.08	8.98	9.16	25	24	23	23	24
23/07/2020	35	9.89	9.06	9.15	9.30	25	23	23	23	23
24/07/2020	36	9.33	9.40	9.57	8.92	25	24	24	24	24

Fecha	Día de operación	pH (unidades)				Temperatura (°C)				
		Influyente	BS	BK1	BCP	Influyente	BS	BK1	BCP	BS
27/07/2020	39	9.71	9.40	9.59	9.62	25	22	24	24	22
30/07/2020	42	8.91	9.50	9.67	9.38	25	25	25	25	25
04/08/2020	47	8.84	9.60	9.34	9.53	27	23	24	25	23
05/08/2020	48	9.38	9.60	9.07	9.42	28	25	25	25	25
06/08/2020	49	9.20	9.37	9.27	9.30	25	24	24	25	24
07/08/2020	50	9.16	9.64	9.24	9.46	24	25	25	26	25
10/08/2020	53	9.74	9.25	9.58	9.70	24	27	25	25	27
12/08/2020	55	9.67	9.62	9.00	9.28	25	26	24	24	26
14/08/2020	57	9.60	9.51	9.52	9.53	25	24	23	24	24
15/08/2020	58	8.97	9.68	8.95	9.19	24	21	23	23	21
16/08/2020	59	9.10	9.61	9.62	9.57	25	24	23	23	24
18/08/2020	61	9.40	9.60	9.45	9.41	25	22	22	23	22
21/08/2020	65	9.86	9.52	9.36	9.50	25	25	25	25	25
24/08/2020	68	9.35	9.52	9.49	9.44	25	24	24	24	24
25/08/2020	69	9.67	9.29	9.83	9.24	25	26	24	24	26
26/08/2020	70	9.84	9.67	9.53	9.47	25	24	24	24	24
27/08/2020	71	9.57	9.65	9.29	9.29	24	22	24	24	22
28/08/2020	72	9.81	9.27	9.55	9.60	24	25	23	23	25
01/09/2020	75	9.45	9.82	9.19	9.27	25	23	23	23	23
02/09/2020	76	9.53	9.70	9.41	9.24	25	25	23	23	25
04/09/2020	78	9.56	9.46	9.15	9.21	24	20	20	22	20
08/09/2020	82	9.53	9.44	9.14	9.27	24	20	20	21	20
10/09/2020	84	9.50	9.81	9.67	9.51	24	22	22	22	22
14/09/2020	88	9.78	9.55	9.39	9.38	24	21	20	21	21
17/09/2020	91	9.05	9.65	9.36	9.39	24	21	21	21	21
20/09/2020	94	9.39	9.55	9.37	9.35	24	24	22	22	24
22/09/2020	96	9.40	9.51	9.49	9.51	21	19	19	19	19

Fecha	Día de operación	pH (unidades)				Temperatura (°C)				
		Influyente	BS	BK1	BCP	Influyente	BS	BK1	BCP	BS
24/09/2020	98	9.40	9.53	9.40	9.40	19	19	18	22	19
26/09/2020	100	9.50	9.59	9.24	9.32	22	18	22	18	18
29/09/2020	103	9.09	9.64	9.45	9.59	22	18	18	20	18
01/10/2020	106	9.68	9.38	9.24	9.30	21	21	21	18	21
03/10/2020	108	9.56	9.52	9.70	9.66	21	20	19	25	20
05/10/2020	110	9.53	9.30	9.00	9.21	23	22	24	23	22
06/10/2020	111	9.60	9.97	8.87	9.33	23	23	24	24	23
08/10/2020	113	9.57	9.87	8.85	9.58	23	22	25	19	22
13/10/2020	118	9.79	9.61	9.00	9.27	22	19	19	19	19
15/10/2020	120	9.50	9.84	9.00	9.33	22	19	19	20	19
20/10/2020	125	9.59	9.74	8.99	9.38	23	19	20	23	19
22/10/2020	127	9.16	9.70	8.90	8.87	23	23	23	21	23
24/10/2020	129	9.22	9.70	9.55	9.55	22	22	21	20	22
27/10/2020	132	9.14	9.85	9.17	8.94	22	21	20	21	21
29/10/2020	134	9.05	9.71	8.83	8.83	22	22	21	20	22
31/10/2020	137	9.23	9.91	9.88	9.89	22	22	20	22	22
02/11/2020	139	9.31	9.87	9.30	8.77	21	22	22	20	22
05/11/2020	141	9.56	9.68	9.28	8.91	21	19	19	18	19
07/11/2020	143	9.80	9.50	9.39	9.70	22	20	18	20	20

Tabla 7-50. Monitoreo de turbiedad en reactores en continuo

Fecha	Día de operación	Influyente (NTU)	BS (NTU)	Bio-degradación (%)	BK1 (NTU)	Bio-degradación (%)	BCP (NTU)	Bio-degradación (%)
18/06/2020	0	182	22	88	56	69	159	13
25/06/2020	7	210	24	87	46	75	117	36
29/06/2020	11	310	26	86	55	70	103	43

Fecha	Día de operación	Influyente (NTU)	BS (NTU)	Bio-degradación (%)	BK1 (NTU)	Bio-degradación (%)	BCP (NTU)	Bio-degradación (%)
30/06/2020	12	290	27	85	53	71	109	40
02/07/2020	14	230	28	85	32	82	90	51
06/07/2020	18	250	29	84	37	80	84	54
07/07/2020	19	176	29	84	44	76	107	41
09/07/2020	21	210	30	84	51	72	108	41
13/07/2020	25	290	31	83	41	77	108	40
14/07/2020	26	180	21	88	37	80	114	37
16/07/2020	28	260	26	86	54	70	121	33
20/07/2020	32	210	31	83	59	68	118	35
21/07/2020	33	220	28	85	39	79	98	46
23/07/2020	35	171	25	86	50	73	107	41
27/07/2020	39	190	24	87	49	73	105	42
28/07/2020	40	200	23	87	49	73	115	37
30/07/2020	42	180	25	86	48	74	114	37
04/08/2020	47	150	28	85	41	77	100	45
06/08/2020	49	210	26	86	37	80	89	51
10/08/2020	53	165	27	85	43	76	96	47
13/08/2020	57	164	30	84	39	79	92	49
19/08/2020	63	140	29	84	50	73	99	46
21/08/2020	65	140	28	85	46	75	100	45
25/08/2020	69	150	26	86	32	82	80	56
27/08/2020	71	150	25	86	38	79	78	57
01/09/2020	75	150	28	85	42	77	74	59
03/09/2020	77	180	31	83	47	74	72	60
08/09/2020	82	220	25	86	43	76	63	65
10/09/2020	84	260	19	90	32	82	60	67

Fecha	Día de operación	Influente (NTU)	BS (NTU)	Bio-degradación (%)	BK1 (NTU)	Bio-degradación (%)	BCP (NTU)	Bio-degradación (%)
13/09/2020	87	195	23	87	21	88	86	53
15/09/2020	89	130	18	90	25	86	71	61
22/09/2020	96	190	24	87	41	77	68	63
24/09/2020	98	110	24	87	44	76	53	71
29/09/2020	103	120	18	90	46	75	67	63
01/10/2020	106	130	12	93	47	74	61	66
06/10/2020	111	190	14	92	54	70	70	62
08/10/2020	113	150	16	91	52	71	66	64
13/10/2020	118	200	16	91	58	68	71	61
15/10/2020	120	160	24	87	53	71	77	58
20/10/2020	125	170	21	88	41	77	68	63
22/10/2020	127	180	18	90	40	78	79	57
27/10/2020	132	150	15	92	43	76	65	64
29/10/2020	134	120	13	93	44	76	77	58
01/11/2020	137	150	14	92	44	76	82	55
03/11/2020	139	100	16	91	47	74	75	59
05/11/2020	141	182	22	88	56	69	159	13

Tabla 7-51. Monitoreo del color aparente en reactores en continuo

Fecha	Día de operación	Influente (U Pt-Co)	BS (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)	BK1 (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)	BCP (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)
18/06/2020	0	570	759	0	446	22	463	19
25/06/2020	7	546	750	0	280	49	543	1
29/06/2020	11	576	680	0	244	58	345	40
30/06/2020	12	330	640	0	254	23	543	0

Fecha	Día de operación	Influyente (U Pt-Co)	BS (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)	BK1 (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)	BCP (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)
02/07/2020	14	301	694	0	178	41	523	0
06/07/2020	18	327	500	0	223	32	564	0
07/07/2020	19	597	510	15	251	58	566	5
09/07/2020	21	582	552	5	325	44	569	2
13/07/2020	25	561	552	2	231	59	453	19
14/07/2020	26	531	539	0	231	56	543	0
16/07/2020	28	369	510	0	234	37	546	0
20/07/2020	32	462	503	0	321	31	614	0
21/07/2020	33	387	478	0	234	40	564	0
23/07/2020	35	570	461	19	334	41	601	0
27/07/2020	39	369	500	0	349	5	584	0
28/07/2020	40	366	416	0	240	34	580	0
30/07/2020	42	576	480	17	245	57	412	28
04/08/2020	47	570	390	32	242	58	456	20
06/08/2020	49	543	344	37	253	53	441	19
10/08/2020	53	537	182	66	321	40	434	19
13/08/2020	57	570	167	71	245	57	352	38
19/08/2020	63	543	164	70	239	56	322	41
21/08/2020	65	525	194	63	223	58	267	49
25/08/2020	69	510	195	62	237	54	312	39
27/08/2020	71	462	250	46	210	55	376	19
01/09/2020	75	480	298	38	182	62	440	8
03/09/2020	77	519	260	50	212	59	392	24
08/09/2020	82	549	185	66	120	78	425	23
10/09/2020	84	579	101	83	123	79	470	19
13/09/2020	87	500	189	62	154	69	414	17

Fecha	Día de operación	Influyente (U Pt-Co)	BS (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)	BK1 (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)	BCP (U Pt-Co)	Bio-degradación (%)
15/09/2020	89	420	144	66	126	70	384	9
22/09/2020	96	579	129	78	249	57	266	54
24/09/2020	98	546	135	75	234	57	250	54
29/09/2020	103	588	127	78	280	52	297	50
01/10/2020	106	573	118	79	292	49	343	40
06/10/2020	111	555	173	69	111	80	205	63
08/10/2020	113	450	177	61	205	54	288	36
13/10/2020	118	345	160	54	138	60	312	10
15/10/2020	120	351	172	51	178	49	321	9
20/10/2020	125	417	139	67	179	57	282	32
22/10/2020	127	483	105	78	179	63	242	50
27/10/2020	132	386	170	56	175	55	138	64
29/10/2020	134	588	126	79	143	76	229	61
01/11/2020	137	537	119	78	155	71	193	64
03/11/2020	139	567	111	80	184	68	112	80
05/11/2020	141	576	146	75	111	81	191	67

Tabla 7-52. Monitoreo de la demanda química de oxígeno en reactores en continuo

Fecha	Día de operación	Influyente (mg·L ⁻¹)	BS (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BK1 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BCP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
18/06/2020	0	1558	482	69	329	79	237	85
25/06/2020	7	1474	747	49	565	62	313	79
29/06/2020	11	1390	1013	27	514	63	246	82
30/06/2020	12	919	516	44	471	49	288	69
02/07/2020	14	1114	871	22	729	35	359	68

Fecha	Día de operación	Influyente (mg·L ⁻¹)	BS (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BK1 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BCP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
06/07/2020	18	1308	996	24	870	34	367	72
07/07/2020	19	1297	855	34	701	46	471	64
09/07/2020	21	1286	798	38	711	45	310	76
13/07/2020	25	1382	1028	26	828	40	414	70
14/07/2020	26	1258	986	22	721	43	340	73
16/07/2020	28	1656	1152	30	782	53	262	84
20/07/2020	32	1224	919	25	663	46	261	79
21/07/2020	33	792	661	17	544	31	259	67
23/07/2020	35	1035	861	17	587	43	384	63
27/07/2020	39	914	736	19	652	29	372	59
28/07/2020	40	1049	773	26	582	45	331	68
30/07/2020	42	1183	971	18	599	49	457	61
04/08/2020	47	1068	913	15	583	45	332	69
06/08/2020	49	1708	850	50	670	61	493	71
10/08/2020	53	1850	1254	32	712	62	500	73
13/08/2020	57	1587	1150	28	810	49	401	75
19/08/2020	63	886	533	40	274	69	186	79
21/08/2020	65	1236	855	31	614	50	274	78
25/08/2020	69	1541	762	51	422	73	465	70
27/08/2020	71	888	746	16	462	48	346	61
01/09/2020	75	1684	837	50	507	70	366	78
03/09/2020	77	914	518	43	481	47	386	58
08/09/2020	82	1043	532	49	454	57	406	61
10/09/2020	84	1041	665	36	514	51	372	64
13/09/2020	87	1140	700	39	538	53	381	67
15/09/2020	89	1379	734	47	495	64	362	74

Fecha	Día de operación	Influyente (mg·L ⁻¹)	BS (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BK1 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BCP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
22/09/2020	96	1219	609	50	354	71	261	79
24/09/2020	98	1402	540	61	776	45	279	80
29/09/2020	103	1984	724	64	401	80	293	85
01/10/2020	106	1552	533	66	336	78	285	82
06/10/2020	111	1119	601	46	361	68	382	66
08/10/2020	113	1227	577	53	477	61	436	64
13/10/2020	118	1335	552	59	593	56	489	63
15/10/2020	120	1556	631	59	573	63	273	82
20/10/2020	125	1768	564	68	535	70	463	74
22/10/2020	127	1261	612	51	568	55	379	70
27/10/2020	132	1754	661	62	601	66	296	83
29/10/2020	134	1743	780	55	519	70	335	81
01/11/2020	137	1764	541	69	684	61	257	85
03/11/2020	139	0					0	
05/11/2020	141	0					0	

Tabla 7-53. Monitoreo de cianuro total en reactores en continuo

Fecha	Día de operación	Influyente (mg·L ⁻¹)	BS (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BK1 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BCP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
18/06/2020	1	35	10.6	69.3	5.3	84.7	4.2	87.9
29/06/2020	2	33	13.0	60.3	5.9	82.0	3.5	89.3
06/07/2020	3	37	15.6	58.3	5.2	86.0	3.7	90.1
13/07/2020	4	39	18.1	53.6	6.4	83.6	4.7	88.0
20/07/2020	5	36	16.4	54.4	5.2	85.5	3.4	90.7
27/07/2020	6	37	13.0	64.9	5.1	86.1	3.2	91.4

Fecha	Día de operación	Influyente (mg·L ⁻¹)	BS (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BK1 (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)	BCP (mg·L ⁻¹)	Bio-degradación (%)
04/08/2020	7	41	14.5	64.6	4.9	88.0	3.9	90.5
13/08/2020	8	38	13.3	65.0	4.8	87.4	3.1	91.8
19/08/2020	9	41	14.2	65.5	5.8	85.9	3.2	92.2
01/09/2020	10	43	12.0	72.1	4.7	89.1	2.9	93.3
08/09/2020	11	38	13.8	63.7	3.6	90.5	2.1	94.5
15/09/2020	12	39	10.6	72.8	3.8	90.2	1.8	95.3
24/09/2020	13	45	13.3	70.4	3.8	91.5	1.9	95.8
01/10/2020	14	43	12.4	71.2	4.9	88.6	1.8	95.9
08/10/2020	15	40	12.1	69.8	3.8	90.6	2.0	95.0
13/10/2020	16	33	18.4	44.2	4.2	87.4	1.8	94.5
20/10/2020	17	38	15.0	60.5	3.6	90.5	2.1	94.5
29/10/2020	18	30	11.7	61.0	3.8	87.3	1.6	94.7
05/11/2020	19	37	9.4	74.6	4.0	89.2	1.4	96.2