

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**Tesis previa a la obtención del Título de
Ingeniero Ambiental**

TÍTULO:

**“ANÁLISIS COMPARATIVO IN VITRO DE LA ACTIVIDAD
BIODEGRADADORA DE BACTERIAS DEL GÉNERO *Pseudomonas sp.* Y
MICROORGANISMOS NATIVOS, PARA SU USO EN UN PROCESO DE
BIORREMEDIACIÓN IN SITU DE SALES DE CIANURO”**

AUTORAS:

MARÍN VALLEJO LUZ MARISOL
OCHOA RUILOVA JOHANNA ALEXANDRA
PRADO FARFÁN KARINA VALERIA

DIRECTOR:

MSc. ERNESTO DELGADO FERNÁNDEZ

Cuenca, Diciembre del 2010

RESUMEN

Nuestro trabajo de investigación consistió en identificar microorganismos nativos y emplearlos en procesos de biodegradación de cianuro, con la finalidad de comparar su capacidad biodegradadora, se utilizaron cepas liofilizadas de una especie de bacterias *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838. Las doce bacterias nativas empleadas en el proceso se obtuvieron de muestras tomadas de una empresa de producción aurífera ubicada en el cantón Zaruma, estas fueron identificadas morfológicamente y clasificadas por género en el laboratorio.

Se realizaron pruebas de actividad biológica y determinación del crecimiento bacteriano para seleccionar las dos bacterias a ser empleadas en los ensayos de degradación; las mismas que fueron codificadas como C33 - *Streptococcus sp.* y A74 - *Bacillus sp.*

Los primeros ensayos evaluados fueron pruebas preliminares en los cuales identificamos las variables a considerar posteriormente en los bioensayos y testigos, que fueron: tiempo de degradación (período de 12 días con una frecuencia de muestreo de 4 días), pH (9,6 y 10) y temperatura (22 °C y 32 °C). Se adicionó suero glucosado como fuente energética para las bacterias y así estimular su desarrollo en un medio cianurado, también se empleó buffer carbonato el cual se utiliza como regulador de pH evitándose de esta forma pérdidas de cianuro por volatilización.

Los resultados obtenidos fueron muy alentadores debido a que la bacteria C33 - *Streptococcus sp.* Presentó niveles de biodegradación similares a *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838 con porcentajes de biodegradación del 91% y 92% respectivamente; mientras que la *Bacillus sp* degradó un 86,3%; teniendo en cuenta que las condiciones óptimas para su desarrollo y degradación de cianuro fueron a una temperatura de 32 °C durante los 4 primeros días del proceso.

DEDICATORIA

Nuestra tesis se la dedicamos con mucho amor y cariño:

A ti Dios que has estado con nosotras en todo momento dándonos las fuerzas necesarias para continuar luchando día tras día y nos has dado la oportunidad de vivir y hacer que nuestras metas se cumplan con éxito.

A nuestras familias por su apoyo, paciencia y confianza depositada en nosotras durante todo este tiempo. Han sido y serán una parte importante en nuestras vidas.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecemos a la Universidad Politécnica Salesiana por habernos ayudado a ejecutar y terminar con éxito nuestro tema de tesis.

A nuestro apreciado director de tesis MSc. Ernesto Delgado Fernández, quien con su acertada labor y su don de gente ha compartido desinteresadamente sus amplios conocimientos, por todo esto y más estaremos eternamente agradecidas.

A los docentes de la carrera de Ingeniería Ambiental quienes nos han apoyado durante toda nuestra vida estudiantil.

A la Empresa Minera Coronel (EMICOR) y la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) por habernos permitido el ingreso a sus instalaciones y de esta manera ayudarnos a cumplir con éxito las actividades planteadas.

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Luz Marisol Marín Vallejo, Johanna Alexandra Ochoa Ruilova y Karina Valeria Prado Farfán, bajo mi supervisión.

MSc. Ernesto Delgado Fernández

DIRECTOR DE TESIS

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Los conceptos desarrollados, análisis realizados y las conclusiones del presente trabajo, son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Cuenca, Diciembre del 2010.

Marisol Marín Vallejo

Johanna Ochoa Ruilova

Karina Prado Farfán

ÍNDICE DE CONTENIDOS

JUSTIFICACIÓN	12
OBJETIVOS	14
OBJETIVO GENERAL:.....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	14
HIPOTESIS	14
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	15
1.- EL AGUA	15
2.- CONTAMINACIÓN AMBIENTAL	26
3.- MINERÍA EN EL ECUADOR Y EL MUNDO	36
4.- CIANURO.....	61
5.- TÉCNICAS DE REDUCCIÓN DE CIANURO.....	76
6.- BIORREMEDIACIÓN DEL CIANURO.....	84
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	97
II.I MATERIAL BIOLÓGICO	97
II.II BIODEGRADACIÓN DE CIANURO DE SODIO NACN	109
CAPÍTULO III: RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	113
CONCLUSIONES	123
RECOMENDACIONES	126
PROYECCIÓN FUTURA.....	127
BIBLIOGRAFÍA	128
GLOSARIO	135

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1: SISTEMA LAGUNAR DEL PARQUE NACIONAL CAJAS	15
ILUSTRACIÓN 2: ESQUEMA DEL CICLO HIDROLÓGICO.	21
ILUSTRACIÓN 3: LAGUNA TOREADORA – PARQUE NACIONAL EL CAJAS CUENCA - ECUADOR	21
ILUSTRACIÓN 4: CASCADA - MORONA SANTIAGO - ECUADOR.....	24
ILUSTRACIÓN 5: CONTAMINACIÓN HÍDRICA GENERADA POR LA ACTIVIDAD MINERA EN PONCE ENRÍQUEZ - PROVINCIA DEL AZUAY	35
ILUSTRACIÓN 6: MAPA DE LAS PRINCIPALES EXPLOTACIONES MINERALES Y PETROLERAS DEL MUNDO.	39
ILUSTRACIÓN 7: MAPA DE ZONAS MINERAS DEL ECUADOR	43
ILUSTRACIÓN 8: UBICACIÓN DE LA REGIÓN MINERA AURÍFERA EN EL SUR DEL PAÍS.	45
ILUSTRACIÓN 9: CONCENTRACIÓN DE CIANURO EN PLANTAS SELECCIONADAS	64
ILUSTRACIÓN 10.- MINERÍA ARTESANAL EN ZHUMIRAL - PONCE ENRÍQUEZ - PROVINCIA DEL AZUAY.....	65
ILUSTRACIÓN 11.- CONTAMINACIÓN DE FUENTES HÍDRICAS EN ZHUMIRAL - CANTÓN PONCE ENRÍQUEZ... ..	74
ILUSTRACIÓN 12: CICLO DEL CIANURO Y SU COMPORTAMIENTO EN RELAVES	78
ILUSTRACIÓN 13: PROCESOS BIOLÓGICOS DE DEGRADACIÓN DE CIANURO	82
ILUSTRACIÓN 14: METABOLISMO MICROBIANO.....	85
ILUSTRACIÓN 15: ORGANISMOS CIANOGENICOS.....	86
ILUSTRACIÓN 16.- VÍAS DE DEGRADACIÓN DEL CIANURO	87
ILUSTRACIÓN 17: <i>PSEUDOMONAS FLUORESCENS</i> ATCC 49838.	89
ILUSTRACIÓN 18.- <i>PSEUDOMONAS FLUORESCENS</i> ATCC 49838 OBSERVADA AL MICROSCOPIO	94
ILUSTRACIÓN 19: <i>PSEUDOMONAS</i> EN PRUEBA DE PIOCIANINA.....	95
ILUSTRACIÓN 20: LOCALIZACIÓN DEL CANTÓN ZARUMA.....	97
ILUSTRACIÓN 21: PROCESAMIENTO Y FASES DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL CIANURADA.....	98
ILUSTRACIÓN 22: PUNTO DE MUESTREO.....	99
ILUSTRACIÓN 23: MUESTRAS TOMADA PARA OBTENCIÓN DE MICROORGANISMOS NATIVOS	100
ILUSTRACIÓN 24: SIEMBRA INICIAL DE MUESTRA DE AGUA EN TSA.	101
ILUSTRACIÓN 25: BACTERIAS A74 Y B31 AISLADAS EN TUBOS PICO DE CLARÍN	102
ILUSTRACIÓN 26: PROCESO DE REACTIVACIÓN <i>PSEUDOMONAS FLUORESCENS</i> ATCC 49838.....	102
ILUSTRACIÓN 27: ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE BACTERIA C33 CON NACN A 500PPM.....	104
ILUSTRACIÓN 28: ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE BACTERIA A74 CONCENTRACIÓN DE NACN 1000 PPM.....	105
ILUSTRACIÓN 29: CRECIMIENTO BACTERIANO POR CONTEO DIRECTO EN CÁMARA DE NEUBAUER	107
ILUSTRACIÓN 30: MONTAJE DE REACTORES PARA PRUEBAS DE BIODEGRADACIÓN.....	109
ILUSTRACIÓN 31: LSD - RENDIMIENTO VS. TRATAMIENTOS	116
ILUSTRACIÓN 32: INTERRELACIÓN BACTERIAS - TIEMPO.....	120
ILUSTRACIÓN 33: RELACIÓN ENTRE TEMPERATURA Y BACTERIAS	121
ILUSTRACIÓN 34: INTERRELACIÓN DE BACTERIAS Y PH.....	122

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: CANTIDAD Y DISTRIBUCIÓN DEL AGUA EN LA TIERRA.....	7
TABLA 2: PRODUCCIÓN MINERA REPORTADA	35
TABLA 3: PRODUCCIÓN MINERA REPORTADA POR PROVINCIAS.....	36
TABLA 4: LÍMITES DE DESCARGA A UN CUERPO DE AGUA DULCE.....	49
TABLA 5: COORDENADAS UTM Y GEOGRÁFICAS DEL PUNTO DE MUESTRO.....	91
TABLA 6: LISTADO DE BACTERIAS NATIVAS IDENTIFICADAS POR GÉNERO.....	94
TABLA 7: PARÁMETROS DE SELECCIÓN DE BACTERIAS PARA SU APLICACIÓN EN BIOENSAYOS	97
TABLA 8: CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE BACTERIAS	99
TABLA 9: TOTAL DE ANÁLISIS A REALIZARSE EN LOS BIOENSAYOS.....	103
TABLA 10: FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	104
TABLA 11: TABLA DE PPM DE CIANURO DE SODIO NACN BIODEGRADADO.....	105
TABLA 12: PÉRDIDAS DE CIANURO POR VOLATILIZACIÓN EN ENSAYOS TESTIGOS.....	106
TABLA 13: RANGO MULTIPLE DE DUNCAN PARA EL ANÁLISIS DE LOS TRATAMIENTOS FRENTE AL TESTIGO.....	107
TABLA 14: RESULTADOS DEL ANÁLISIS ENTRE TRATAMIENTO Y TESTIGO.....	108
TABLA 15: LSD- RENDIMIENTO POR BACTERIAS.....	109
TABLA 16: ANÁLISIS DE VARIANZA POR RENDIMIENTO.....	109
TABLA 17: LSD DE TIEMPO.....	111
TABLA 18: LSD DE TEMPERATURA.....	112
TABLA 19: LSD DE pH.....	113

INTRODUCCIÓN

Los residuos industriales descargados en la naturaleza sin ningún tipo de tratamiento previo sobrepasan la capacidad de auto regulación y auto recuperación de los ecosistemas, alterando su equilibrio dinámico, provocando graves alteraciones en sus componentes (físico, biológico, social) y por consiguiente una eminente contaminación ambiental.

Con el avance de la ciencia y la tecnología se han desarrollado diversos métodos para reducir las elevadas concentraciones de sustancias contaminantes y así dar cumplimiento con las especificaciones establecidas en la legislación ambiental vigente y normas internacionales; sin embargo, uno de los problemas más serios está relacionado con las sustancias denominadas no biodegradables o persistentes, cuya procedencia es generalmente aguas residuales industriales, dentro de las cuales se incluyen los efluentes mineros.

Desde la época de la colonia hasta nuestros días, los procesos empleados en los diferentes distritos mineros auríferos ecuatorianos se han caracterizado por la explotación, beneficio y comercialización de los metales preciosos dando lugar a compuestos peligrosos de cianuro (sal de ácido cianhídrico, líquido incoloro, muy volátil, y venenoso) generados en esta actividad; los mismos que desencadenan en graves efectos principalmente relacionados con las afecciones a la salud que provocan daños cerebrales y cardíacos, pudiendo producir el coma e incluso causar la muerte. Actualmente en el Ecuador, las áreas mineras localizadas al suroeste del territorio nacional, específicamente las que pertenecen al cantón Zaruma, provincia de El Oro; amenazan la cuenca hidrográfica del río Puyango debido a las descargas de residuos y agentes contaminantes provenientes de las plantas de procesamiento de minerales que se refleja en los informes de monitoreo ambiental emitido en el proyecto de desarrollo minero y control ambiental desarrollado por el Ministerio de Energía y Minas de la

República del Ecuador, durante los años 1996 – 1998, a través de los cuales se logró determinar que la contaminación en la cuenca del río Puyango aguas abajo de las áreas mineras, excede el principio de tres veces el valor de fondo usado en Suecia para indicar una contaminación ambiental y en algunos tramos del río, la contaminación excede también los criterios internacionales así como los ecuatorianos, tanto para el agua potable y de irrigación.

Esta investigación tiene el propósito de analizar in vitro procesos de degradación de sales cianuro, que está presente en una corriente residual que es producto del proceso de recuperación de oro, a través de un tratamiento biológico mediante el empleo de microorganismos (Cepas nativas vs. Bacteria *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838), con el fin de obtener concentraciones de cianuro permisibles y valorar las aguas industriales como no tóxicas o inocuas.

Los tratamientos convencionales para degradación de cianuro suelen ser eficientes, sin embargo presentan desventajas por el alto costo, el tratamiento biológico por su parte demuestra eliminar cantidades considerables de cianuro de una manera eficiente, económica y amigable con el medio ambiente, no provoca efectos adversos en los ecosistemas.

JUSTIFICACIÓN

Todos los métodos de extracción minera producen algún grado de alteración a la superficie y los estratos subyacentes, así como a los acuíferos. Los impactos de la exploración y pre desarrollo, usualmente, son de corta duración, duran el tiempo que la mina está operativa, sin embargo estas alteraciones perduran después que la explotación de la mina se ha concluido.

En los últimos años la minería tanto a pequeña como a gran escala ha tenido un alto crecimiento en el país, ya que tanto empresas nacionales como extranjeras han visto al Ecuador como un país muy rico en minerales y muy flexible en cuanto a su deficiente legislación ambiental. Durante muchos años estas empresas han obtenido ganancias gigantescas en comparación a lo poco que han invertido por mejorar la calidad ambiental la cual se ve constantemente amenazada por las actividades extractivas practicadas en varias zonas de nuestra nación.

Si bien la mayor parte de la atención puesta en la industria minera se centra en grandes empresas, en muchos países se extraen más minerales en el proceso de la minería artesanal y en explotaciones mineras a pequeña escala.

Este tipo de minería, que en gran medida no está reglamentada, por lo general tiene lugar dentro y alrededor de comunidades rurales en las que la agricultura y las demás ocupaciones no alcanzan a proporcionar lo suficiente para la subsistencia de las familias.

Las explotaciones mineras pequeñas a menudo funcionan ilegalmente y no suelen ser objeto de supervisión o de financiación por parte de las autoridades locales o centrales. La mayoría de los mineros a pequeña escala explotan pequeños depósitos ubicados en

zonas rurales remotas. Su trabajo conlleva al empleo de una alta cantidad de mano de obra, bajos salarios y es extremadamente peligroso.

Por otra parte, las explotaciones mineras pequeñas ocasionan importantes perjuicios a la salud pública y el medio ambiente, destruyendo el paisaje y produciendo sustancias contaminantes en donde el mercurio y cianuro se presentan en mayor proporción.

El oro ha sido extraído durante siglos en las montañas sudoccidentales de Ecuador. En el presente, es minería a pequeña escala, pero los problemas que genera son grandes: como la falta de seguridad, contaminación ambiental y deterioro de la salud humana.

El cantón Zaruma tiene una historia minera que data desde la época de la colonia y que hasta hoy se ha intensificado de forma sorprendente, provocando efectos graves sobre la salud y el medio ambiente. Es por esta razón que es de vital y trascendental importancia investigar técnicas y métodos para mitigar o reducir los impactos que genera el cianuro en sus diferentes formas para construir y sentar las bases de un desarrollo sustentable de las actividades mineras.

La alternativa propuesta es la biodegradación que se basa en que la mayor parte de los elementos químicos son degradados en el medio ambiente en diferentes rangos de tiempo en función de su persistencia y de las condiciones ambientales a través de la intervención de organismos vivos, componentes celulares o enzimas libres que realizan una mineralización y transformación parcial de agentes contaminantes.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Realizar el análisis comparativo in vitro de bacterias del género *Pseudomona sp.* Y microorganismos nativos para su uso en procesos de biorremediación in situ de sales de cianuro en efluentes mineros.

Objetivos Específicos:

1. Obtener cultivos puros de cepas nativas.
2. Caracterizar y clasificar taxonómicamente los cultivos.
3. Analizar la actividad biológica de cepas del género *Pseudomona sp.*
4. Realizar un análisis comparativo in vitro de la capacidad biodegradadora de *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838 y microorganismos nativos.

HIPOTESIS

H0: la actividad biodegradadora de microorganismos nativos y bacterias del género *Pseudomonas sp.*, es similar en el proceso degradativo de sales de cianuro.

H1: la actividad biodegradadora de microorganismos nativos y bacterias del género *Pseudomonas sp.*, no es similar en el proceso degradativo de sales de cianuro.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.- EL AGUA

1.1 El Recurso Hídrico

El agua es uno de los principales y más importantes compuestos químicos de la Tierra que rige el desarrollo de los seres vivos.

Ilustración 1: Sistema lagunar del Parque Nacional Cajas



FUENTE: Las Autoras

El agua cubre aproximadamente un 72% de la superficie terrestre y la materia viva incluye elevados porcentajes de este recurso.

✓ Árboles	50%
✓ Hombre adulto	60%
✓ Recién nacido	70%
✓ Embriones humanos	>95%
✓ Medusa	98%

Los antiguos consideraron el agua como uno de los cuatro elementos, siendo el aire, la tierra y el fuego los demás. Esta teoría al ser aceptada por Aristóteles, perduró durante 2000 años.

Hasta finales del siglo XVIII no se reconoció que el agua era una sustancia compuesta. En 1781, Cavendish se mostró sorprendido al obtener agua en la combustión del hidrógeno en el aire y Lavoisier pudo mostrar poco después que el agua era un compuesto formado únicamente por hidrógeno y oxígeno.

A partir de estos acontecimientos el agua presenta la característica singular de poseer los tres estados de agregación: líquido, sólido y gaseoso. En su estado natural se encuentra repartida de manera diversa en todas las partes del mundo; es así que, en estado sólido está en forma de hielo o nieve cubriendo las regiones más frías de la Tierra. En estado líquido, mares, ríos y lagos formando las tres cuartas partes del globo terráqueo en una profundidad que llega a rebasar en ciertos puntos once kilómetros. En estado de vapor se encuentra en la atmósfera, variando según las características del lugar y la época del año, alcanzado normalmente 50000 toneladas en el aire que gravita sobre 1Km² de la superficie de la Tierra.

Tabla 1: Cantidad y distribución del agua en la tierra

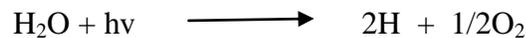
Agua de mares y océanos	1,35.10 ⁹ km ³
Agua dulce de ríos, lagos y subterráneas	7,5.10 ⁵ km ³
Agua de hielo polar y de cumbres	2,5.10 ⁷ km ³
Agua de vapor atmosférico	5,1.10 ⁴ km ³
Agua total de la hidrósfera	1,4.10 ⁹ km ³

FUENTE: Rodríguez Manuel Gil, Procesos de Contaminación de aguas - Cálculos avanzados.

Fijándonos en el aspecto cualitativo, podemos señalar que todas las formas de vida, incluso en el desierto, requieren de una entrada importante de agua y que la mayoría de las funciones de nutrición y excreción celular requieren indispensablemente de agua.

El agua actúa como solvente transportando, combinando y descomponiendo químicamente sustancias. La sangre de los animales y la savia de las plantas contienen una gran cantidad de agua que sirve para transportar los alimentos y desechar el material de desperdicio. El agua desempeña también un papel importante en la descomposición metabólica de moléculas tan esenciales como las proteínas y los carbohidratos. Este proceso, llamado hidrólisis, se produce continuamente en las células vivas.

En todos los procesos naturales que rigen los ecosistemas, el agua actúa como fuente de oxígeno en la foto descomposición atmosférica, indicada en la siguiente reacción:



De igual manera interviene en la fotosíntesis de las plantas verdes; en donde el hidrógeno pasa a formar parte de la constitución orgánica de la planta, con excepciones poco importantes. La fotosíntesis es la médula de la vida, y es allí donde el agua interviene en ella de dos formas:

- ✓ **Transitoria:** con la transpiración animal y vegetal es devuelta al sistema en cierta manera.
- ✓ **Permanente:** aporta el Hidrógeno en el proceso de fotosíntesis pasando a formar parte de la materia orgánica.

1.2 Propiedades físicas y químicas del agua y consecuencias medioambientales

Entre las propiedades físico-químicas que tiene el agua desde el punto de vista medioambiental tenemos las siguientes:

Altos valores de su capacidad calorífica y de los calores latentes de fusión y vaporización: es decir, que el agua en sus fases agua líquida/agua sólida y agua líquida/vapor de agua van a actuar como auténticos reguladores térmicos, tanto en el clima como en los seres vivos. Es por esta razón que en el clima no podemos dejar de

un lado la importancia del efecto combinado entre el vapor de agua y dióxido de carbono (CO_2) en el mantenimiento de la temperatura de la Tierra. La radiación solar no absorbida (onda corta) en el día calienta la superficie terrestre y es emitida por las noches en forma de radiación de onda larga, que en su mayor parte es absorbida por el CO_2 y el agua en la atmósfera.

Esta absorción tiene como consecuencia el mantenimiento de la temperatura en las noches. Lo opuesto sucede en las zonas desérticas en donde la humedad muy baja hace que la tierra se caliente mucho durante el día y se enfríe durante la noche porque el vapor de agua es casi nulo evitando que se absorba energía en el día y luego evita que se libere por la noche.

Alta conductividad térmica: el agua tiene la capacidad de intercambiar calor en poco tiempo ya que su conductividad térmica es la más alta de los líquidos no metálicos siendo casi el doble en su mayoría.

Temperatura de fusión y ebullición altas: la asociación entre moléculas de agua, permite explicar sus elevados puntos de fusión y de ebullición mucho más altos de lo que deberían esperarse por su fórmula molecular sencilla en comparación con las combinaciones de los elementos de su mismo grupo con hidrógeno como el sulfuro de hidrógeno, seleniuro de hidrógeno y telurio de hidrógeno, manteniendo temperaturas altas de fusión y ebullición gracias a los enlaces de hidrógeno, caso contrario el punto de fusión oscilaría entre 100 y 150°C y herviría a temperaturas entre 70 y 80°C , con lo cual sería un gas evaporado hacia el espacio en las edades geológicas precedentes y no existiría vida alguna.

Variación anómala de la densidad: la densidad del agua aumenta anormalmente al elevar la temperatura de 0 a 4°C (exactamente $3,98^\circ\text{C}$), en que alcanza su valor máximo de 1g/ml. Por encima o por debajo de esta temperatura el agua se dilata y la densidad disminuye.

Las anomalías del comportamiento de la densidad del agua con relación a las demás sustancias que se dilatan regularmente con la temperatura, se debe a su considerable expansión al pasar al estado sólido y la localización del máximo de su densidad.

El agua congela a 0 °C y se convierte en hielo, y como su densidad disminuye, 0,917 g/ml., el hielo que se forma flota sobre el agua. Este comportamiento especial es muy conveniente, pues si ocurriese con ella lo mismo que con la inmensa mayoría de los líquidos, los mares, lagos y ríos de zonas frías, al congelarse el agua en su superficie, lo congelado iría al fondo, de modo que al llegar el verano, el hielo acumulado del fondo persistiría, a causa de la resistencia térmica del medio que modificaría totalmente el medio acuático tal como lo conocemos.

Alto valor de tensión superficial: implica que en el suelo se pueda retener una mayor cantidad de líquido; en general, no siempre constituye una ventaja en el crecimiento vegetal.

Gran capacidad disolvente: el agua es un buen disolvente de sustancias polares porque su fuerte momento dipolar hace que se orienten las moléculas por sí mismas para vencer las fuerzas de cohesión y liberar o dispersar los iones de las sales o moléculas de los solutos polares. Es mal disolvente de las sustancias orgánicas de enlaces únicamente covalentes. Esto se debe gracias a:

- ✓ La capacidad de reacción con sustancias de tipo ácido, base e incluso metales dando lugar a compuestos solubles.
- ✓ La capacidad de reacción con sustancias de tipo inorgánico y de formación de enlaces de hidrógeno como los alcoholes de bajo peso molecular.
- ✓ El pequeño tamaño de la molécula de agua ($\varnothing=0,2\text{nm}$) permite la disgregación de diferentes sustancias a través de los espacios intermoleculares e interiónicos.

- ✓ El alto valor de la constante dieléctrica, que permite reducir en un 80% la fuerza de atracción entre los iones de un cristal.

1.3 Ciclo hidrológico

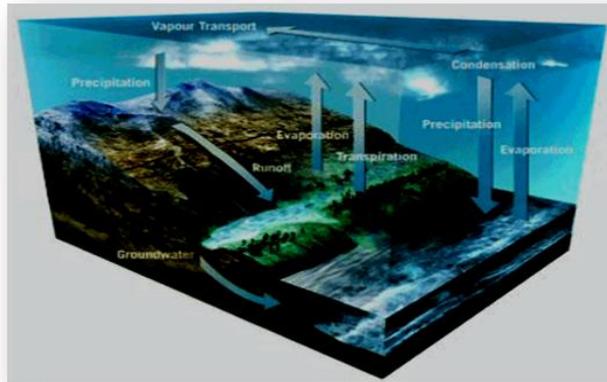
Es el resultado de la interrelación de los principales componentes que tienen por finalidad mantener la cantidad de agua en constante equilibrio por compensación de los procesos de evaporación y transpiración con los de precipitación y escurrimiento.

Se conoce como balance hídrico al siguiente equilibrio:

$$\text{Precipitaciones} = \text{escurrimiento (superficial + subterránea)} + \text{evapotranspiración}$$

Cabe recalcar, que las actividades humanas influyen en el ciclo como lo es el aprovechamiento de los recursos hídricos en represas, embalses, canales, etc. de aguas superficiales y pozos de extracción en el caso de aguas subterráneas. En cuanto al uso (agrícola, ganadero, urbano e industrial), el ciclo se ve afectado por la contaminación antropogénica generada por el uso irracional que desencadena por un lado la contaminación que es un problema que puede extenderse de unas zonas a otras, y por otro existiría una relación entre los problemas de contaminación atmosférica y de suelo con los de contaminación de aguas.

Ilustración 2: Esquema del Ciclo Hidrológico.



FUENTE: http://www.cp34-smos.icm.csic.es/img_mision_smos/img_marco_mision_1_amp.gif

“La hidrología versa sobre el agua de la Tierra, su existencia y distribución, sus propiedades físicas y químicas, y su influencia sobre el medio ambiente, incluyendo su relación con los seres vivos. El dominio de la hidrología abarca la historia completa del agua sobre la Tierra”. (*Federal Council for Science and Technology*).¹

1.4 Importancia del agua en los ecosistemas

Ilustración 3: Laguna Toreadora – Parque Nacional El Cajas Cuenca - Ecuador



FUENTE: Las Autoras

¹ MONSALVE, Germán, *Hidrología en la Ingeniería*, 2^{da} Edición, Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería, Colombia 2004, p. 21

En los ecosistemas terrestres el factor limitante de su dinámica no es el oxígeno como en los ecosistemas acuáticos, sino el agua.

Todos los seres vivos necesitan agua. Las plantas se ven afectadas tanto por la cantidad de agua del suelo como por la humedad de que las rodea. La humedad del aire es fundamental para el control de la pérdida de agua a través de la piel y de los pulmones. El protoplasma celular es un 85 o un 90% agua.

La importancia del agua va más allá de las necesidades concretas de los organismos. La humedad junto a la temperatura y otros factores climáticos, son los factores que determinan la distribución de las formaciones vegetales.

Aunque es difícil determinar directamente cuál es la cantidad de agua que contienen una planta se calcula que entre el 60 y 85% de su peso es agua. Cuando la evapotranspiración de una planta es superior al agua que dispone, la planta muere por deshidratación.

En los animales terrestres el contenido de agua hace que sus funciones vitales no se vean afectadas porque la cantidad presente en sus órganos debe mantenerse dentro de unos límites próximos; mientras que, algunos insectos admiten ciertos desequilibrios en el contenido hídrico de diferentes partes de su organismo, los mamíferos precisan que la cantidad de agua de sus órganos se mantengan mucho más equilibrada. Los animales que viven en ambientes con agua abundante no precisan ninguna adaptación que les ayude a limitar las pérdidas de líquido vital.

Por otro lado, no debemos olvidar que el agua juega un papel preponderante en el desarrollo y reproducción de microorganismos, es así que por ejemplo en agua dulce, el neuston (micro capa de la superficie de la hidrósfera en la interface entre la hidrosfera y la atmósfera) aprovecha la propiedad de elevada tensión superficial que tiene el agua para favorecer a los microorganismos foto autótrofos proporcionando a los productores primarios acceso ilimitado al dióxido de carbono atmosférico y a la radiación solar. Es

por esta razón que el recurso hidrológico es su hábitat (tanto lenticos como loticos). En otras palabras la hidrósfera contiene agua para el metabolismo microbiano siendo el medio más adecuado para el crecimiento microbiano. A diferencia de la atmósfera, en la hidrósfera hay poblaciones microbianas autóctonas como: algas, bacterias (*Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Nevskia*, *Hyphomicrobium*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, y *Leptothrix*), hongos y protozoos que comparten un número limitado de características generales. Los microorganismos del agua pueden crecer a baja concentración de nutrientes. En el medio acuático, la mayoría presentan movilidad por flagelos u otros mecanismos.

En consecuencia, el agua dulce permite que la microbiota desempeñe funciones ecológicas como:

1. Descomponer la materia orgánica muerta y liberar nutrientes minerales útiles para la producción primaria.
2. Asimilar y reintroducir en la cadena alimentaria la materia orgánica disuelta.
3. Participar en el reciclado de diferentes minerales.
4. Contribuir a la producción primaria.
5. Ser fuente de alimento para otros organismos (Kuznetsov 1970).²

En hábitats marinos como océanos y mares la masa acuática ejerce un efecto moderador en el clima terrestre, y constituye el último reservorio y receptáculo en el ciclo global del agua; es decir, son el último sumidero para todos los minerales solubles en agua y son salinos, aunque no en el mismo grado que algunos lagos cerrados de regiones con climas cálidos y secos. Los ecosistemas marinos son el hábitat de miles de especies tanto de flora como de fauna que toman el oxígeno del agua para su desarrollo y demás funciones biológicas.

²ATLAS, Ronald M. y BARTHA, Richard, *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. 4^{ta} Edición, Editorial Addison Wesley, Pearson Education, S.A., Madrid, 2002, p.349.

1.5 Dinámica de los sistemas acuáticos lóticos

Está conformado por hábitats de corriente como ríos, arroyos y manantiales de su cabecera, la zona central de un valle, con sus estanques y sus rápidos, zonas de llanura aluvial, y los estuarios que vierten sus aguas al mar. Al tener la característica de movimiento de aire y de agua se contribuye a la dispersión pasiva de los microorganismos permitiendo a la vez la obtención y distribución de los nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano y la eliminación metabólica de los subproductos. Factores tales como solubilidad, difusión, viscosidad, densidad específica, porosidad y las características geológicas, rigen el movimiento de los materiales, dentro y fuera de los ecosistemas.

Ilustración 4: Cascada - Morona Santiago - Ecuador



FUENTE: Las Autoras

Debido a la topografía de los terrenos se presentan diferencias en el flujo del agua generando procesos de cambio que se relacionan principalmente con la interacción entre la velocidad de la masa de agua y la susceptibilidad a la erosión que presente el material que compone el cauce.

En cuanto a las especies que viven en arroyos de corriente rápida desarrollan característica de adaptación para poder mantenerse en el agua y así reducir la resistencia a la corriente. Por ejemplo, ciertas especies desarrollan formas hidrodinámicas, garfios y ventosas para sujetarse a sustratos o rocas. Es decir que, distintas especies animales, microscópicas y macroscópicas por igual (protozoarios, insectos, anfibios y peces, entre muchas más) han logrado adaptarse a estas condiciones especiales, aprovechando la energía que aportan nutrientes orgánicos provenientes tanto de la fotosíntesis local como de aportaciones del medio terrestre corriente arriba. Muchas de esas especies animales son estrictamente dependientes de esas condiciones e, incluso, pueden ser endémicas a esos sitios.

La vegetación sumergida y flotante de los arroyos de montaña tiende a ser comparativamente pobre pero, curiosamente, en esas corrientes la productividad primaria es relativamente alta debido al arrastre de nutrientes desde las partes más elevadas; las cuales son reblandecidas por bacterias y hongos para ser posteriormente consumidas por un grupo de insectos acuáticos llamados trituradores. En los rápidos se puede apreciar el crecimiento de algas sobre rocas que permiten la proliferación de algas que incluso viven de manera epifita sobre plantas macroscópicas, formando comunidades biológicas conocidas como *periphyton* (Smith, 1980).³

En general Las comunidades bióticas de ecosistemas acuáticos como los ríos son delicadas en general; a veces, puede bastar un pequeño cambio en las concentraciones de metales traza (microgramos por litro o ppm) para alterar la fisiología o estado de salud de especies animales locales, lo cual sufre una amplificación de efecto alterando las abundancias relativas de estas hasta afectar todo el ecosistema (Patrick, 1975)⁴. Asimismo, la vegetación de ribera en las corrientes de montaña puede o no ser densa pero, en cualquier caso, forma comunidades cuya composición florística suele ser característica y puede incluir taxones endémicos.

³SÁNCHEZ, Oscar, *Ecosistemas Acuáticos: diversidad, procesos, problemática y conservación*, teotenango@yahoo.com, p.9. Tomado de SMITH, R. L. 1980., *Ecology and Field Biology*, 3^{ra} Edición. Harper&Row, Nueva York.

⁴Idem., p.10. Tomado de Patrick, R. 1975. *Stream communities*, L. Cody y J. M. Diamond (eds.). *Ecology and Evolution of Communities*. Belknap Press, Harvard University, Cambridge, 545 p.

2.- CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

2.1 Origen y causas de la contaminación

Hoy en día se llama contaminación ambiental a la presencia en el ambiente de cualquier agente ya sea físico, químico o biológico o bien de una combinación de varios de ellos en lugares, formas y concentraciones tales que sean nocivos para la salud, la seguridad o para el bienestar de la población, vida vegetal y animal.

Se considera también como contaminación ambiental a la incorporación a los cuerpos receptores de sustancias sólidas, líquidas, gaseosas o mezclas de ellas, siempre que alteren desfavorablemente las condiciones naturales del mismo.

Para que exista la contaminación ambiental debe haber una fuente que genere la sustancia contaminante (fuente de emisión); la cual deberá exceder los límites permisibles establecidos por las distintas organizaciones internacionales, esta cantidad de contaminante debe generar cierto tipo de alteración o desequilibrio. Esta cantidad relativa de contaminante puede expresarse como la masa de la sustancia introducida en relación con la masa o el volumen del medio receptor para establecer las distintas concentraciones de la sustancia nociva. La contaminación dependerá notablemente del lugar, el tiempo, el tipo de contaminante y la cantidad (concentración) e incluso de la situación específica y/o percepción.

Existen diversas causas que dan como origen la contaminación ambiental, pero una de las principales son las generadas por las actividades productivas que realizamos los seres humanos, como la explotación de minerales y petróleo, la agricultura, la generación energética y muchas otras actividades que como resultado desencadenan un alto impacto ambiental.

Las principales causas de la contaminación mantienen estrecha relación con el crecimiento de la población, los movimientos migratorios, y el consumismo que

actualmente rige nuestro diario vivir. Las principales fuentes de contaminación antropogénica corresponden a los desechos sólidos domésticos, desechos sólidos industriales, exceso de fertilizante y productos químicos, tala, generación de basura, desagües de aguas negras o contaminadas al mar o ríos, quema de combustibles fósiles, entre otros.

2.2 Clases de contaminación

2.2.1 Por el proceso que la causa

Dentro de este tipo de contaminación podemos considerar la contaminación de origen natural y antropogénica.

La contaminación de origen natural se genera sin intervención del hombre. Esta se encuentra estrechamente relacionada con la composición de suelos, aguas y de algunos alimentos; por otro lado tenemos erupciones volcánicas, erosión del suelo, ciclones, entre otros.

Esta contaminación natural se produce por efectos espontáneos, ocasionando muy pocas veces efectos a largo plazo con consecuencias raramente devastadoras. No presentan un amplio radio de afección a la población, es decir en su mayoría son fuentes puntuales de contaminación.

La contaminación de origen antropogénico es aquella que se origina cuando el ser humano interviene de manera directa o indirecta elevando las concentraciones naturales normales de ciertos compuestos y que se encuentra en un medio al que no corresponden.

La contaminación antropogénica siempre genera consecuencias a largo plazo, y muchas veces no son fuentes puntuales ya que su radio de afección es muy alto. La contaminación antropogénica puede ser producida o transmitida por el hombre en su

continua actividad. A este tipo corresponden las industrias (minerías, petroleras, generación energética, etc.), fuentes comerciales y fuentes agrícolas.

2.2.2 Por el tipo de contaminante

Los causantes o contaminantes pueden ser químicos, físicos y biológicos.

Se llama contaminación química al proceso mediante el cual determinado elemento o compuesto químico cuyo estado y características fisicoquímicas le permiten entrar en contacto con los individuos, de forma que pueden originar un efecto adverso tanto para la salud como para el medio ambiente. Los contaminantes químicos pueden provocar un daño de forma inmediata o a corto plazo (intoxicación aguda), o generar una enfermedad profesional a largo plazo (intoxicación crónica).

Los contaminantes químicos consideran tanto elementos orgánicos como inorgánicos.

Dentro de los contaminantes orgánicos están aquellos que provienen de desechos domésticos, agrícolas, industriales y de la erosión del suelo e inclusive algunos productos químicos industriales de origen natural como aceites, grasas o tinturas; además a ellos se suman diversos residuos vegetales en el suelo y el agua producto de la descomposición natural de la celulosa, ligninas, peptinas y albúminas. También los residuos de los excrementos de animales y organismos vivos como algas y bacterias son considerados como precursores de posibles efectos nocivos.

Se consideran como contaminantes inorgánicos a los cloruros, sulfatos, nitratos y carbonatos. También desechos ácidos, alcalinos y gases tóxicos disueltos en el agua como los óxidos de azufre, de nitrógeno, amoníaco, cloro y sulfuro de hidrógeno (ácido sulfhídrico).

Este tipo de contaminación puede ocurrir tanto en el agua, suelo o a nivel atmosférico.

Dentro de la contaminación física los contaminantes son caracterizados por un intercambio de energía entre persona y ambiente en una dimensión y/o velocidad tan alta que el organismo no es capaz de soportarlo. Como un ejemplo de este tipo de contaminante podemos mencionar la radioactividad natural, la cual puede dar lugar a diversos problemas medio ambientales por la existencia de yacimientos de uranio y otros minerales radioactivos en zonas pobladas donde afecta a los diferentes tipos de vida que se desarrollen en sus cercanías. Otro problema de emisiones radioactivas se da en las aplicaciones con fines militares y en la producción de energía.

En cuanto a la contaminación biológica podemos mencionar que el riesgo por contaminación consiste en la presencia de un organismo, el cual representa una amenaza a la salud de los seres vivos. Esto puede incluir los residuos sanitarios, muestras de un microorganismo, virus o toxina (de una fuente biológica) que puede resultar patógena.

El concepto de agente biológico incluye bacterias, hongos, virus, protozoos, rickettsias, clamidias, endoparásitos humanos, productos de recombinación, cultivos celulares humanos o de animales y los agentes biológicos potencialmente infecciosos que éstas células puedan contener, priones y otros agentes infecciosos.⁵

2.2.3 Por el origen de los contaminantes

El origen de los contaminantes puede ser de 2 tipos: artificial o natural

- ✓ La contaminación natural se produce por efectos espontáneos, los cuales se desarrollan constantemente en nuestro medio ambiente, quedando exenta la

⁵ Fernández Sanchez, Leodegario (2001), Definición de contaminante biológico, *Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos*, INHT, Ministerio Trabajo y Asuntos Sociales, España.

intervención humana, como ejemplos de este tipo de contaminación podemos mencionar las erupciones volcánicas que emiten ceniza y los incendios forestales de origen natural los cuales descargan una gran cantidad elevada de partículas a la atmósfera. Otro tipo de contaminación natural son las tormentas y los terremotos, los cuales se originan sobre la voluntad del ser humano devastando centros poblados, zonas agrícolas y demás. Con esta contaminación ha vivido el ser humano desde hace miles de años y no es posible evitarla, sólo se pueden prever sus consecuencias y minimizar sus efectos.

- ✓ La contaminación artificial es aquella que se produce cuando el ser humano interviene y altera la composición normal de la atmósfera, excediendo los límites establecidos y liberando altas cantidades de material contaminante que provienen de desastres como derrames petroleros pero principalmente de la utilización de combustibles fósiles como el escape de gases tóxicos a la atmósfera.
- ✓ Una consideración importante es que únicamente los contaminantes biológicos pueden ser naturales, mientras que los físicos y químicos son contaminantes artificiales.

Tanto la contaminación natural como la artificial afectan en gran manera al medio ambiente ya que ponen en riesgo al suelo, agua y atmósfera. Sin embargo dentro de la contaminación artificial surge una subclasificación la cual detallaremos a continuación.

2.2.4 Por la naturaleza química del contaminante

Dentro de los contaminantes de origen natural podemos mencionar que estos a su vez pueden ser de 2 tipos: orgánicos e inorgánicos.

A los contaminantes orgánicos se les designa un amplio grupo de compuestos químicos que tienen en común el hecho de que están formados principalmente por carbono. Los contaminantes orgánicos son también compuestos disueltos o dispersos en el agua que

proviene de diversas fuentes como desechos domésticos, agrícolas, industriales y de la erosión del suelo. Dentro de este grupo existen diversos productos químicos industriales de origen natural como aceites o grasas, y varios productos químicos sintéticos como pinturas, herbicidas, insecticidas, etc.

Los contaminantes inorgánicos se encuentran en los ecosistemas de nuestro planeta en forma de trazas, por su poca hidrosolubilidad resultan especialmente peligrosos para la salud de los humanos. Como ejemplos de este tipo de contaminante natural inorgánico podemos mencionar el plomo, Mercurio, el Metil Mercurio, Cadmio, Arsénico, Cromo, etc.

2.2.5 Por sus efectos

Los contaminantes en el planeta causan un sin número de efectos primarios y secundarios tanto en el ser humano como en el equilibrio natural de los ecosistemas. Estos contaminantes causan efectos indeseables muchas veces inclusive incontrolables a los cuales se les conoce también como contaminantes tóxicos. Estos a su vez generan efectos tóxicos que es un cambio biológico producido en un organismo como resultado a la exposición ante un agente. El resultado de estos efectos se debe a la interacción de los agentes con los sistemas biológicos o a las modificaciones de los mecanismos de defensa del organismo que se deben a dichos agentes. Podemos numerar una serie de efectos que la contaminación ambiental provoca tanto a corto como a largo plazo, por ejemplo uno de los más importantes es la saturación de nuestra atmósfera y el debilitamiento de la capa de ozono (causado por la destrucción del ozono estratosférico debido a cloro y bromo procedentes de la contaminación) que protege a los seres vivos de la radiación ultravioleta. El efecto invernadero también es una consecuencia de la contaminación atmosférica que está acentuado por el aumento de la concentración de CO₂ atmosférico y otros gases como el metano.

Se considera que una sustancia es tóxica cuando provoca:

- ✓ Daño funcional o anatómico a los organismos expuestos.
- ✓ Aumento en la sensibilidad a otros agentes químicos, físicos o biológicos incluyendo los organismos patógenos que causan enfermedades infecciosas.
- ✓ Cambios en el desequilibrio fisiológico del organismo.
- ✓ Su presencia es incompatible con la vida.⁶

2.2.6 Por el sustrato afectado

La clasificación de la contaminación según el sustrato afectado está íntimamente relacionada con el lugar en donde se acumulan los contaminantes, siendo los más importantes los que afectan a los recursos naturales básicos; aire, agua y suelo. Esta clasificación se emplea básicamente con fines de vigilancia, control legal y de investigación, ya que en la mayoría de casos se requiere evaluar por separado los efectos de cada contaminante. También vale mencionar que en la actualidad existen ciertos tipos de contaminación que en el pasado no eran seriamente considerados pero que en la actualidad con el avance tecnológico están causando graves problemas ambientales, como la contaminación radioactiva, lumínica, acústica y visual.

Algunas de las alteraciones medioambientales más graves relacionadas con los fenómenos de contaminación son los escapes radiactivos, el smog, el efecto invernadero, la lluvia ácida, la destrucción de la capa de ozono, la eutrofización de las aguas o las mareas negras.

2.3 Principales fuentes de contaminación

Como fuente de contaminación ambiental se considera a toda organización, empresa o actividad industrial que afecta el Medio Ambiente a través de sus actividades, productos o servicios. Esto incluye la extracción, explotación de los recursos naturales y la eliminación de residuos al ambiente que resultan de tales actividades y que dependiendo

⁶Albert, Lilia A, Contaminación ambiental, Origen, Causas, Fuentes y Efectos, Capítulo 4.

de las condiciones y lugares en que sean eliminados, pueden ocasionar un mayor o menor grado de daño o impacto ambiental.

En la actualidad cualquier actividad representa un impacto al ecosistema. Lo que se busca hoy en día es minimizar al máximo los impactos generados por diferentes fuentes contaminantes.

Entre algunas de ellas podemos mencionar:

- ✓ Minería
- ✓ Sector industrial: química, de transporte, de cerámica, electrónica, etc.
- ✓ Fertilizantes y pesticidas
- ✓ Erosión y deforestación del suelo
- ✓ Represas
- ✓ Actividades petroleras (hidrocarburos)

La minería es una actividad que elimina gran cantidad de lodo, arcilla, hollines y virutas a las aguas de los ríos, sin contar los productos químicos empleados en la obtención de oro, plata, cobre, y otros metales. Es una actividad que se ha vuelto una de las fuentes contaminantes más considerables en los últimos tiempos por la poca responsabilidad de los empresarios mineros que no respetan los estándares ambientales desequilibrando el ecosistema y desencadenando problemas sociales, económicos y políticos.

2.4 Efectos adversos de la contaminación

Entre los principales efectos de la contaminación ambiental podemos mencionar el calentamiento global, la lluvia ácida, el derretimiento de los polos, la constante pérdida de flora y fauna, pérdida alarmante del principal pulmón del mundo “la selva amazónica”.

También hay que considerar que la contaminación ambiental ocasiona graves daños a la salud del hombre, a los demás seres vivos y los ecosistemas, contribuyendo a romper el

equilibrio biológico que existe entre ambos. En el hombre, se ha comprobado que la contaminación ambiental afecta de manera más profunda y duradera durante las primeras fases de su desarrollo.

A consecuencia de que la elevada contaminación atmosférica, aumentan las enfermedades respiratorias (bronquitis y enfisemas), retraso en el crecimiento y la osificación de los niños, trastornos cardiovasculares y en especial las enfermedades de las arterias.

El aumento local de la contaminación se debe a un fenómeno definido por los meteorólogos como la formación a poca altura de una capa de aire relativamente caliente que impide la difusión en la atmósfera de los humos industriales y domésticos, al mismo tiempo que, al saturarse la atmósfera, se forma la niebla.

Los efectos de la contaminación del agua que afectan a la salud humana se deben a la presencia de nitratos (sales del ácido nítrico) en el agua potable que puede producir enfermedades infantiles que en ocasiones son mortales. El cadmio presente en los fertilizantes derivados del cieno o lodo puede ser absorbido por las cosechas; de ser ingerido en cantidad suficiente, el metal puede producir un trastorno diarreico agudo, así como lesiones en el hígado y los riñones. Hace tiempo que se conoce o se sospecha de la peligrosidad de sustancias inorgánicas, como el mercurio, el arsénico y el plomo.

2.5 Clasificación según el medio afectado

2.5.1 Contaminación ambiental

Se conoce como contaminación ambiental a la presencia en el ambiente de cualquier agente (físico, químico o biológico) o bien de una combinación de varios agentes en lugares, formas y concentraciones tales que puedan afectar directa o indirectamente al ser humano y al ecosistema en general.

2.5.2 Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica hace referencia a la alteración atmosférica por la adición de gases, partículas sólidas o líquidas en suspensión, cuyas proporciones exceden el nivel natural. La contaminación ambiental es producto de las emisiones de gases tóxicos a la atmósfera terrestre, principalmente de dióxido de carbono.

2.5.3 Contaminación hídrica

La contaminación hídrica considera a los contaminantes en el agua (ríos, mares y aguas subterráneas). Los contaminantes principales son los vertidos de desechos industriales (presencia de metales y evacuación de aguas a elevada temperatura) y de aguas servidas (saneamiento de poblaciones).

Ilustración 5: Contaminación hídrica generada por la actividad minera en Ponce Enríquez - Provincia del Azuay



FUENTE: Las Autoras

2.5.4 Contaminación del suelo

Se refiere a la presencia de residuos provenientes de las actividades industriales (almacenes, vertidos ilegales), vertido de residuos sólidos urbanos, productos fitosanitarios empleados en agricultura (abonos y fertilizantes químicos) y purines de las actividades ganaderas.

2.5.5 Contaminación Acústica

Es producida por presencia de altos decibelios en un lugar determinado que entorpecen la calma que en algún momento existió en aquel lugar. Esta contaminación es causada por el tráfico vehicular y actividades industriales.

3.- MINERÍA EN EL ECUADOR Y EL MUNDO

3.1 Minería

“La minería es la obtención selectiva de los minerales y otros materiales de la corteza terrestre. También se denomina así a la actividad económica primaria relacionada con la extracción de elementos de los cuales se puede obtener un beneficio económico.”⁷

Los minerales son obtenidos de minas, que consisten en un conjunto de instalaciones ubicadas en los lugares que se conoce de la existencia de los mismos. Para construir e implementar una mina se necesitan capitales de pre-inversión de alto riesgo, a fin de evaluar reservas y definir la factibilidad de explotación, estableciendo: cantidad de mineral, ley crítica, tasa de producción y vida útil del yacimiento. Generalmente, se dice que una mina es explotable cuando la inversión para la explotación es inferior al beneficio obtenido por la comercialización del mineral.

⁷ Wikipedia, Minería, 2010, <http://es.wikipedia.org/wiki/Miner%C3%ADa>

Según la cantidad de minerales extraídos se puede clasificar a la minería en:

- ✓ **Pequeña Minería o Artesanal:** Explota yacimientos de dimensiones mínimas y tiene reservas inferiores a un millón de toneladas. Se emplean máquinas y mano de obra intensiva, se operan tasas de producción menores a mil toneladas métricas al día y la inversión de capital es muy baja. La propiedad pertenece a personas, compañías, asociaciones, cooperativas o sociedades de carácter nacional y el aporte al fisco es muy reducido.

- ✓ **Minería Industrializada:** En esta clasificación se considera a la explotación de mediana y gran escala, cuya inversión es otorgada por capitales extranjeros. Se busca grandes proyectos mineros que respondan a conceptos de economía de escala, es decir depósitos con decenas de millones de toneladas de reservas. En la minería industrializada se emplea grandes maquinarias con tecnología de punta para remover, extraer, transportar y obtener un buen beneficio.

3.1.1 Etapas de la Minería

La actividad minera consta de las siguientes etapas principales:

- ✓ **Búsqueda y Exploración:** La búsqueda consiste en encontrar zonas con potencial de explotación (comúnmente llamadas “prospectos”). Una vez que se han hecho todas las pruebas se selecciona un grupo de prospectos y se determinan las características más importantes del depósito.

- ✓ **Delineación:** Una vez decidida la zona a explotar se continúa con la delimitación, que consiste en hacer agujeros en el lugar para recolectar muestras. Normalmente estos orificios se cavan usando un patrón homogéneo y posteriormente se van documentando a través de la elaboración de mapas de la zona, en las cuales se indica con precisión la ubicación de cada uno de ellos.

Con toda la información recolectada en las etapas anteriores, se procede a realizar la explotación de los yacimientos mineros.

3.1.2 Principales Minerales Extraídos

Hay gran variedad de materiales que se pueden obtener de los yacimientos encontrados y pueden clasificarse como sigue:

- ✓ **Minerales Metálicos:** dentro de esta categoría encontramos el oro, la plata, los metales del grupo del platino, los metales siderúrgicos: hierro, níquel, cobalto, titanio, vanadio y cromo; los metales básicos: cobre, plomo, estaño y zinc; los metales ligeros: magnesio y aluminio; los metales nucleares: uranio, radio y torio y los metales especiales como el litio, germanio, galio o arsénico.

- ✓ **Minerales no metálicos:** en este grupo se incluye al potasio y azufre, cuarzo, trona, sal común, amianto, talco, feldespato y fosfatos, piedra, arenas, mármol, granito, arcillas.

- ✓ **Piedras preciosas:** diamantes, rubíes, zafiros y esmeraldas.

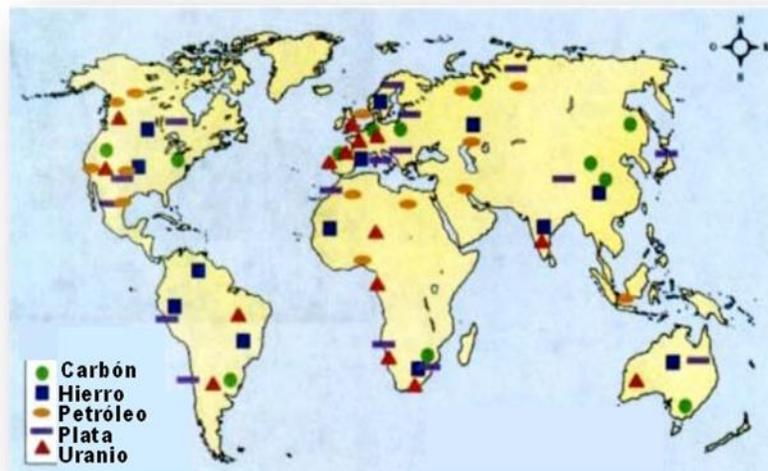
3.2 La Minería en el Mundo

Los primeros registros sobre actividad minera datan de hace miles de años. La mina más antigua de la que se tiene constancia es la “Cueva Agus” en Nueva Zelanda, con una edad de 43.000 años. Sitios de similar antigüedad fueron encontradas en Hungría, de donde los neandertales habrían extraído el sílex, (mineral perteneciente a las anhidas amorfas), para fabricar armas y herramientas. Otra operación minera antigua fue realizada por los egipcios (3.000 A.C.) en la península de Sinaí, para la obtención de turquesa.

Año tras año la obtención de los minerales se convirtió en un tema de interés en diferentes países por lo que se vio necesario tener mayor conocimiento técnico sobre la materia, por esta razón en el año de 1762, en Eslovaquia se establece la primera academia de minería, y en el año de 1977 se crea la primera escuela de estudios de minas de España.

Los yacimientos mineros se distribuyen en forma regular por los continentes. Sin embargo, en los países de alto desarrollo económico se han encontrado las mayores reservas.

Ilustración 6: Mapa de las principales explotaciones minerales y petroleras del mundo.



Fuente: Profesor en línea, Paisaje Geográfico, (09-05-2010), www.profesorenlinea.com

La minería también es una actividad importante en Latinoamérica, aunque en algunos países solo destaque la pequeña minería.

- ✓ Argentina: En donde se extrae antimonio, bismuto, mercurio, estaño y tungsteno principalmente.

- ✓ Brasil: La extracción de piedras preciosas y semipreciosas es importante, así como el estaño y el oro aluvial. La vermiculita, el estaño y el oro también son áreas de explotación.

- ✓ Colombia: produce aproximadamente el 95% de las esmeraldas de todo el mundo. El carbón, hierro, azufre, plomo y mercurio son otros de los principales minerales que se extraen en esta región.

3.3 Minería en el Ecuador

3.3.1 Historia de la Minería en el Ecuador

Se habló de minería en el país desde la época pre-colonial e inclusive desde la pre-incásica. La obsidiana encontrada en Mullumica, en la Cordillera Real, fue la primera muestra de explotación conocida en el país en el periodo 900 - 1500 años D.C.

Oro, plata, cobre y platino fueron minerales que las culturas precolombinas extrajeron para elaborar objetos ornamentales, para su uso e intercambio comercial. El oro fue extraído de túneles en roca construidos en Nambija, Zaruma y del río Santa Bárbara en el siglo XVI. De igual manera, la plata fue extraída a través de socavones en los sitios que hoy se conoce como: Pilzhum, Malal y Sigchos.

Otro trabajo minero que realizaron nuestros antecesores pre-colombinos fue el que se realizó con el platino encontrado en los ríos de la provincia de Esmeraldas.

Luego de la conquista española, en el siglo XVI, la explotación de oro y plata se convirtió en la actividad más importante de la época, produciendo un aumento considerable de los asentamientos humanos en las zonas cercanas a las minas. En el

siglo XVII por falta de mano de obra indígena decayó la actividad hasta fines del siglo XIX.

Desde el año 1900, diversas compañías retomaron ésta actividad y se reinició la explotación de oro y plata principalmente. En el año de 1904 se constituyó la South American Development Company (SADCO) que solicitando permiso al estado ecuatoriano, tomó control de los principales depósitos de Zaruma hasta el año de 1950, su producción estimada de oro fue de 3'500.000 onzas y 17 millones de onzas de plata. SADCO pasó a manos de la compañía ecuatoriana CIMA (Compañía Industrial Minera Asociada) registrando una producción de 375.000 onzas de oro entre 1950 y 1965; luego de este año hubo una baja en la producción, lo que provocó el cierre de la mina en 1978 pasando a manos del Estado hasta que se liquidó en 1992.

Otra compañía que trabajó en el país fue la Compañía Outokumpu desde el año 1975 hasta 1981 que operó con el nombre de Compañía Minera Toachi, produciendo un total de 120.000 toneladas de plata durante este periodo.

Con el cierre de la mina de Portovelo y el posterior redescubrimiento de las minas de Nambija y Ponce Enríquez, se dio inicio a la minería contemporánea artesanal por la década de los 80s, originándose desde este punto, una explotación agresiva en el país por parte de compañías nacionales y extranjeras.

Se han desarrollado pequeñas operaciones mineras del orden de las 30 a las 130 toneladas por día, en Nambija, Portovelo-Zaruma y Ponce Enríquez; además del depósito de San Bartolomé, que fue explotado entre 1991 y 1993, produciendo concentrados de plomo y plata.

Una fuerte explotación industrial se pudo observar en los ríos Chico (área de Ponce Enríquez) y Birón (área de Santa Rosa) entre los años 1990 y 1995 con un total de 9'500.000 m³ de gravas auríferas extraídas. Operaciones más pequeñas, del orden de los 1.000 a los 1.500 m³/día se ejecutan hasta la actualidad en varios ríos del país.

Actualmente, el sector de Zaruma-Portovelo se encuentra concesionado a diversos grupos mineros, tanto nacionales como extranjeros, quienes realizan una intensa actividad exploratoria, aunque en determinadas zonas se continúa con la explotación artesanal e industrial a pequeña escala. La producción de oro de este centro minero sigue siendo la más importante del Ecuador, con una cantidad que varía entre 3 y 4 toneladas por año.

3.3.2 Situación actual de la Minería en el Ecuador

Gracias a estudios geológicos y mineros realizados, se confirma que Ecuador posee una gran riqueza minera. Cuenta con importantes recursos minerales metálicos como son: el oro, la plata, el cobre, el antimonio, así como indicios razonables de plomo, zinc, platino y otros elementos menores asociados.

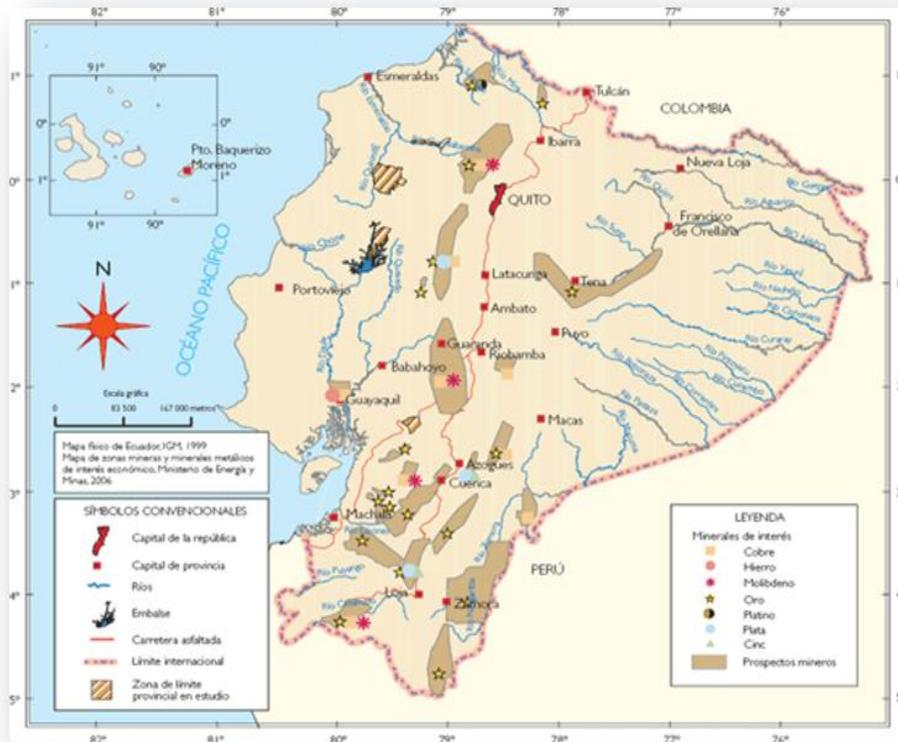
En la actualidad existen unas 850.000 hectáreas en concesiones de exploración y más de 80.000 hectáreas en explotación. La producción minera nacional, todavía muy reducida, se centra básicamente en la producción de oro. En cuanto al potencial de los minerales no metálicos, se ha establecido la magnitud de estos recursos en trece de las provincias del país: Guayas, El Oro, Zamora, Chinchipe, Morona Santiago, Cañar, Azuay, Manabí, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Esmeraldas y Carchi.

En la actualidad, existen minas de la época colonial en las localidades de: Sangurima, Collay, Río Lingay, Valladolid, Loyola, Logroño, Otavalo (oro y plata), Mira, Pintag, Llingate, Xillingvay, Archidona (oro y plata), Río Curarai, Nambija, Esmeraldas, Malbucho, Sevilla de Oro, Zumaco, Zaruma y Misagualli. Extensas áreas del país, de forma particular en la región austral, contienen minas en plena explotación o guardan reservas probables de oro y otros minerales asociados a él; además, se han descubierto más de cincuenta yacimientos con grandes perspectivas.

El oro se extrae de las provincias de El Oro, Azuay, Zamora Chinchipe y Loja, encontrándose diferentes calidades que varían entre 10 y 24 quilates. En la combinación

de metales se logra obtener oro blanco (mezcla de oro de 24 quilates, paladio y plata), oro rojo (mezcla de oro de 24 quilates y cobre) y oro verde (mezcla de oro de 24 quilates y plata).⁸

Ilustración 7: mapa de zonas mineras del Ecuador



Fuente: Kalipedia, Zonas mineras de Ecuador, 2010

En la siguiente tabla se podrá ver la producción minera que se ha reportado en la dirección Nacional de Minería los últimos años:

⁸ Centro de Información y Documentación Empresarial Sobre Iberoamérica. Ecuador: Actividades del sector primario - Recursos minerales

Tabla 2.- Producción minera reportada

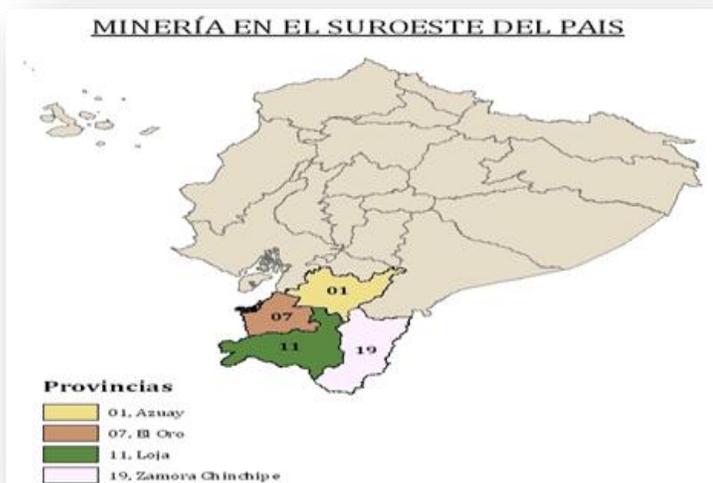
N_o	MINERALES	2002	2003	2004	2005	TOTAL
1.	ORO (GRS)	2.749.826,50	4.818.615,82	5.158.439,92	5.228.280,78	46.170.786,49
2.	PLATA (GRS)	96.341,50	0	371.959,35	283.200,00	759.496,85
3.	CALIZA (TON.)	5.711.782,27	4.688.013,00	4.699.987,59	4.854.958,36	49.245.935,70
4.	MAT. CONST (M³)	4.466.904,89	3.271.970,34	5.833.890,05	5.591.514,59	37.850.249,49

Fuente: Subsecretaría de Minas, Producción Minera Reportada, 2007.

3.4 Minería Aurífera en la Zona Suroeste del País.

Las áreas mineras más representativas son las siguientes: Ponce Enríquez, Santa Rosa, Portovelo-Zaruma y Nambija. El principal yacimiento es Portovelo, que cuenta con importantes recursos de minerales auríferos y polimetálicos. Se estima que, desde comienzos de este siglo, el distrito de Zaruma-Portovelo ha producido cerca de 120 toneladas de oro, siendo el mayor productor a nivel estatal. El distrito de Ponce-Enríquez, de las mismas características que el anterior, ocupa en la actualidad el segundo lugar de producción; también es importante el depósito de Nambija, ubicado en el sureste del país.

Ilustración 8: Ubicación de la región Minera Aurífera en el sur del país.



Fuente: **Las Autoras**

La producción reportada en el año 2007 en estas cuatro provincias según la Dirección Nacional de Minería es la siguiente:

Tabla 3.- Producción minera reportada por provincias

PROVINCIA	ORO	CALIZA	Mat. Constr.	FELDESPATO	ARCILLA	PLATA
	grs.	ton.	m3.	ton.	ton	grs.
AZUAY	960.711,5	216.559,0	544.111,2	36.346,5	60.548,5	
EL ORO	3.083.968,8	-----	87.530,3	7.581,4		444.514,0
LOJA	1.078,00	-----	131.566,3	-----	25.086,0	4450
ZAMORA CHINCHIPE	393.057,42	-----	14.244,14	12.903,2	-----	-----
TOTAL	4.438.815,7	216.559,0	777.452,1	56.831,2	85.634,5	448.964,0

Fuente: Subsecretaría de Minas, Producción Minera Reportada, 2007.

3.4.1 Antecedentes de las principales áreas mineras del sur del país

3.4.1.1 Área de Ponce Enríquez

Los yacimientos minerales del área de Ponce Enríquez consisten en estrechas y profundas vetas de cuarzo con mineralizaciones ricas en sulfuros asociados con oro. Los principales minerales que contienen son: pirita, calcopirita y arsenopirita. El lecho rocoso consiste en rocas volcánicas de composición andesítica y basáltica.

El Distrito Minero Bella Rica, descubierto en 1983, ubicado a pocos kilómetros de Ponce Enríquez, consta de socavones horizontales de donde se extrae el mineral, las diferentes plantas de concentración incluyen: instalaciones para molienda, separación gravimétrica y lixiviación con cianuro y se estima que anualmente se extraen alrededor de 100.000 toneladas de mineral con una producción de aproximadamente 15 toneladas de oro (Lundberg & Hoffner 1997). Más de 1.500 personas están directamente empleadas en las actividades mineras de ésta zona.

El Distrito Minero de San Gerardo está ubicado en la cabecera del Río Chico, tributario del Río Gala. Las minas están ubicadas a una altura de 800 a 1.600 msnm. Entre 500 a 1000 individuos trabajan en la minería. El área cuenta con 20 instalaciones para el tratamiento de mineral que incluyen plantas con métodos gravimétricos y, desde 1997, existen también plantas de lixiviación por cianuro.

El Distrito Minero de Pijilí se encuentra en la inclinación noreste del valle del río con el mismo nombre, al oeste del pueblo El Carmen de Pijilí, a una altura de 900 a 1.200 msnm. Fue un área minera relativamente importante, pero desde 1995 ha cesado prácticamente toda la actividad minera.

3.4.1.2 Área de Santa Rosa

El área tiene características muy similares a las de Ponce Enríquez con respecto al tipo de yacimientos y minerales en la zona. Aquí también se encuentran depósitos auríferos. Actualmente en la cabecera de la Quebrada de los Ingleses, se localiza la única zona importante de explotación; las otras minas que anteriormente funcionaban en Valle Hermoso y cerca al Playón se encuentran paralizadas.

Hasta el año de 1996, el río Birón se vio explotado con el uso de dragas y otra clase de equipo pesado, aunque ésta actividad culminó por un tiempo, la empresa “Odin Mining” la ha rehabilitado.

3.4.1.3 Área de Portovelo-Zaruma

El Distrito Minero Portovelo-Zaruma es uno de los centros mineros más antiguos de Ecuador en donde la minería data desde comienzos de siglo.

En el área de Ponce Enríquez los yacimientos están formados por un complejo sistema de vetas profundas en una zona de 50 km de largo, 10 km de ancho y una extensión vertical de más de 1.400 m. Dicha área en época de explotación entre los años de 1904 hasta 1965 produjo hasta 120 toneladas de oro.

Portovelo y Zaruma fueron construidos en los alrededores de las áreas que se encontraban en explotación y hasta el momento se los considera los centros de explotación más significativos de la región.

El tratamiento del mineral se hace en varias plantas, que emplean principalmente métodos gravimétricos y de lixiviación con cianuro, algunas veces complementados con flotación u otros métodos. Las plantas varían desde instalaciones muy rudimentarias hasta pequeñas plantas bastante sofisticadas.

3.4.1.4 Área de Nambija

Se encuentran a 36 Km de la ciudad de Zamora a 2.600 msnm, situadas sobre montañas surcadas por numerosas galerías y cavernas donde miles de cateadores emplearon métodos tradicionales de extracción, causando graves accidentes en los que murieron cientos de personas. Debido a la codicia del oro en la región se vivió un clima de impunidad, alimentado por el auge de la criminalidad y la delincuencia.

El distrito minero de Nambija fue descubierto en el año de 1980 y en poco tiempo se transformó en un centro de “fiebre de oro” en el cual trabajaban más de 20.000 personas. Por varios años dicha área fue la principal productora de oro en el país, actualmente sus actividades son muy modestas.

El mineral es básicamente tratado con métodos gravimétricos en pequeñas plantas rudimentarias y todos los desechos de esta explotación son vertidos al río Nambija, el cual hace décadas fue un hermoso río cristalino utilizado como balneario natural, ahora solo quedan indicios de contaminación con mercurio y otros minerales.

3.5 Pequeña Minería en Zaruma

3.5.1 Minería a pequeña escala

La pequeña minería está formada por la minería a nivel medio consolidada y la pequeña minería tecnificada, caracterizadas por “desarrollar formas asociativas de trabajo (las sociedades de pequeños mineros) o grupos de empresarios, que incorporan instrumentos mecanizados para la extracción, procesamiento y transporte de materiales.”⁹

⁹ Equipo MMSD América del Sur, Minería, minerales y desarrollo sustentable en América del sur, International Institute for Environment and Sustainable Development (IIED), World Business Council for sustainable Development (WBCSD) 2002., p. 445.

A continuación se describe el proceso metalúrgico que se lleva a cabo en empresa minera EMICOR que se dedica a la explotación minera en el cantón Zaruma a pequeña escala

El proceso metalúrgico se puede dividir en las siguientes fases:

- ✓ **Trituración:** este proceso comienza desde una tolva de almacenamiento primario en la cual el material grueso cae hacia una primera zaranda que separa el mineral, por la malla pasa el material que es menor a dos pulgadas y el que es mayor pasa a una trituradora de mandíbulas para reducir su tamaño. Luego de esto, el material pasa hacia una segunda zaranda para separarlos nuevamente: a la tolva de finos llega el mineral que es de media pulgada y el resto pasa a una trituradora cónica, hasta obtener un grosor menor a ½ pulgada de diámetro de todo el material.

- ✓ **Molienda:** la tolva de finos alimenta el molino de bolas y el circuito de cianuración. La descarga de los molinos es controlada mediante una zaranda tipo trommel. El mineral con tamaños superiores a las 2 pulgadas es recirculado y lo que pasa es enviado hacia los hidrociclones por medio de una bomba.

- ✓ **Flotación:** la flotación se realiza en un tanque al que se le adiciona espumantes y colectores, dependiendo del mineral se realizarán las dosificaciones. El material que fue previamente hidrofobizados al entrar en contacto con la burbuja forma un complejo mineral-burbuja que emerge hacia la superficie para luego ser evacuada por rebose mediante flujo de agua a las piscinas de acumulación.

- ✓ **Cianuración:** el material que va a ser procesado es transferido desde el overflow en forma de pulpa hacia los tanques lixivadores en donde se adiciona cal y cianuro hasta alcanzar un pH de 11 y concentraciones entre 600 y 800 ppm de cianuro. Luego de un periodo de 16 horas de haberse realizado la lixiviación se traslada a los tanques que contiene carbón activado, el mismo que luego de terminar la campaña es cosechado y enviado al proceso de desorción.

- ✓ **Relavera:** el cianuro que se obtiene del último tanque de agitación tiene una concentración aproximada de 200 a 300 ppm y es bombeado hasta la relavera en donde se adiciona agua, hasta que por medio de degradación natural se llega a valores entre 10 y 150 ppm. Dicha relavera está forrada con geomembrana y tiene 5 subdrenes que están distribuidos por toda el área, y se encuentran comunicados por una tubería perforada a un quenacho recolector, de aquí se pasa al circuito de destoxificación.

En este circuito se trabaja con una caudal entre 60 y 70 litros por minuto al cual se adiciona peróxido de hidrógeno diluido en agua destilada dando como resultado valores menores a 1 ppm de cianuro libre. Terminada la destoxificación el pH del efluente está en un rango de 7 a 8 por lo que ya no hace falta adicionar ácido y se realiza la descarga al río.

3.5.2 Minería Artesanal

Se la define como “aquella que utiliza principalmente instrumentos manuales, se asienta en el trabajo familiar y extrae volúmenes bajos de mineral, que le sirven para sostener la economía familiar, de manera directa o complementaria.”¹⁰ Forman parte de éste tipo de minería: Janqueros, minería de subsistencia, pequeña minería a nivel básico y a nivel medio poco consolidada.

El proceso metalúrgico que se lleva a cabo en este tipo de minería se describe a continuación:

Para iniciar con el trabajo, el mineral aurífero es obtenido de manera manual o empleando explosivos en minas que han sido abandonadas, de sedimentos de ríos o de afloramientos exteriores. El material obtenido contiene pequeñas partículas de oro.

¹⁰ Equipo MMSD América del Sur, Op. Cit. p. 446.

Todo el material obtenido es vendido a empresas mineras o es trabajado por los mismos mineros en sus instalaciones artesanales.

Para comenzar el tratamiento, los mineros separan la parte estéril que no contiene oro empleando un mazo para llevar solo el material con oro. Luego es llevada hasta un molino para desmenuzar y moler todo el material.

Una vez molidos son transportados por un canal de madera hasta unos cajones donde se depositan. Para realizar la extracción del oro de la arena se emplea mercurio formando la amalgama. La perla de amalgama como se llama a la formación anterior es separada del oro empleando un soldador que evapora el mercurio obteniéndose una pequeña cantidad de oro que posteriormente será comercializado, el resto de oro que aun está presente en el mineral es vendido a las empresas mineras para que ellos con sus procesos tecnificados puedan obtener el resto. Los mineros artesanales solo se quedan con el 50 % ya que el resto es para el dueño de las instalaciones donde se proceso al oro.

3.5.3 Efectos negativos provocados por las actividades mineras auríferas

3.5.3.1 Medio Ambiente

Los problemas ambientales provocados por la apertura de minas en las diferentes zonas del Ecuador han sido visibles desde sus inicios, pero no se les ha dado mayor importancia. Las afecciones se han manifestado en el agua, suelo y aire, y entre las principales causas tenemos:

- ✓ Los yacimientos mineros al encontrarse en zonas alejadas provocan una transformación territorial drástica, ya que se deforestan grandes extensiones de bosques para poder construir los nuevos asentamientos poblacionales, generando la pérdida de flora y fauna endémica de la zona.

- ✓ La apertura de carreteras y frontones de la mina sin medidas de seguridad, accesos a las minas, construcción de viviendas sin sistemas de drenaje, construcción de túneles en zonas con pendientes altas provocan la inestabilidad del suelo, haciéndolas propensas a deslaves y desplomes ya que no son construidas con las medidas de seguridad adecuadas.

- ✓ El entorno en general se ve dramáticamente afectado, ya que por las distintas operaciones se genera altos niveles de ruido que disminuye el atractivo escénico de la zona, y puede generar problemas de salud a las personas cercanas a dichas actividades.

- ✓ Las arenas de relave que resultan de la separación del oro y que contienen grandes cantidades de mercurio y cianuro son descargadas directamente por algunas empresas a los ríos, provocando problemas como la disminución de la calidad del agua, mata a especies acuáticas que no resisten las altas concentraciones de contaminantes, disminuye la capacidad de realizar la fotosíntesis de algunas plantas y puede llegar a matar a muchas especies ya que algunos contaminantes al ser bioacumulativos pueden ser transferidos a otros organismos mediante la cadena trófica.

- ✓ La calidad del aire del lugar puede verse afectada por la generación de grandes cantidades de polvo, emanación de gases tóxicos por el uso de combustibles, la combustión incompleta de sustancias como cianuro y mercurio empleadas en los procesos de recuperación de oro, que despiden a la atmósfera gases tóxicos para el ambiente.

3.5.3.2 Situación Social

La presencia de nuevos actores en las poblaciones cercanas a las minas crea conflictos con los pobladores nativos ya que no se cuenta con autoridades para que regulen todo lo concerniente a la actividad minera.

La falta de servicios básicos, la construcción de viviendas en áreas marginales sin centros de salud se han visto empeoradas por la presencia de problemas como la prostitución, alcoholismo y violencia, generando una pérdida de costumbres autóctonas de la zona.

El empleo de sustancias químicas en los procesos de extracción de oro ha puesto en riesgo la salud de trabajadores y de las poblaciones aledañas provocado por contaminantes que llegan hasta las vertientes de agua que son consumidas por las personas, además que los cultivos son regados con dichas aguas aumentando el peligro de contaminación y aumentando el riesgo de contagiarse con enfermedades como la malaria y la esquistosomiasis.

Las situaciones de pobreza llevan a mujeres a abandonar a sus hijos y sus responsabilidades del hogar para ir a trabajar como janqueadoras en las minas y a niños dejar sus estudios para trabajar en las instalaciones subterráneas y ayudar a traer algo de dinero para comprar artículos de primera necesidad que es para lo único que les alcanza.

Abandono de actividades agrícolas y ganaderas por la gente de poblaciones aledañas, atraídos por las oportunidades que ofrece de manera real o imaginaria la actividad minera.

Problemas como intoxicación por cianuro o mercurio, accidentes por explosiones, problemas pulmonares y psicosociales por las condiciones de trabajo, consumo de aguas contaminadas son los que han dañado la calidad de vida de la población.

La ventilación deficiente, el esfuerzo excesivo, la falta de espacio para trabajar, equipo de trabajo inadecuado y obsoleto, el exceso de ruido y vibración son los principales riesgos que los trabajadores sufren en sus ambientes de trabajo y que provocan problemas como intoxicación por cianuro o mercurio, accidentes por explosivos, problemas pulmonares y psicosociales.

3.6 Marco Legal

3.6.1 Constitución Política del Ecuador

En la Constitución Política del Ecuador aprobada en el año 2008, en la sección cuarta sobre Recursos Naturales cabe recalcar el siguiente artículo:

Art. 408.- Son de propiedad inalienable, imprescriptible e inembargable del Estado los recursos naturales no renovables y, en general, los productos del subsuelo, yacimientos minerales y de hidrocarburos, sustancias cuya naturaleza sea distinta de la del suelo, incluso los que se encuentren en las áreas cubiertas por las aguas del mar territorial y las zonas marítimas; así como la biodiversidad y su patrimonio genético y el espectro radioeléctrico.

Estos bienes sólo podrán ser explotados en estricto cumplimiento de los principios ambientales establecidos en la Constitución. El Estado participará en los beneficios del aprovechamiento de estos recursos, en un monto que no será inferior a los de la empresa que los explota. El Estado garantizará que los mecanismos de producción, consumo y uso de los recursos naturales y la energía preserven y recuperen los ciclos naturales y permitan condiciones de vida con dignidad.

3.6.2 Ley Minera

La ley minera que fue expedida en enero del 2009 cuenta con los siguientes artículos más relevantes:

Art. 1.- Del objeto de la Ley.- La presente Ley de Minería norma el ejercicio de los derechos soberanos del Estado Ecuatoriano, para administrar, regular, controlar y gestionar el sector estratégico minero, de conformidad con los principios de sostenibilidad, precaución, prevención y eficiencia. Se exceptúan de esta Ley, el petróleo y demás hidrocarburos.

El Estado podrá delegar su participación en el sector minero, a empresas mixtas mineras en las cuales tenga mayoría accionaria, o a la iniciativa privada y a la economía popular y solidaria, para la prospección, exploración y explotación, o el beneficio, fundición y refinación, si fuere el caso, además de la comercialización interna o externa de sustancias minerales.

En el título cuarto sobre las obligaciones de los titulares mineros con respecto a la preservación del medio ambiente tenemos:

Art. 78.- Estudios de impacto ambiental y Auditorías Ambientales.- Los titulares de concesiones mineras y plantas de beneficio, fundición y refinación, previamente a la iniciación de las actividades mineras en todas sus fases, de conformidad a lo determinado en el inciso siguiente, deberán efectuar y presentar estudios de impacto ambiental en la fase de exploración inicial, estudios de impacto ambiental definitivos y planes de manejo ambiental en la fase de exploración avanzada y subsiguientes, para prevenir, mitigar, controlar y reparar los impactos ambientales y sociales derivados de sus actividades, estudios que deberán ser aprobados por el Ministerio del Ambiente, con el otorgamiento de la respectiva Licencia Ambiental. No podrán ejecutarse actividades mineras de exploración inicial, avanzada, explotación, beneficio, fundición, refinación y

cierre de minas que no cuenten con la respectiva Licencia Ambiental otorgada por el Ministerio del ramo.

Art. 79.- Tratamiento de aguas.- Los titulares de derechos mineros y mineros artesanales que, previa autorización de la autoridad única del agua, utilicen aguas para sus trabajos y procesos, deben devolverlas al cauce original del río o a la cuenca del lago o laguna de donde fueron tomadas, libres de contaminación o cumpliendo los límites permisibles establecidos en la normativa ambiental y del agua vigentes, con el fin que no se afecte a los derechos de las personas y de la naturaleza reconocidos constitucionalmente.

El tratamiento a darse a las aguas para garantizar su calidad y la observancia de los parámetros de calidad ambiental correspondientes, deberá preverse en el respectivo sistema de manejo ambiental, con observancia de lo previsto en las leyes pertinentes y sus reglamentos.

La reutilización del agua, a través de sistemas de recirculación es una obligación permanente de los concesionarios. El incumplimiento de esta disposición ocasionará sanciones que pueden llegar a la caducidad de la concesión o permiso.

Art. 80.- Revegetación y Reforestación.- Si la actividad minera requiere de trabajos que obliguen al retiro de la capa vegetal y la tala de árboles, será obligación del titular del derecho minero proceder a la revegetación y reforestación de dicha zona preferentemente con especies nativas, conforme lo establecido en la normativa ambiental y al plan de manejo ambiental.

Art. 81.- Acumulación de residuos y prohibición de descargas de desechos.- Los titulares de derechos mineros y mineros artesanales, para acumular residuos minero-metalúrgicos deben tomar estrictas precauciones que eviten la contaminación del suelo, agua, aire y/o biota de los lugares donde estos se depositen, en todas sus fases incluyendo la etapa de cierre, construyendo instalaciones como escombreras, rellenos de

desechos, depósitos de relaves o represas u otras infraestructuras técnicamente diseñadas y construidas que garanticen un manejo seguro y a largo plazo.

Se prohíbe la descarga de desechos de escombros, relaves u otros desechos no tratados, provenientes de cualquier actividad minera, hacia los ríos, quebradas, lagunas u otros sitios donde se presenten riesgos de contaminación.

El incumplimiento de esta disposición ocasionará sanciones que pueden llegar a la caducidad de la concesión o permiso.

Art. 84.- Protección del ecosistema.- Las actividades mineras en todas sus fases, contarán con medidas de protección del ecosistema, sujetándose a lo previsto en la Constitución de la República del Ecuador y la normativa ambiental vigente.

Art. 85.- Cierre de Operaciones Mineras.- Los titulares de concesiones mineras deberán incluir en sus programas anuales de actividades referentes al plan de manejo ambiental, información de las inversiones y actividades para el cierre o abandono parcial o total de operaciones y para la rehabilitación del área afectada por las actividades mineras de explotación, beneficio, fundición o refinación.

Asimismo, en un plazo no inferior a dos años previo al cierre o abandono total de operaciones para las actividades mineras de explotación, beneficio, fundición o refinación, el concesionario minero deberá presentar ante el Ministerio del Ambiente, para su aprobación, un Plan de Cierre de Operaciones que incluya la recuperación del sector o área, un plan de verificación de su cumplimiento, los impactos sociales y su plan de compensación y las garantías indicadas en la normativa ambiental vigente; así como, un plan de incorporación a nuevas formas de desarrollo económico.

Art. 86.- Daños ambientales.- Para todos los efectos legales derivados de la aplicación de las disposiciones del presente artículo y de la normativa ambiental vigente, la autoridad legal es el Ministerio del Ambiente. Para los delitos ambientales, contra el

patrimonio cultural y daños a terceros se estará a lo establecido en la Constitución de la República del Ecuador y en la normativa civil y penal vigente.

3.6.3 Texto Unificado De La Legislación Ambiental Secundaria (Tulas)

La actividad minera está considerada por el TULAS entre las actividades industriales según el artículo 4.1.9 y establece los criterios de calidad que se deben tener a consideración para poder descargar el agua empleada en sus procesos a cuerpos de agua dulce. A continuación se presenta la tabla de límites de descarga que deben cumplir las industrias:

Tabla 4.- Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce

PARÁMETROS	EXPRESADO COMO	UNIDAD	LMT MÁX. PERM.
Aceites y Grasas.	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3
Cianuro total	CN ⁻	mg/l	0,1
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O ₅ .	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	250
Fósforo Total	P	mg/l	10
Materia flotante	Visibles		Ausencia
Mercurio total	Hg	mg/l	0,005
Potencial de hidrógeno	pH		40426
Sólidos Sedimentables		ml/l	1
Sólidos Suspendidos Totales		mg/l	100
Sólidos totales		mg/l	1 600
Temperatura	°C		<35
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg/l	1

FUENTE: Texto Unificado de Legislación Ambiental – Ecuador, Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recurso agua, 2002.

3.6.4 Ordenanzas Municipales

El cantón Zaruma cuenta con una ordenanza para regular las actividades mineras, controlar y prevenir la contaminación ambiental, en la cual los artículos más destacados son los siguientes:

Art. 2.- Quedan sujetas a las prescripciones de esta Ordenanza, especialmente las actividades relacionadas con las plantas refinadoras y recuperadoras de minerales metálicos, los molinos y trituradoras de minerales, actividades mineras organizadas en cooperativas y compañías y las de la pequeña minería o minería artesanal e informal, los establecimientos de compra y venta de oro y otros minerales, así como todas las actividades industriales y comerciales similares o relacionadas a los negocios antes mencionados.

Art. 7.- Cuando se trate de plantas industriales que utilicen mercurio, cianuro u otros materiales tóxicos en sus operaciones, el informe deberá exigir la obligación de construir instalaciones y procedimientos técnicos para tratar dichos contaminantes químicos, señalando la prohibición de arrojar desechos industriales sin previo tratamiento en arroyos, fuentes, quebradas o ríos que amenacen la contaminación del agua o de la tierra.

Art. 8.- Las plantas procesadoras y los molinos trituradores de minerales no podrán utilizar para sus fines industriales, las aguas que anteriormente a su instalación han venido siendo aprovechadas para uso doméstico, riego o abrevadero de animales.

Art. 9.- La Dirección de Obras Públicas Municipales, a través del personal especializado, debidamente autorizado, podrá realizar periódicamente inspecciones de saneamiento y control de la contaminación ambiental, así como constatar el buen

funcionamiento de los procesos de tratamiento de desechos industriales. El informe de tales inspecciones será elevado a la Dirección Nacional de Minería (DINAMI), puntualizando, en caso que los hubiese, los aspectos concretos de violación a la Ley de Minería, a su Reglamento General y/o a la presente Ordenanza Municipal.

Art. 11.- Los establecimientos de comercialización de oro deberán utilizar obligatoriamente un destilador de amalgama para la recuperación de mercurio. La instalación de estos destiladores es un requisito esencial para la emisión del Informe Municipal en el trámite de legalización de estas actividades comerciales.

Art. 13.- Queda terminantemente prohibido la ejecución de operaciones o trabajos en que se utilice mercurio y/o carbono, cerca de vertientes, fuentes, tuberías o canales que conduzcan agua para el uso humano o agropecuario. Así mismo, se prohíbe quemar al aire libre la amalgama de oro sin la utilización del destilador respectivo.

Art. 15.- Todo molino o trituradora de minerales para servicio a terceros deberá contar, entre sus equipos de servicio por lo menos con tres destiladores de mercurio y amalgadores para uso gratuito de los usuarios o clientes de estas empresas.

Art. 16.- Cuando el interés y la seguridad colectiva así lo requiera, la Municipalidad podrá realizar la construcción de obras o instalaciones que se estimen necesarias para los fines y propósitos de esta Ordenanza. En caso que las referidas obras o instalaciones beneficien directamente a determinadas empresas o industrias, el costo de ellas será previamente analizado con los beneficiarios y, mediante convenios especiales, se acordará los aportes financieros que se comprometan a entregar al Municipio.

4.- CIANURO

4.1 Definición

“La palabra cianuro se usa para englobar a una familia de compuestos químicos cuyos elementos fundamentales son carbono y nitrógeno, que además dependiendo del elemento químico con el que estén combinados poseerán características diferentes”¹¹.

Existen varios tipos de compuestos de cianuro: el cianuro de hidrógeno (HCN), gas muy peligroso y las sales simples: Cianuro de potasio y Cianuro de Sodio, que son las más utilizadas.

4.2 Antecedentes históricos

La historia del cianuro en la minería comienza en el año 1704, cuando Dieppel y Diesbach (investigadores) descubren el “Azul de Prusia” o llamado ferrocianuro de hierro. Varios años después en 1783, Scheele realiza una publicación del primer estudio acerca de la disolución del oro en soluciones de cianuro. En EEUU se han patentado desde 1869 procesos en los cuales emplean cianuro para extraer oro. La primera planta de cianuración a escala comercial que se conoció fue en el año 1889 en Nueva Zelanda y estuvo en la mina Crown, a partir de esto se comenzó a extender por varios países principalmente EEUU, Australia, México, Sudáfrica y Francia.

También se tiene conocimiento sobre las aplicaciones militares que se le dio al cianuro. Durante la Segunda Guerra Mundial, Alemania Nazi empleó cianuro de hidrógeno, bajo el nombre de *Zyklon B*, para asesinar a millones de personas en las cámaras de gas. Además existen denuncias contra Estados Unidos, que alegan que pudo haber sido utilizado este compuesto en Vietnam junto con el Agente Naranja (mezcla de dos herbicidas hormonales).

¹¹ Sociedad Nacional de Minería, petróleo y Energía, El cianuro, informe quincenal de junio, p. 1

4.3 Características físico-químicas y química ambiental

4.3.1 Características físico-químicas

El cianuro es un anión monovalente de representación CN^- . Contiene el grupo cianuro ($\text{C}\equiv\text{N}$), que consiste de un átomo de carbono de enlace triple con un átomo de nitrógeno.

Puede formar parte de moléculas de gas como el cianuro de hidrógeno (HCN), el cloruro de cianógeno (CNCl), o el bromuro de cianógeno (CNBr); también puede encontrarse en complejos cristalinos tetraédricos como el cianuro de sodio (NaCN) o el cianuro de potasio (KCN).

Cianuro de sodio o cianuro sódico (NaCN): es la sal sódica del ácido cianhídrico (HCN).

- ✓ Fórmula: NaCN
- ✓ Masa molecular: 49,05 g/mol
- ✓ Punto de fusión: 563,7 °C
- ✓ Punto de ebullición: 1.496 °C
- ✓ Densidad: 1,60 g/ml

Cianuro de hidrógeno: también conocido como ácido hidrocianico o HCN. Es un agente letal de acción rápida que inhibe la respiración aerobia a nivel celular e impide la utilización del oxígeno por las células. El HCN líquido, que a la presión atmosférica se presenta en un rango de temperaturas entre -14°C y $+26^\circ\text{C}$, es incoloro a pardo amarillento en apariencia.

4.3.2 Ciclo natural del cianuro

El cianuro de hidrógeno se formó naturalmente en las primeras etapas del desarrollo de la vida sobre la tierra. Su efectividad a bajas concentraciones es fulminante y mortal. Se encuentra con habitualidad en la naturaleza en diversos microorganismos, insectos y en

el estado de crecimiento de muchas plantas como un mecanismo de protección, como un alcaloide común, que los convierte en una fuente alimenticia poco atractiva durante ese periodo, para cierto tipo de animales herbívoros.

4.4 Fuentes Ambientales

El cianuro está constituido de dos elementos: el carbono y el nitrógeno, que forman parte importante del aire que respiramos y además se encuentran presentes en las moléculas orgánicas que son base fundamental de las diferentes formas de vida.

El ácido cianhídrico o cianuro de hidrógeno se desarrolló en las primeras etapas de formación del planeta Tierra como precursor de aminoácidos, a partir de los cuales evolucionó la vida. Este compuesto se encuentra en forma natural, formando parte de plantas y animales que lo producen y utilizan como un mecanismo de protección convirtiéndolos en una fuente alimenticia poco deseable.

Varios organismos pueden adaptarse a la presencia de cianuro o eliminar su toxicidad.

La amigdalina es una fuente natural de cianuro (ácido cianhídrico), que se encuentra en frutas, verduras, semillas y nueces, entre estos tenemos: damascos, brotes de fréjol, cereza, castañas, maíz, lentejas, duraznos, maníes, pecanas, pistachos, papas, soja, etc.

Ilustración 9: Concentración de cianuro en plantas seleccionadas

ESPECIES DE PLANTAS	CONCENTRACIÓN (en mg/kg ⁻¹)
Yuca (variedades dulces)	377
Hojas de yuca	500
Raíces	138
Raíces desecadas	46 <100
Puré	81
Puntas de bambú	Máx. 8000
Poroto blanco (judía) (Birmania)	2.100
Almendra (Amarga)	2802
Sorgo (planta joven, integral)	Máx. 2.500

FUENTE: Extractado de Eisler. 1991

En algunas plantas como la yuca, la alfalfa y el sorgo, está presente en cantidades que podrían considerarse como peligrosas tanto para los seres humanos como para los animales. Además de estas fuentes el cianuro es emitido por otras como el humo del cigarrillo, escapes de automóviles, sal de mesa y sal usada para derretir el hielo de las vías (cianuro de hierro).

4.4.1 Aplicaciones del cianuro

El cianuro es uno de los compuestos más utilizados en la industria química debido a que su composición facilita la reacción con otras sustancias; además una característica importante es el alto potencial corrosivo que posee, razón por la que es empleado en un sin número de procesos industriales como la producción de papel, plásticos, metalurgia, limpieza de metales, industria fotográfica, endurecimiento de acero, producción de goma sintética, en el combate de plagas (como el cianuro de hidrógeno utilizado para exterminar roedores, depredadores grandes e insectos que han desarrollado resistencia a otros pesticidas) y en la industria farmacéutica en la elaboración de ciertos medicamentos para combatir el cáncer (laetril) y para reducir la presión arterial (nitroprusiato). Sin embargo la aplicación de este compuesto se destaca en la minería, en donde se usa para formar amalgamas entre el oro y los materiales proporcionados por la naturaleza.

Ilustración 10.- Minería artesanal en Zhumiral - Ponce Enríquez - Provincia del Azuay



Fuente: Las Autoras

Anualmente se utilizan más de un millón de toneladas de cianuro en la producción de nylon, nitrilo y plásticos acrílicos, lo que representa aproximadamente un 80% de la producción total de este compuesto; el 20% restante se emplea para fabricar cianuro de sodio (forma sólida de cianuro cuya manipulación es relativamente fácil y segura). De este porcentaje, el 90%, es decir, el 18% de la producción total, se utiliza en minería a nivel mundial.

Justamente la minería es la actividad productiva que ha protagonizado los accidentes más graves por este peligroso compuesto. El más grave de todos es el acontecido en Rumanía el 20 de enero del 2000 en la mina de Baia Mare. Un accidente similar fue el de Aznalcóllar, que se produjo por la ruptura de una balsa donde se acumulaban residuos de depuración minera, escapándose 100,000 metros cúbicos de aguas residuales con aproximadamente 120 toneladas de cianuro. “Aquel accidente demostró la capacidad corrosiva del cianuro y su poder de contaminación; fue uno de los más letales de la historia medioambiental europea” (Juan López Uralde, director de Greenpeace.)

EEUU ha protagonizado cuatro accidentes con cianuro en los últimos años:

En Colorado-mina de oro Summitville, poseída por Galactic Resources Ltda., han contribuido a graves problemas ambientales en una parcela de 17 millas a lo largo del Río Alamosa. La mina fue abierta en 1986, y abandonada en 1992.

En Montana, Pegasus Corporation se cerró recientemente la mina de oro Zortman-Landusk, abierta en 1979, fue la primera mina de lixiviación en pilas con cianuro de larga escala en los Estados Unidos. La mina Gold Quarry, derramó aproximadamente 245,000 galones de desperdicio de cianuro en dos riachuelos locales. En 1989 y 1990, una serie de ocho fugas de cianuro ocurrió en la mina de oro Echo Bay Company's McCoy/Cove, derramando un total de casi 450 kilos de cianuro en el medio ambiente.

En Dakota del Sur, El 29 de mayo de 1998, entre seis y siete toneladas de tailings de cianuro de la Mina Homestake fueron derramadas en el riachuelo Whitewood Creek en las Black Hills (Montañas Negras).

Otros accidentes de derrame de cianuro se produjeron en Kirgistan el 20 de mayo de 1998, en Guyana 1995 en donde fueron derramados más de 860 millones de galones y en España en la mina de cinc. En Los Frailes se derramaron 1.3 billones de galones de metal ácido en un río principal y sobre las tierras de las granjas cercanas.

4.5 Toxicocinética

4.5.1 Absorción

Los complejos de cianuro y de cianuro con metales son absorbidos por diversos componentes orgánicos e inorgánicos de la corteza terrestre, incluso por los óxidos de aluminio, hierro y manganeso, ciertos tipos de arcilla, feldespatos y carbón orgánico.

Aunque la capacidad de retención del cianuro en lo que a materia inorgánica se refiere no es muy conocida, el cianuro está fuertemente relacionado con la materia orgánica.

El ácido cianhídrico es una molécula pequeña y tiene un pKa de 9,21 que hace que no esté ionizada al pH fisiológico. En el estado gaseoso es un compuesto de elevada difusibilidad. Atraviesa rápidamente membranas por un mecanismo de difusión simple.

El ácido cianhídrico se absorbe por piel y mucosas y la puerta de ingreso a este tipo de intoxicación puede ser por vía oral, respiratoria o cutánea.

Los factores que modifican la velocidad de absorción pueden ser:

- ✓ propios del compuesto, como la liposolubilidad, la constante de disociación¹², la concentración en el sitio de absorción (directamente relacionada con la concentración o dosis de exposición)
- ✓ propios del sitio de absorción, como la superficie de contacto, la irrigación o perfusión y el pH en el sitio de absorción.

La absorción del cianuro es por lo general muy rápida (unos pocos segundos para la vía respiratoria y una media hora para la vía digestiva), a excepción de aquellos casos en los que la intoxicación se produce por compuestos precursores del cianuro, como lo son los glucósidos cianógenos (vía oral), o los nitrilos (vía oral o dérmica).

La absorción gastrointestinal o digestiva de sales de cianuro es más lenta que la absorción inhalatoria ya que se ve afectado por las condiciones digestivas (presencia de alimentos). En ciertos estudios se ha demostrado que la alcalinización del pH a nivel del estómago disminuye la absorción de cianuro.

¹² Díaz-Veliz, G. (2007). Absorción y vías de administración de fármacos. https://www.u-cursos.cl/medicina/2007/2/TMPCFARM2/1/material_docente/objeto/137770.

El tiempo transcurrido entre la exposición y la aparición de los síntomas depende del tipo de compuesto involucrado (gas cianhídrico, cianuros hidrosolubles, cianuros insolubles en agua y compuestos cianogenéticos), la vía de ingreso y la dosis. Por ejemplo, la hiperpnea puede aparecer 15 segundos después de la exposición a gas cianhídrico¹³ o los síntomas pueden demorarse hasta 12 horas luego de la ingestión de glucósidos cianogenéticos.

La ingestión de sales origina cianuro de hidrogeno (HCN) al contacto con el acido clorhídrico (HCl) del estómago. Los vapores son inhalados y absorbidos a nivel alveolar.

La exposición a través de la piel y mucosas es importante a partir de 100 ppm y una hora de exposición.¹⁴

4.5.2 Distribución y depósito

Si la absorción fue por vía oral, una importante porción del tóxico es eliminada en el hígado.

El 60% del ión cianuro está unido a proteínas. La distribución del cianuro que es absorbido por nuestro organismo es muy rápida, ya que en la mayoría de los casos tomará solo unos pocos minutos u horas. Principalmente se lo encuentra en todos los tejidos; sin embargo, los mayores niveles suelen encontrarse en órganos como en el hígado, pulmones, sangre y cerebro.

¹³ Baskin, S.T.; Brewer, T.G. (1997).Cyanide poisoning. En: Textbook of Military Medicine, Medical aspects of chemical and biological warfare. Zajtchuk and Bellamy Eds. Office of the Surgeon General Department of the Army, Washington DC, USA.p 271.

¹⁴ José Rafael Luna. Lic. Bioanálisis, MSc. Química Analítica. Grupo de Investigación en Toxicología Analítica y Estudios Farmacológicos (GITAEF). Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela. <http://webdelprofesor.ula.ve/farmacia/lunajr/escuela/hcn.ppt>

El cianuro se une a muchas metaloenzimas, inactivándolas, entre las cuales encontramos enzimas que contienen hierro, cobre y cobalto¹⁵.

En la sangre, la mayor proporción de cianuro se halla dentro del eritrocito. La concentración de cianuro en un glóbulo rojo/concentración de cianuro es de 100:1 eritrocitos/plasma.

El cianuro incluso puede atravesar la placenta de las madres en el período de gestación.

Esta afirmación se basa en que se encontraron altos niveles de tiocianato (principal metabolito del cianuro) en sangre de cordón umbilical de fetos de madres fumadoras comparados con los niveles hallados en sangre de cordón de fetos de madres no fumadoras, lo que sugiere que el tiocianato y posiblemente el cianuro atraviesan placenta lo cual causa efectos secundarios permanentes que aun se están estudiando en los recién nacidos.

No se ha descrito acumulación del cianuro en sangre o tejidos luego de exposición crónica al tóxico, aunque fácilmente puede llegar a distribuirse en estos.

4.5.3 Excreción

“La excreción de los compuestos cianurados se realiza en un 80% (por la orina) en forma de tiocianato, en cuya producción intervienen varias enzimas, sobretodo la rodanasa, y, además, se requiere un compuesto dador de grupos sulfato, como es el tiosulfato. Una vez transformado en tiocianato en el hígado, este es eliminado vía renal.

El tiocianato es un compuesto mucho menos tóxico pero que es capaz de producir intoxicación clínica cuando sus niveles en sangre son muy elevados. El principal factor

¹⁵ Lauwerys, R. (1994). Ácido cianhídrico, cianuros, nitrilos y sustancias similares. En: Toxicología Industrial e Intoxicaciones Profesionales. Mason S.A. Barcelona, España. p 379.

que limita esta eliminación es la presencia de cantidad suficiente de dadores de grupos sulfato. El resto del cianuro se excreta vía renal y pulmonar unido a cianocobalamina, cisteína y oxidado”¹⁶.

La dosis letal para las sales de cianuro se encuentra en un rango de 200-300 mg mientras que para el ácido cianhídrico es de 50 mg.

4.5.4 Interacción del cianuro con otros elementos

La interacción del cianuro hace que este elemento químico posea una alta afinidad por ciertos compuestos azufrados (sulfatos) y complejos metálicos (cobalto; hierro trivalente [Fe+++]). Una vez que este ha sido absorbido, es muy probable que se combine rápidamente con el hierro en estado oxidado del citocromo A3, (componente del complejo enzimático de la citocromo oxidasa a nivel mitocondrial).

El cianuro también puede adherirse a otras proteínas como la nitrato reductasa, catalasa, mioglobina y muchas otras que intervienen en el metabolismo lipídico y el transporte del calcio.

El cianuro circulante es metabolizado por la enzima hepática rodanasa, que cataliza una reacción irreversible entre el ión cianuro y un sulfato para producir tiocianatos (compuesto relativamente no tóxico que se excreta por orina). La escasa disponibilidad de sulfatos como sustrato de la rodanasa suele ser el factor limitante de esta reacción, es por esto que es prescindible la utilidad terapéutica que significa la administración de sulfuros, como tiosulfato o hiposulfito de sodio, que aceleran la reacción.

La interacción del cianuro con la Citocromo oxidasa es reversible a través de vías de detoxificación endógenas que incluyen las sulfurotransferasas. Estas vías son las bases

¹⁶ SARACCO, Sergio; “Intoxicación por Gases”, Mendoza, Argentina.
www.fcm.uncu.edu.ar/medicina/posgrado/.../Hipoxias_Toxicas.pdf

de investigación para antidotos efectivos. Entre las sulfurotransferasa se encuentra la rodanasa que es una enzima mitocondrial que transforma el cianuro en tiocianato al unirlo a un grupo sulfuro. El tiocianato así formado tiene poca toxicidad. Esta reacción puede ser acelerada por la administración de tiosulfato de sodio que agrega moléculas de sulfuro¹⁷.

4.6 Efectos adversos

El cianuro reacciona con rapidez en el medio ambiente y se degrada o forma complejas sales de estabilidades variables, es tóxico para muchos seres vivos, incluso en concentraciones muy bajas.

Los efectos causados por la exposición al cianuro dependen principalmente del tipo de compuesto de cianuro, tales como cianuro de hidrógeno gaseoso o sales de cianuro. En diversas investigaciones se señala que la exposición a altos niveles de cianuro durante un corto tiempo causa daño al cerebro y al corazón y puede producir coma y hasta la muerte.

Los trabajadores que respiraron niveles bajos de cianuro durante varios años sufren dificultad para respirar, dolores del pecho, vómitos, alteraciones en la sangre, dolores de cabeza y dilatación de la glándula tiroidea.

Los primeros síntomas que suelen aparecer cuando existe contaminación por cianuro son respiración profunda y rápida y falta de aliento. También suelen aparecer convulsiones y pérdida del conocimiento. Todos los síntomas por intoxicación de cianuro se observan después de haber inhalado o ingerido alimentos con altas concentraciones de este elemento.

Trabajadores expuestos por su labor en forma intermitente a vapores de HCN presentan nerviosismo, pérdida de apetito, cefalea, vértigo, náuseas y vómito.

¹⁷ <http://www.estrucplan.com.ar/producciones/entrega.asp?identrega=47>

Sandberg, en 1967, describió síntomas de toxicidad por cianuro en un joyero que pulía oro 5 a 10 veces por día, exponiéndose a una solución pulidora de cianuro de potasio y peróxido de hidrógeno. Para preparar esta solución, la hervía, lo que liberaba vapor de HCN; por ello tuvo doble exposición: contacto con piel al pulir e inhalación de vapores de cianuro. Los síntomas descritos por Sandberg incluían cefalea, apatía, entumecimiento muscular, paresia de brazo y pierna izquierdos, pérdida parcial de visión en el ojo izquierdo y alteraciones del electrocardiograma¹⁸.

Como se menciona en el artículo “Efectos del cianuro en la salud humana y en el medio ambiente”, otros efectos adversos pueden ser mortalidad retardada, patologías, respiración entrecortada, alteraciones osmoregulatorias y alteraciones del crecimiento.

En concentraciones de 20 a 76 microgramos por litro, el cianuro es mortal para una gran cantidad de especies, y en concentraciones que superen los 200 microgramos por litro el efecto tóxico es rápido para la mayoría de las especies marinas. Los invertebrados experimentan efectos no letales adversos si son expuestos a concentraciones de entre 18 y 43 microgramos por litro de cianuro libre, y efectos letales entre 30 y 100 microgramos por litro.

4.7 Límites permisibles

La concentración de cianuro de hidrógeno en aire sin contaminación es menos de 0.2 partes de cianuro de hidrógeno por millón (ppm).

- ✓ Límite según el Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH), para exposición breve de cianuro de hidrógeno el límite máximo permisible es 4.7 ppm ó 5 mg/m³, promediado durante un período de 15 minutos. También hay un límite máximo de 4.7 ppm ó 5 mg/m³ para exposición durante 10 minutos a la mayoría de las sales de cianuro.

¹⁸ Sandberg CG. A case of chronic poisoning with potassium cyanide. Act Med Scand. 1967;181:233-6.

- ✓ La Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA siglas en inglés) establece un límite de exposición para el cianuro de hidrógeno (HCN) y para la mayoría de las sales de cianuro de 10 ppm u 11 mg/m³ durante una jornada de 8 horas diarias (40 horas semanales).
- ✓ La OMS (Organización Mundial de la Salud) considera que puede haber presencia de cianuro en algunos alimentos, particularmente en algunos países en desarrollo, y en ocasiones en el agua de consumo, principalmente por contaminación industrial. Es por ello que ha establecido un valor referencial en 0,07 mg/l.
- ✓ La Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE. UU. (EPA): regula los niveles permitidos de cianuro en el agua potable por medio de sales de potasio. El nivel máximo de cianuro permitido en el agua potable es 0.2 ppm ó µg/L.
- ✓ En el Ecuador, según el Texto Unificado de Legislación Ambiental (TULAS), el límite máximo permitido de cianuro en el agua es de 0. 1 mg/l.

4.8 La Toxicidad del Cianuro sobre los Ecosistemas

El cianuro y sus diferentes compuestos al entrar al medio ambiente generan comportamientos distintos:

- ✓ En el aire, el cianuro se encuentra principalmente como cianuro de hidrógeno (HCN) gaseoso mientras que una pequeña cantidad se encuentra como finas partículas de polvo. El cianuro presente en el agua formará ácido cianhídrico y se evaporará.
- ✓ La vida media del cianuro de hidrógeno en la atmósfera oscila de 1 a 3 años.
- ✓ El cianuro en el agua no se acumula en el cuerpo de peces.

- ✓ Los compuestos de cianuro se mueven con bastante facilidad en el suelo. Una parte puede transformarse en ácido cianhídrico y otra puede convertirse en otras sustancias químicas por la acción de microorganismos presentes en el suelo que tienen como fuente de alimento el carbono y nitrógeno; sin embargo a concentraciones altas, el cianuro es tóxico a estos microorganismos por lo que permanece sin ser cambiado a otras formas y atraviesa el suelo llegando así hasta el agua subterránea.

Ilustración 11.- Contaminación de fuentes hídricas en Zhumiral - Cantón Ponce
Enríquez



Fuente: Las Autoras

4.8.1 Los impactos en el agua, suelo y aire

Las fuentes más relevantes de contaminación ambiental, según la EPA, (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos) incluyen los siguientes sitios:

1. Tajos y galerías.
2. Pilas de lixiviación
3. Escombros
4. Colas

4.8.2 Aguas superficiales y subterráneas

Las minas de extracción generan efectos tanto físicos como químicos; entre los cuales se destacan los escombros producto de la explotación de roca, zonas deforestadas (incrementan los sedimentos y sólidos en las masas de aguas superficiales), la generación de drenajes ácidos y desechos se pueden liberar a las aguas superficiales y subterráneas reactivos químicos, como el cianuro de sodio y otras sales tóxicas para las diversas formas de vida.

Drenajes ácidos: son ácidos producto de la oxidación de los sulfuros presentes en los minerales por la acción del agua y del aire. Es un proceso natural pero que es agudizado por las enormes cantidades de roca que se procesan en las minas. Es así que se diferencian dos tipos de drenajes:

DAR : Drenaje ácido de las rocas

DAM : Drenaje ácido de las minas

Si la exposición de la roca es cada vez mayor, el potencial para la producción de ácido con la liberación consecuente de otros elementos como metales pesados se incrementa. Además de ello ciertos microorganismos cumplen un papel importante en este proceso ya que el nivel de acidez es influenciado por la ausencia o presencia de bacterias como *Thiobacillus ferrooxidans*.

- ✓ **Derrames de cianuro durante la operación:** este tipo de incidente puede ocurrir durante el transporte o en las instalaciones de la mina por factores climáticos, movimiento de suelos o fallas en los equipos.
- ✓ **Liberación de sustancias tóxicas luego del cierre:** ciertos compuestos resultado de la descomposición del cianuro, da lugar a la formación de cianatos y tiocianatos, metales pesados y sulfuros comunes en minas que han sido cerradas.

En un informe de la EPA del año 1998 se estudian 66 casos de daños provocados por la minería a gran escala. Los casos ilustran el daño significativo a la salud humana y medio ambiente provocado por el residuo de la minería y el procesamiento de los minerales, principalmente por la disposición de éstos en el terreno.

4.8.3 Suelo

Los efectos ambientales asociados con el suelo son:

- Erosión y Sedimentación provocadas por la remoción de la cobertura vegetal y actividades de molienda y remoción.
- Contaminación causada particularmente por derrames de productos asociados con los equipos (hidrocarburos, productos de perforación, cianuro de sodio).

4.8.4 Aire

La fuga de polvos desde los tajos y embalses es la fuente primaria de contaminación con metales pesados y desde los diques de cola el escape de cianuro de hidrógeno (gas).

Se estima que aproximadamente 20,000 toneladas de HCN se evaporan anualmente de esta fuente, y considerando su elevada vida media puede acumularse en la atmósfera.

5.- TÉCNICAS DE REDUCCIÓN DE CIANURO

Uno de los principales problemas que enfrenta el sector industrial en la extracción de metales preciosos como el oro, la plata y la producción metalúrgica, son las altas concentraciones de cianuro (cianuro libre, complejos débiles y fuertes de cianuro y tiocianato) empleado en sus procesos y que forma parte de los efluentes que son desechados al ambiente sin haberse realizado un tratamiento adecuado.

Se encuentran cuatro formas generales en el tratamiento para la atenuación¹⁹ del cianuro:

- ✓ Degradación natural
- ✓ Oxidación química
- ✓ Precipitación
- ✓ Biodegradación

5.1 Degradación Natural

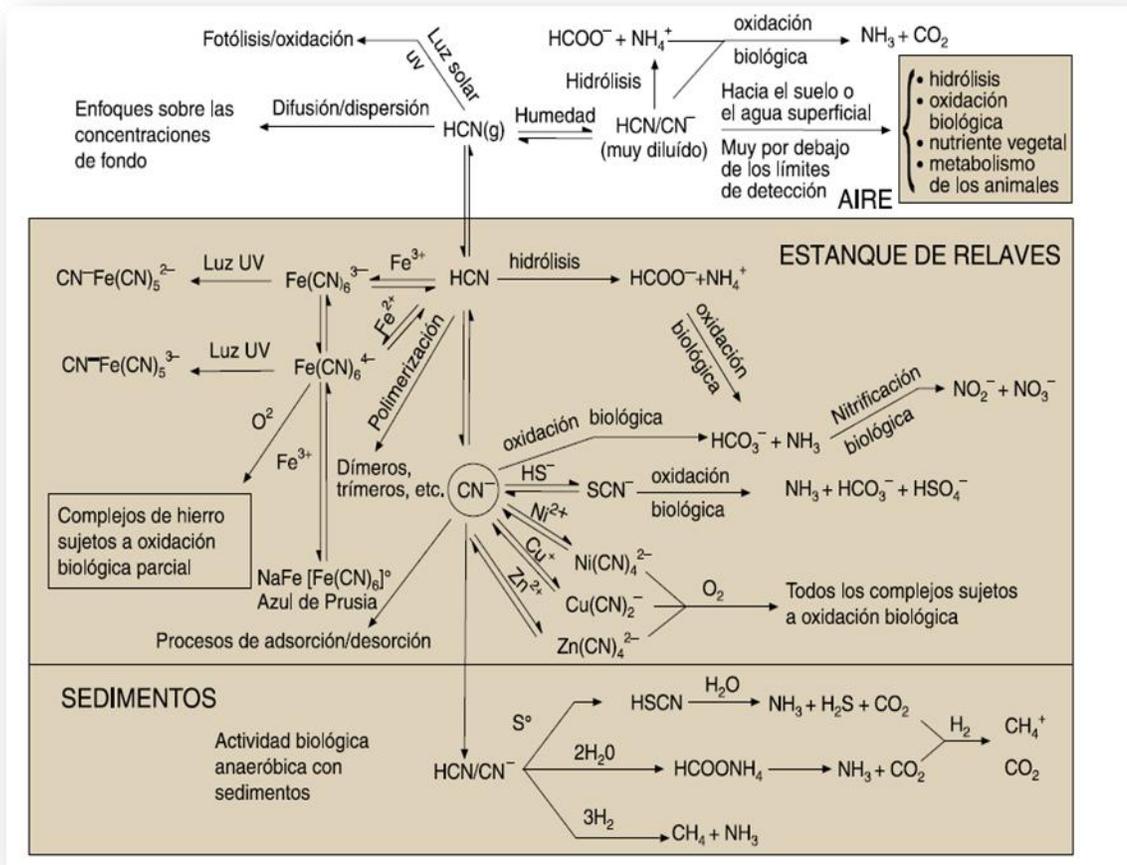
Uno de los principales mecanismos de degradación del cianuro se basa en los efectos generados por la luz solar, acompañado de otros factores importantes como la oxidación biológica y la precipitación. El principal mecanismo es la volatilización con posteriores transformaciones atmosféricas a sustancias químicas menos tóxicas.

Este proceso es llevado a cabo en las empresas de extracción de metales mediante la instalación de relaveras, balsas o pozas de tratamiento, en donde las especies de cianuro pueden ser adsorbidas sobre las superficies de los minerales o del desecho de carbono orgánico en los suelos del terraplén del estanque. Sin embargo, existe un riesgo medioambiental latente por eventos como filtraciones o roturas que pueden producir una catástrofe; por este motivo, en la actualidad se pretende que la reducción del contenido en cianuros de los efluentes del proceso sea antes del ingreso a las balsas. En este tipo de tratamientos para la reducción del cianuro las velocidades reales de degradación deben determinarse mediante ensayos basados en la especificidad del emplazamiento y empleando condiciones que imiten, tanto como sea posible, los tipos de soluciones y los procesos naturales que probablemente ocurran en ese lugar.

El proceso de degradación natural se fundamenta en el ciclo del cianuro con respecto a las condiciones medioambientales.

¹⁹ Se denomina atenuación al proceso que disminuye la concentración de cianuro en solución, ya sea en el ambiente natural o en instalaciones creadas para ese fin.

Ilustración 12: Ciclo del cianuro y su comportamiento en relaves



FUENTE: Smith y Mudder, 1991. Consejo Internacional de Metales y Medio Ambiente (ICME)

5.2 Oxidación Química

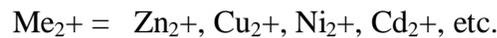
El tratamiento químico del cianuro incluye procesos como: SO₂/Aire (desarrollado por dos compañías mineras canadienses, INCO y NORANDA) y el proceso de tratamiento con H₂O₂ (peróxido de hidrogeno) iniciado por DEGUSSA.

5.2.1 Proceso con SO₂/ Aire

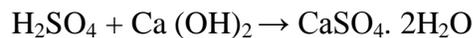
En el proceso con SO₂/Aire, el cianuro libre y el cianuro DAD se oxidan y el cianuro de hierro se precipita como un sólido insoluble. El proceso puede aplicarse a soluciones o lodos y la reacción es rápida. Las posibles limitaciones son la necesidad de obtener una licencia para utilizar el proceso, el costo de construcción de una planta procesadora, la necesidad de realizar ensayos empíricos para optimizar el sistema y la incapacidad del proceso para oxidar subproductos intermedios del cianuro.

Las ecuaciones básicas de este proceso se pueden resumir en las siguientes:

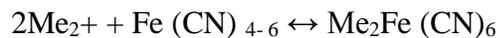
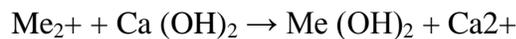
✓ Oxidación



✓ Neutralización



✓ Precipitación



5.2.2 Proceso con peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

El peróxido de hidrógeno es un potente oxidante, oxida el cianuro libre y el cianuro DAD y los convierte en amonio y carbonato. Los cianuros de hierro no se oxidan mediante el peróxido, pero precipitan como sólidos insolubles y estables. Algunas veces es necesario añadir sustancias químicas para controlar la concentración de cobre en las

soluciones con el fin de cumplir con las normas ambientales. El sistema con peróxido no se adapta bien al tratamiento de lodos debido a los irregulares requerimientos de peróxido de hidrógeno cuando hay sólidos presentes.

Ambos métodos de oxidación química son capaces de producir concentraciones residuales de cianuro que pueden satisfacer exigentes normas de descarga. Ambos procesos exigen la realización de pruebas en muestras representativas de materiales específicos al sitio antes del diseño final de la planta.

El ácido de Caro, que combina ácido sulfúrico con peróxido de hidrógeno para formar H_2SO_5 , también se emplea como agente oxidante para descomponer el cianuro en solución.

5.3 Precipitación

La finalidad de este tratamiento es reducir la concentración de cianuro libre a través del agregado deliberado de complejantes como el hierro. Los cianuros de hierro generados como producto de la reacción pueden reaccionar con otras sustancias químicas en solución y producir precipitados sólidos que pueden contener varias sustancias insolubles del cianuro. Es así que parte del cianuro de las soluciones de los procesos reaccionará con otros componentes químicos que se encuentren dentro del sistema y formarán concentraciones mucho menos tóxicas de compuestos tales como el amoníaco, el nitrato y el dióxido de carbono.

5.4 Biodegradación

La degradación biológica del cianuro es una opción aplicable a aguas residuales provenientes de procedimientos industriales.

Los métodos biológicos se constituyen en una alternativa eficaz por ser específicos; es decir, se aplican directamente en los focos a los que se pretende tratar, y una vez estandarizados resultan económicos con respecto a los procesos químicos.

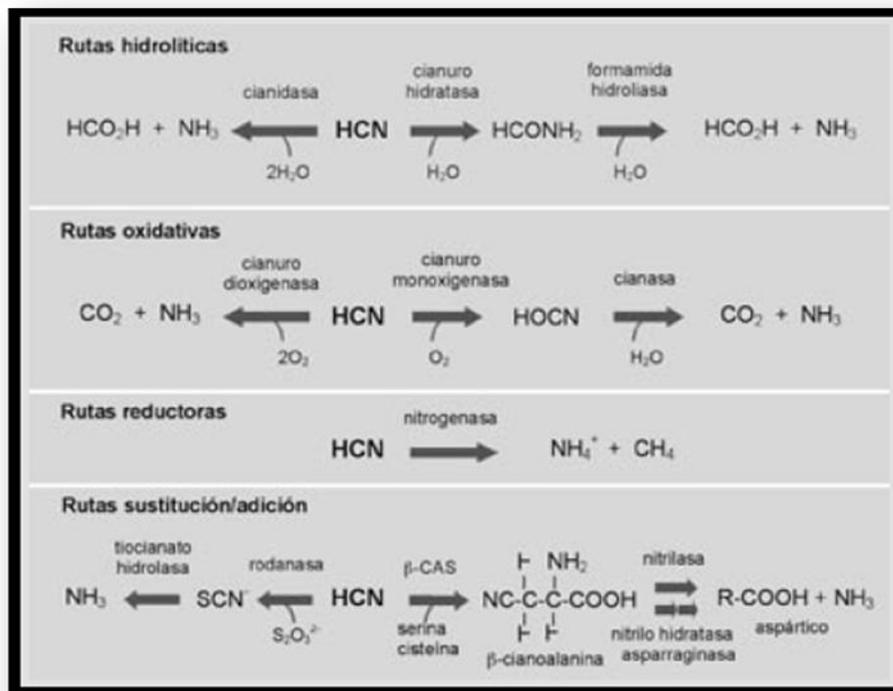
La biodegradación del cianuro, genera una ventaja adicional como el diseño simple, además que la disposición o el uso de la biomasa celular resultante después del tratamiento biológico puede ser reciclado en calidad de lodo biológico.

Una publicación de la Universidad de Catalunya acerca de la Evaluación Tecnológica de la Aplicación de Reactores Biológicos de Membranas en Procesos de Tratamiento de Aguas Residuales, considera al diseño de reactores aireados como una alternativa de tratamiento de lodos biológicos; en donde, el ambiente aerobio requerido se obtiene con el uso de difusores o aireadores mecánicos, que también sirven para mantener el líquido mezclado completamente. Al cabo de un tiempo determinado, la mezcla de células se conducen a un tanque de sedimentación (decantador secundario) para su separación del agua residual tratada. Una parte de las células sedimentadas se recircula para mantener en el reactor la concentración de células deseada, mientras que la otra parte se purga en el sistema. El fango de purga es llevado a un digestor de concentración mínima de oxígeno para así favorecer a la producción de microorganismos anaerobios encargados de generar biocombustibles aprovechables en calderas y calefacción principalmente.

En los procesos biológicos de descomposición de cianuro, se han descrito principalmente tres reacciones enzimáticas en el metabolismo de este compuesto.

- 1. Substitución/Transferencia.-** Rhodanasa, descrita para *Thiobacillus denitrificans*, *Bacillus subtilis*, *bacillus stearothermophilus*. Cianoalanina sintasa, descrita para *Bacillus megaterium*.
- 2. Hidrolíticas.-** nitrilo hidratasa, descrita para *Pseudomonas sp.* *Corynebacterium*, *Brevibacterium* y la nitrilasa descrita para *Pseudomonas aeruginosa*.
- 3. Oxidativas.-** cianuro mono – oxigenasa, descrita para *Pseudomonas sp.* y cianuro dioxigenasa, descrita para *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus Pumillus*.

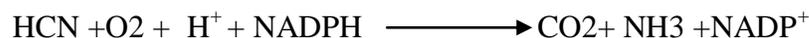
Ilustración 13: Procesos Biológicos de degradación de Cianuro



FUENTE: www.cyanidecode.org

En las reacciones oxidativas, vale recalcar el trabajo desempeñado por las bacterias del género *Pseudomonas* que intervienen en el metabolismo del cianuro, tales como: la fumarasa, la aconitasa y la malalo quinona oxidoreductasa (F. Merchán et al.- 2008); también Atsushi en 1988 reporta enzimas como cianuro nitrilasas y cianuro oxigenasas como la base de biodegradación de cianuro por parte de este género.

Pseudomonas fluorescens, *Bacillus cereus* y *Bacillus pumillus* producen reacciones enzimáticas oxidativas de cianuro dioxigenasa descrita a continuación:



(Ebbs, 2004; M.J. Huertas et al., 2006)

En la biodegradación de cianuro, este compuesto supone tanto una fuente de carbono como de nitrógeno, aunque en la mayoría de los casos es empleado como fuente de nitrógeno. A pesar de la variedad de rutas degradativas todas dan como producto final al amonio (compuesto nitrogenado fácilmente asimilable por microorganismos) en el proceso de conversión.

Pseudomonas sp. Son organismos heterótrofos que utilizan parte de las sustancias metabolizadas ya sean orgánicas o inorgánicas, para obtener energía, que luego necesitarán para convertir la otra parte de materia orgánica en células.

Los procesos de síntesis se dan gracias a los donantes de electrones que son necesarios para obtener energía. En el momento de diseñar un sistema biológico para tratar efluentes contaminados, se debe tener en cuenta las reacciones generadas en el proceso de oxidación tanto de las sustancias orgánicas como de las inorgánicas por parte del microorganismo con el fin de obtener energía para su desarrollo, lo que hace importante que parte de los donantes de electrones se convierten en energía para determinar la cantidad de oxígeno, nitratos requeridos y producidos, que en parte se convierten en células microbianas, asegurando de esta manera la disponibilidad de nutrientes como nitrógeno y carbono para los microorganismos dentro del sistema. (Sawyer et al.,2001)²⁰.

²⁰ HERNÁNDEZ, Lina Marcela, Evaluación de la capacidad de Aislado Bacteriano de *Pseudomonas sp.* como potencial degradador de compuestos cianurados, Colombia 2010, <http://www.bdigital.unal.edu.co/1849/1/43801720.2010.pdf>

6.- BIORREMEDIACIÓN DEL CIANURO

6.1 Empleo de microorganismos en procesos de degradación biológica

Durante los últimos años, los altos índices de contaminación en agua y suelo han llevado a los científicos a realizar intensas investigaciones para encontrar nuevas formas de recuperar los ecosistemas degradados, es así como desde la década de los ochenta, año en que fue acuñado el término biorremediación, se comenzó aplicar estrategias de remediación biológica, basadas en la capacidad de los microorganismos de degradar en forma natural ciertos compuestos contaminantes.

“En el proceso de biorremediación de cianuro se aprovecha de la capacidad de ciertos grupos de microorganismos de utilizar compuestos cianurados como fuente de carbono y/o nitrógeno convirtiendo el compuesto tóxico en sustancias inocuas”²¹.

“El primer tratamiento biológico de eliminación de cianuro a escala industrial se llevó a cabo hace 20 años en Estados Unidos, en la mina Homestake. [...] desarrollado por Mudder y Whitlock en 1984”²². A partir de éste año, los procesos de degradación biológica son considerados una alternativa económica y efectiva.

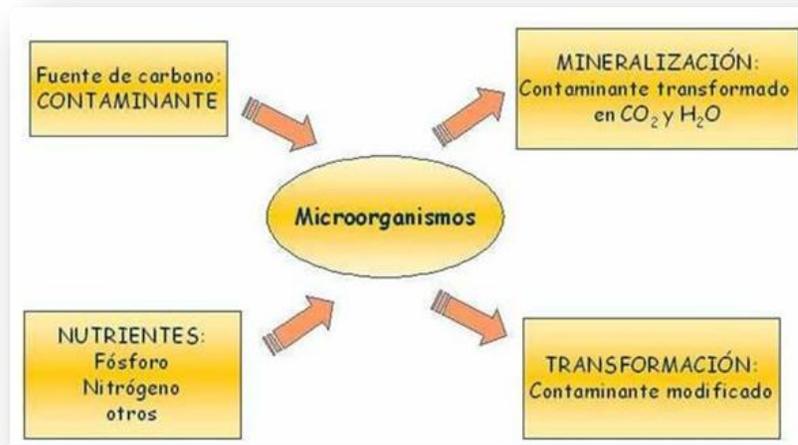
Entre sus ventajas está su diseño simple y la facilidad de controlar el proceso operativo, la capacidad para tratar todas las formas de cianuro, el amplio rango de microorganismos que pueden metabolizar el contaminante, la facilidad de trabajar a través de cultivos puros o en ciertas ocasiones de forma mixta, ya que actúan de manera comensal y por último sus procesos no provocan daños, puesto que no se añaden sustancias químicas en el medio. Las posibles limitaciones son su reducido rendimiento con temperaturas frías y con concentraciones muy altas de cianuro.

²¹ Guerrero, José, Biotecnología, Cianuro: toxicidad y destrucción biológica, 2002, p. 24.

²² Luque, Víctor Manuel, Metabolismo del cianuro y del cianato en *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, Aplicaciones biotecnológicas, 2005, p. 50.

Las bacterias, hongos y virus empleados en procesos de biorremediación ingieren contaminantes como fuente de carbono y algunos nutrientes como fósforo y nitrógeno y al ser metabolizados son degradados de manera parcial o total como se muestra a continuación:

Ilustración 14: Metabolismo microbiano



Fuente: Programa Educativo por qué biotecnología, Biorremediación: organismos que limpian el ambiente, 2006.

En los procesos de biorremediación los microorganismos más utilizados son las bacterias, ya que se las considera como “los seres vivos con mayor capacidad metabólica del planeta, que pueden degradar prácticamente cualquier sustancia orgánica”²³, además que tienen la capacidad de adaptarse a ambientes aeróbicos y anaeróbicos. Algunas ventajas de estos tratamientos son:

²³ Wikispaces, Biorremediación, 2009, <http://despertandoconcienciaplanetaria.wikispaces.com/Biorremediaci%C3%B3n>

- ✓ La destrucción de todas las formas de cianuro.
- ✓ No se da inhibición en la degradación por la presencia de metales pesados.

Algunos hongos y algas también han demostrado la habilidad de emplear cianuro como nutriente para su crecimiento, dando buenos resultados en investigaciones realizadas.

En la siguiente ilustración se presentan algunos de los microorganismos empleados en procesos de degradación de cianuro:

Ilustración 15: Organismos cianogénicos

Bacterias	Chromobacterium violaceum
	Pseudomonas aeruginosa
	Pseudomonas chloraphilis
	Pseudomonas fluorescens
Algas	Chlorella vulgaris
	Nostoc muscorum
	Plectonema boryarum
	Anacystis nidulans
Hongos	Marasmius oreades
	Stemphyllium loti
	Gloeocercospora sorghii

Fuente: Metabolismo del cianuro y del cianato en *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, Aplicaciones biotecnológicas, 2005

6.2 Bacterias Degradadoras de Cianuro

“Los microorganismos involucrados poseen varios sistemas enzimáticos específicos que les permite desarrollar en ambientes con alta concentración de cianuro” ²⁴, de ésta

²⁴Guerrero, José, Cianuro: Toxicidad y destrucción biológica, <http://www.slideshare.net/bioperujgr/cianuro-toxicidad-y-destruccion-biologica>.

degradación resulta la formación de amonio. Tales enzimas incluyen L-3 cianoalaninasintetasa, formamida hidrolasa, cianasa, cianohidrolasa y oxigenasas²⁵.

Las principales bacterias a las cuales se considera degradadoras del cianuro podemos mencionar a la *E. coli*, *Pseudomonas Fluorescens*, *Thiobacillus Citrobacter*, *Bacillus Subtilis*, *Pichiaohmeri*, *Exophialas sp*, *Candidas sp*, *Staphilococcus sp*. Las características principales de estas bacterias es que en su mayoría son unicelulares y más pequeñas que los hongos, redondas o bacilares, motiles, etc. Según resultados de algunas investigaciones, los microorganismos aerobios presentan un porcentaje mayor de remoción. A continuación presentamos las bacterias empleadas en investigaciones y los compuestos que han degradado:

Ilustración 16.- Vías de degradación del cianuro

Compuesto degradado	Micro-organismo involucrado	Reacción
HCN via HNCO	<i>P. fluorescens</i>	$NADH+H^++HCN+O_2 \rightarrow HNCO+H_2O+NAD^+$ $HCNO+H_2O \rightarrow CO_2+NH_3$
HCN	<i>Stemphylium loti</i>	$HCN + H_2O \rightarrow HCONH_2$
HCN	<i>Alcaligenes xylosoxidans</i> subsp. <i>Denitrificans</i>	No precisado en la literatura
NaCN	<i>P. putida</i>	No precisado en la literatura
KCN	<i>Pseudomonas stutzeri</i> Ak61	No precisado en la literatura
KCN	<i>Bacillus pumilus</i> C1	No precisado en la literatura
Cianuros Orgánicos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	No precisado en la literatura
HCN	Cultivos mixtos - no se ha determinado un microorganismo anaerobio específico	$HCN+2H_2O \rightarrow HCOO^-+NH_4^+$ En condiciones metanogénicas

Fuente: Guerrero, José, Cianuro: Toxicidad y destrucción biológica, <http://www.slideshare.net/bioperujgr/cianuro-toxicidad-y-destruccion-biologica>.

²⁵ Knowles, 1976; Fry and Myers, 1981; Gastric, 1981; Padmaja and Balagopal, 1985; Ingvorsenet al., 1991; Basheeret al., 1992

También existen microorganismos con una menor velocidad de degradación como es la *Rodhotorula mucilaginosa*. Esta menor capacidad de degradación siempre va a depender de factores como la aclimatación progresiva del microorganismo a los niveles de concentración del cianuro, del pH, humedad, tipo de nutrientes y temperatura, factores que son determinantes en toda actividad metabólica bacteriana. Por ejemplo las *Pseudomonas*, bajo condiciones alcalinas, utilizan el cianuro y lo transforman principalmente en amonio.

Pseudomonas Fluorescens se destaca dentro de todas las bacterias degradadoras de cianuro, ya que resiste a condiciones desfavorables y se acopla fácilmente a los diferentes factores del medio en lo que se refiere a la degradación del cianuro.

Existen diversos mecanismos para hacer menos compleja a esta molécula de cianuro. “Uno de los mecanismos involucra la enzima cianuro hidratasa, que resulta en la conversión irreversible del cianuro en formamida, que finalmente es transformada en CO₂ y en el grupo NH₂.

El cianuro también puede ser convertido en cianoalanina o en un aminonitrilo por la enzima cianoalaninasintetasa, seguida de la hidrólisis de los productos para liberar un ácido y amoníaco (NH₃.)

Una tercera ruta involucra la utilización del cianuro monoxigenasa para catalizar la conversión de HCN en cianato (HOCN), lo que lleva a una descomposición catalítica mediada por otra enzima, cianasa, para producir CO₂ y NH₃. La cianasa es inducible con el cianato mientras que la enzima cianuro monoxigenasa no lo es. Algunas cepas bacterianas transforman directamente cianuro en CO₂ y NH₃ por medio de la cianuro dioxigenasa, sin la formación de cianato como intermediario.”²⁶

²⁶Guerrero, José, Op. Cit. p. 24

6.3 Pseudomonas

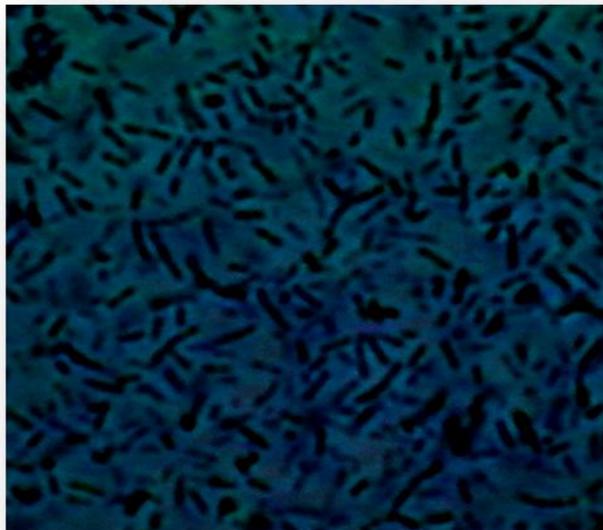
6.3.1 Antecedentes

Pseudomona significa “unidad falsa”, derivado de griego *pseudo* (ψευδο “falso”) y *monas* (μονάς/μονάδα “una sola unidad”). El término “mónada” fue utilizado en la historia temprana de la microbiología para denotar solos-celled organismos.

Estas bacterias se encontraban en el agua, razón por la que fueron observados tempranamente en la historia de la microbiología. El nombre *Pseudomonas* fue definido en 1894 como género de Gram-negativo.

Las *Pseudomonas* fueron aisladas de muchos lugares naturales y una gran cantidad de nombres de la especie fueron asignados originalmente al género.

Ilustración 17: *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838.



Fuente: Las Autoras

6.3.2 *Pseudomonas* como agentes de control ambiental y de biorremediación

La importancia de *Pseudomonas* se inició cuando se comprobó su *capacidad de inhibir los coliformes*, siendo los indicadores de contaminación de agua más usados en el mundo, se corre un gran riesgo de consumir agua con índice de coliformes cero los cuales podrían estar inhibidos por *Pseudomonas*.

Estudios efectuados por Roberts, NC y colaboradores en 1982 determinaron que especies del género *Pseudomonas* producen una sustancia denominada "Pseudocin" (PLS) que inhibe el crecimiento de *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* y *Klebsiella sp.* por lo que se considera que aún cuando las aguas tratadas muestren estar libres de coliformes no se puede asegurar su potabilidad (ONTIVEROS, 1983)²⁷.

En Canadá, bacteriólogos que tradicionalmente utilizaban coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales como indicadores bacteriológicos de calidad del agua, descubrieron que otros microorganismos tales como *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* sirven como indicadores de la calidad microbiana del agua (DUTKA, 1978).²⁸

Algunos miembros del género *Pseudomonas* pueden metabolizar agentes contaminantes químicos en el ambiente, y consecuentemente pueden ser utilizados para procesos de biorremediación. Es así que estudios realizados determinan las siguientes especies idóneas para la degradación biológica de ciertos compuestos.

- ✓ *P. alcaligenes*, que puede degradar hidrocarburos aromáticos policíclicos.
- ✓ *P. mendocina*, degrada tolueno.
- ✓ *P. pseudoalcaligenes* puede utilizar cianuro como fuente de nitrógeno.

²⁷PAJARES Marchand, ORLANDO Edgard, *Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima, Perú* 2002, http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2002/marchand_pe/pdf/marchand_pe-TH.2.pdf

²⁸ Idem. P. 4

- ✓ *P. resinovorans*, degrada carbazol (compuesto orgánico heterocíclico empleado en tratamiento de enfermedades microbianas y fúngicas).
- ✓ *P. veroniise* ha demostrado que puede degradar una variedad de compuestos aromáticos simples
- ✓ *P. putida* tiene la capacidad de degradar solventes orgánicos como por ejemplo el tolueno. Esta bacteria puede tetracloruro de carbono.

Según Golovleva et al. (1990)²⁹, las *Pseudomonas* son las bacterias más eficientes en la degradación de compuestos tóxicos. La degradación de estas bacterias depende de las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo, del tiempo de contacto con el contaminante y de su versatilidad fisiológica.

De igual forma las bacterias del género *Pseudomonas sp*, demostraron la eficiencia biodegradadora en los hidrocarburos como el 3-Phenoxybenzoido en suelos. Esta investigación se hizo con el empleo de dos clases de *Pseudomonas* manipuladas genéticamente que se caracterizan por sobrevivir a factores ambientales adversos, obteniéndose resultados alentadores en la biorremediación de suelos in situ con las condiciones ambientales desfavorables para el crecimiento bacteriano.

Una publicación del 20 de julio del 2009 la UCO (Grupo de Metabolismo Microbiano del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Córdoba), publica el diseño de un reactor biológico que elimina el cianuro a partir de la bacteria *Pseudomonas pseudoalcaligenes CECT 5344* que ha aislado una estirpe mutante de la bacteria mencionada que soporta concentraciones de cianuro cinco veces superiores a las que resiste la estirpe silvestre, que puede combatir unos 0,2 gramos de cianuro por cada litro de desecho. Su trabajo ha sido calificado como "Proyecto de Excelencia" por la Consejería de Innovación de la Junta y además recibe el apoyo de la empresa cordobesa Gemasur, que trata los residuos de joyería y se ha encargado de suministrarlos a los científicos.

²⁹ TORRES, Duilio, *El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos*, Alicante – España, 2003. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/540/54012219.pdf>

6.3.3 Características Generales del género *Pseudomonas*

Las bacterias del género *Pseudomonas* son bacilos Gram negativos no esporulados que presentan flagelación polar, son móviles excepto la especie *Burkholderiamallei* que son bacterias aeróbicas, quimio-organótrofas y proteobacterias.

Los géneros clave de este grupo son:

- ✓ *Pseudomonas*
- ✓ *Commamonas*
- ✓ *Burkholderia*
- ✓ *Xanthomonas*

En pruebas bioquímicas presentan oxidasa y catalasa positivos, usualmente son oxidadores de carbohidratos. No fermentan glucosa y utilizan diversos azúcares con producción de ácido.

Tienen metabolismo respiratorio no fermentativo, además que son excelentes degradadores de compuestos.

El hábitat en el cual se desarrollan en el medio ambiente es en el agua y suelo; aunque, pueden ser patógenos oportunistas en el hombre y animales (*Pseudomonas aeruginosa*) y patógenos de plantas (*Pseudomonas syringae*). Se encuentran en aguas, materia orgánica en descomposición, piel y mucosas.

Pueden desarrollarse a 42°C, producen varias enzimas como proteasas, lipasas, lecitinasas y tienen resistencia a la mayoría de antibióticos por lo que son de gran interés ambiental.

6.3.4 Taxonomía

Con el avance de la bioquímica y la genética, análisis recientes de las secuencias del RNAr 16S han definido la taxonomía de muchas especies bacterianas y como resultado, el género *Pseudomonas* incluyen algunas cepas clasificadas anteriormente dentro de las *Chryseomonas* y *Flavimonas*. Otras cepas clasificadas previamente en el género *Pseudomonas*, ahora son agrupadas en los géneros *Burkholderia* y *Ralstonia*.

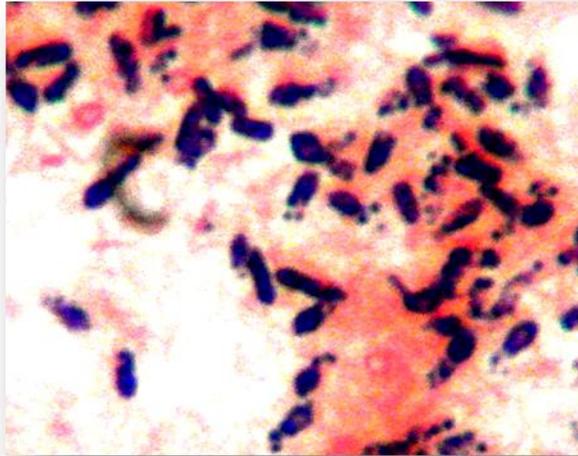
En el año 2000, se determinó el genoma completo de una especie de *Pseudomonas* y más recientemente se han determinado las secuencias de otras especies, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa* cepa PAO1 (2000), *Pseudomonas. putida* KT2440 (2002), *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 (2005), *Pseudomonas syringaepathovartomato* DC3000 (2003), *Pseudomonas syringaepathovarsyringae* B728a (2005), *Pseudomonas syringaepathovarphaseolica* 1448A (2005), *Pseudomonas fluorescens* PfO-1 y *Pseudomonas entomophila* L48.³⁰

El género demuestra una gran diversidad metabólica, y consecuentemente son capaces de colonizar un amplio rango de nichos. Son de fácil cultivo in vitro y ampliamente están disponibles en número, por lo que ciertas cepas son empleadas en investigaciones científicas, como por ejemplo, *P. aeruginosa* y su rol como patógeno oportunista de humanos, el patógeno de plantas *P. syringae*, la bacteria de tierra *P. putida* y la *P. fluorescens* que promueve el crecimiento de plantas y la biodegradación de cianuro en las minas de extracción aurífera.

30 CORNELIS P (editor). (2008). *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*, 1st ed. edición, Caister Academic Press.

6.3.5 Morfología y Estructura

Ilustración 18.- *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838 observada al microscopio



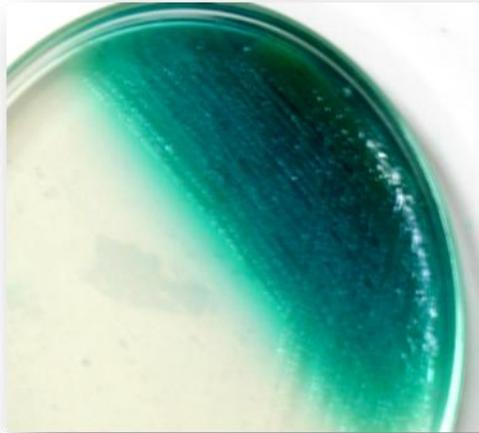
Fuente: Las Autoras

Las *Pseudomonas* se presentan como bacilos Gram negativos rectos o ligeramente curvos. Su tamaño oscila entre 1 y 5 μm de largo y 0.5 a 1 μm de ancho. Son aerobios, aunque algunas cepas pueden crecer bajo condiciones anaeróbicas usando el nitrato como aceptor final de electrones. No forman esporas son móviles con uno o más flagelos polares a excepción de *B. mallei*, el cual no es móvil.

6.3.6 Reproducción

Las bacterias de este género se caracterizan por crecer en medios simples. En caldo crecen abundantemente formando un anillo y un sedimento de color verde azulado. En agar simple forman colonias brillantes, confluentes, de borde continuo y a veces ondulado con un centro opaco. El pigmento (piocianina) se difunde en el medio dándole una tonalidad verdosa.

Ilustración 19: *Pseudomonas* en prueba de piocianina



FUENTE: <http://www.scribd.com/doc/8614571/Manual-de-Medios-de-Cultivo>

6.3.7 Metabolismo

Al tratarse de microorganismos aerobios, usan oxígeno como aceptor de electrones, sin embargo existen unos pocos que no lo usan. Presentan una versatilidad metabólica muy grande que les permite utilizar como fuente de carbono substratos muy variados (hay especies, como *Pseudomonas cepacia*, que pueden utilizar como nutrientes más de 100 compuestos químicos diferentes. Por otra parte, hay algunas especies quimiolitótrofas usando H₂ o CO como donadores de electrones.

6.3.8 Patogenicidad

De las numerosas especies de *Pseudomonas*, sólo unas pocas tienen importancia en patología humana. *Pseudomonas mallei* P., *pseudomallei* causan enfermedad severa en el hombre pero se aíslan raramente en el Hemisferio Occidental.

Por otra parte *P. cepacia* es un oportunista poco frecuentemente asociado con enfermedades en el hombre.

La especie *Pseudomonas aeruginosa*, es la más estudiada por su frecuencia en patología humana. Es muy versátil, ampliamente extendida en el suelo, agua, plantas e intestino de animales. Causa enfermedades en el hombre, ciertos animales, plantas e insectos. Puede sobrevivir y replicarse en medios húmedos de hospitales, incluso en aguas termales. La identificación de esta especie se lo hace por la producción de pyocyanina y produce un pigmento conocido como pyoverdina.

CAPÍTULO II

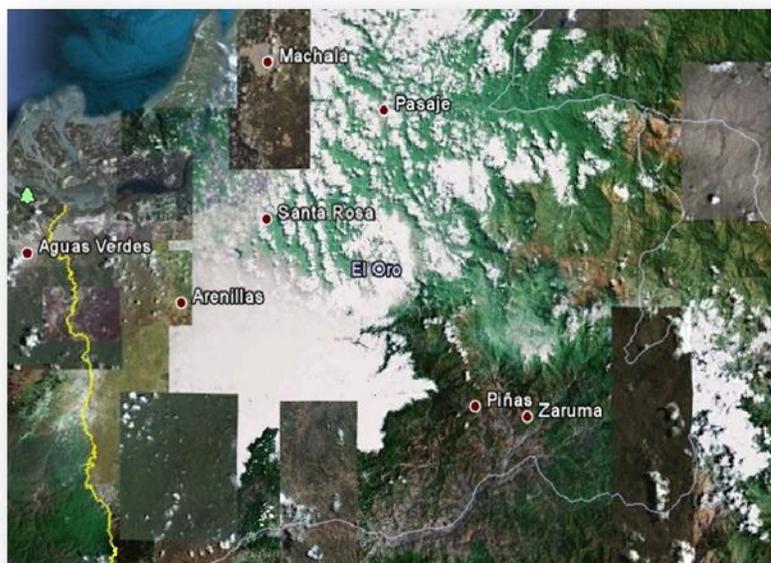
MATERIALES Y MÉTODOS

II.I MATERIAL BIOLÓGICO

✓ Toma de muestras en Zaruma

En el cantón Zaruma perteneciente a la provincia de El Oro, se procedió a tomar las muestras de agua, con la finalidad de conocer la concentración de cianuro proveniente de la actividad minera y de obtener los microorganismos nativos a ser aislados y aplicados en ensayos de biorremediación posteriores.

Ilustración 20: Localización del cantón Zaruma



FUENTE: Búsqueda en Google Earth, Las Autoras, Cantón Zaruma, 2010

La Empresa minera en la que se tomaron las muestras, cuenta con una planta de procesamiento de arenas para la obtención de oro, una relavera para reducir las

concentraciones de sales de cianuro por foto descomposición, una mini planta de tratamiento químico que emplea peróxido de hidrógeno y por último dos relaveras para tratamiento físico por membranas.

Ilustración 21: Procesamiento y fases de tratamiento de agua residual cianurada



FUENTE: Las Autoras, EMICOR, Zaruma, 2010

Las muestras tomadas fueron extraídas del tanque carbonero número 8, último en el procedimiento de extracción aurífera. Éste presenta una mezcla homogénea de arenas, agua y cianuro de sodio NaCN , se encuentra bajo cubierta en continua agitación a 80 revoluciones por minuto. Todos estos aspectos influyeron para considerar a esta etapa del proceso como punto de muestreo y principalmente porque no pueden reducirse las concentraciones de cianuro por incidencia de la luz solar ni por volatilización en forma de ácido cianhídrico debido a que el pH del agua en este caso es 10.

Ilustración 22: Punto de Muestreo



Fuente: Las autoras



FUENTE: Búsqueda en Google Earth, Las Autoras, Georeferenciación de muestreo, EMICOR-tanque carbonero # 8, 2010

Tabla 5: Coordenadas UTM y geográficas del punto de muestreo

COORDENADAS UTM		
Coordenadas	UTM (m)	Huso/Hemisferio
UTM Este X	651839	17
UTM Norte Y	9590062	S
COORDENADAS GEOGRÁFICAS		
Coordenadas	Grados ° Segundos''	Longitud / latitud
Longitud	79 °57,89"	W
Latitud	3 °27,81"	S

FUENTE: GPS, Las Autoras, EMICOR-tanque carbonero # 8, 2010

Se tomaron muestras simples en envases de vidrio color ámbar previamente esterilizados. Uno de ellos con agua y cianuro, (muestra “A”); la segunda una mezcla de agua, arenas y cianuro (muestra “B”) y la tercera pulpa (muestra “C”). Cada una de ellas fue etiquetada y mantenida en un cooler a bajas temperaturas. No se adicionó hidróxido de sodio a 0.1 N ya que el pH era muy alcalino evitando pérdidas de cianuro como HCN.

ILUSTRACIÓN 23: Muestras tomada para obtención de microorganismos nativos



FUENTE: Las Autoras

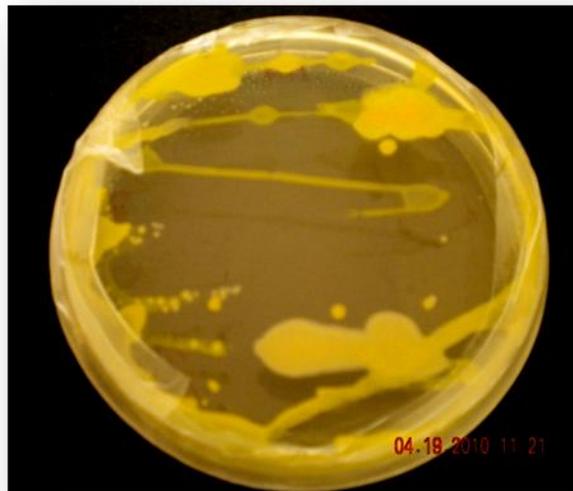
Al cabo de 24 horas las muestras se enviaron al laboratorio de analítica de la UTPL (Loja) para su análisis respectivo determinando así que la concentración media de cianuro fue de 121,62 ppm (Ver ANEXO II).

✓ **Aislamiento y Purificación de microorganismos nativos**

Se usaron los medios de cultivo Tryptic Soy Agar (TSA) y Agar Nutritivo MERCK, para aislar los microorganismos, considerando las exigencias nutricionales de cada microorganismo, particularmente de *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838.

La primera siembra de las muestras de agua se la realizó en cajas petri que fueron codificadas, posteriormente se insolaron los microorganismos en tubos de ensayo a pico de clarín. Cada cultivo de bacterias fue replicado con una frecuencia de 8 días, con la finalidad de conservar los mismos para procedimientos posteriores de caracterización y ensayos de biodegradación.

Ilustración 24: Siembra inicial de muestra de agua en TSA.



FUENTE: Las Autoras

Ilustración 25: Bacterias A74 y B31 aisladas en tubos pico de clarín



FUENTE: Las Autoras

✓ **Reactivación de *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838**

Para el efecto se adquirió un Duopack de la bacteria *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838, que consta de 2 hisopos los mismos que fueron reactivados como se muestra en la práctica. (VER ANEXO I).

Pseudomonas Fluorescens fue sembrada en forma de estría en 20 cajas petri con TSA a una temperatura ambiente de 22°C durante 42 horas, replicándose periódicamente ya que su periodo de desarrollo fluctúa de 3 a 5 días.

Ilustración 26: Proceso de reactivación *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838



FUENTE: Las Autoras

✓ **Caracterización de Microorganismos nativos**

Para realizar la caracterización de microorganismos se escogieron doce bacterias (VER ANEXO IV) que presentaban las mejores características de crecimiento y desarrollo en el terreno de cultivo utilizado (TSA).

La clasificación taxonómica se basa en las características físicas del género y para el efecto se prepararon placas con una tinción de azul de metileno, para ser analizadas al microscopio, se considera en este procedimiento tinción de Gram (VER ANEXO I).

Tabla 6: Listado de bacterias nativas identificadas por género

No.	CÓDIGO	GÉNERO
1	C33	<i>Streptococcus sp.</i>
2	C31	<i>cocuss sp.</i>
3	A71	<i>Bacillus sp.</i>
4	A75	<i>Diplococos sp.</i>
5	A74	<i>Bacillus sp.</i>
6	C73	<i>Streptococcus sp.</i>
7	C41	<i>cocuss sp.</i>
8	A42	<i>Streptococcus sp.</i>
9	A72	<i>Bacillus sp.</i>
10	B31	<i>Bacillus sp.</i>
11	A521	<i>Streptococcus sp.</i>
12	C311	<i>Clostridium sp</i>

Fuente: Las Autoras

✓ **Actividad biológica de bacterias nativas y *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838 frente a sales de cianuro.**

Para efectuar las pruebas de la actividad microbiológica frente a sales de Cianuro de sodio se sometieron a las bacterias nativas y *Pseudomonas Fluorescens* ATCC49838 a diferentes concentraciones de cianuro. Se procede de dos formas:

Cajas con medio TSA y disolución cianuro de sodio:

Se usaron 39 cajas petri (tres concentraciones diferentes por cada bacteria) con 12 ml. de TSA, luego se realizó la siembra de microorganismos, se rotularon y se procedió a inocular un mililitro de soluciones de cianuro preparadas: 500 ppm, 1000 ppm y 2000 ppm.

Ilustración 27: Actividad biológica de bacteria C33 con NaCN a 500ppm



FUENTE: Las Autoras

Cajas con TSA y cianuro:

En el terreno de cultivo se adicionó cianuro de sodio con una relación peso – volumen que dio lugar a diferentes concentraciones.

- ✓ 500 ppm: volumen de TSA es de 156ml y 0.078 gr. de NaCN.
- ✓ 1000 ppm: 156 ml de TSA y 0.156 gr. de NaCN.
- ✓ 2000 ppm: de 156 ml de TSA y 0.312 gr de NaCN.

Se utilizaron 13 cajas con cada solución. Se procedió a sembrar las bacterias en forma de zig – zag, teniendo en cuenta que a cada una de ellas le corresponde tres cajas con medio de cultivo a diferente concentración.

Ilustración 28: Actividad biológica de bacteria A74 concentración de NaCN 1000 ppm



Fuente: Las Autoras

A continuación se presentan los resultados de la actividad biológica frente a las sales de cianuro que conjuntamente con el conteo inicial en la cámara de Neubauer nos permitieron determinar cuáles eran las bacterias más adecuadas para los bioensayos.

Tabla 7: Parámetros de selección de bacterias para su aplicación en bioensayos

CÓDIGO	CRITERIOS DE SELECCIÓN				SELECCIÓN
	Actividad 1	Actividad 2	Actividad 3	Crecimiento bacteriano UFC/ML	
	500ppm *	1000ppm *	2000ppm *		
A521 <i>Streptococcus sp.</i>	4	3	4	9,15938E+12	NO
C73 <i>Streptococcus sp.</i>	4	3	4	1,63438E+13	NO
C31 <i>cocuss sp.</i>	1	2	1	1,51906E+13	NO
C41 <i>cocuss sp.</i>	1	4	1	1,35188E+13	NO
A71 <i>Bacillus sp.</i>	3	4	3	1,72E+13	NO
A72 <i>Bacillus sp.</i>	4	3	4	1,81438E+13	NO
B31 <i>Bacillus sp.</i>	4	1	4	6,575E+12	NO
C33 <i>Streptococcus sp.</i>	4	3	4	2,05438E+13	SI
A75 <i>Diplococos sp.</i>	1	4	1	2,95906E+13	NO
<i>P. Fluorescens</i>	4	4	4	1,18563E+13	SI
A74 <i>Bacillus sp.</i>	4	3	4	1,93063E+13	SI
C311 <i>Clostridium sp.</i>	1	2	1	1,72E+13	NO
A42 <i>Streptococcus sp.</i>	3	1	3	1,94125E+13	NO

4 =	excelente
3 =	bueno
2 =	regular

FUENTE: Las Autoras

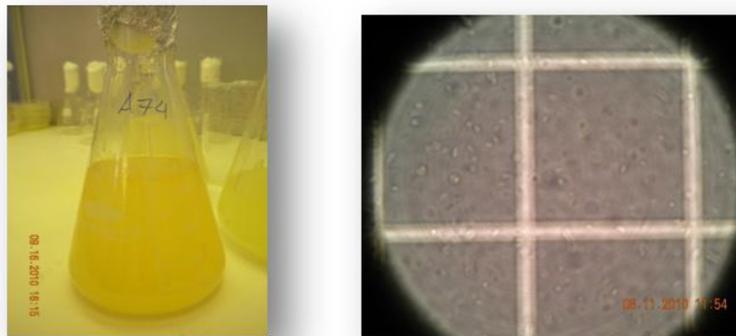
✓ **Establecimiento de la población inicial del inóculo**

La concentración inicial de microorganismos se determinó por conteo directo en la cámara de Neubauer, la misma que está diseñada para contener una cantidad fija de líquido permitiendo a la vez observar las diferentes morfologías de los microorganismos.

Aquí las células son contadas cuadro por cuadro, se hace un total para luego calcular el número de bacterias por unidad de volumen, para lo cual se siguió la marcha detallada en el ANEXO I, se tabularon los resultados, y se determinó que bacterias presentaban mayor crecimiento en medio TSA. (ANEXO III).

Es indispensable recalcar que previo al conteo en la cámara se hizo una dilución de 500 ml de volumen correspondiente a cada bacteria sembrada en medio solidificado en matraces de 250 ml. de capacidad. Estos se mantuvieron a temperatura ambiente (promedio 20⁰C) hasta que la superficie del medio esté totalmente cubierta por el microorganismo (7 días). Cada conteo en la cámara de Neubauer, se hizo con una réplica, según la normativa.

Ilustración 29: Crecimiento bacteriano por conteo directo en cámara de Neubauer



FUENTE: Las Autoras

Tabla 8: Concentración promedio de bacterias

CÓD. BACTERIA	CRECIMIENTO UFC
A75 <i>Diplococos sp.</i>	2,95906E+13
C33 <i>Streptococcus sp.</i>	2,05438E+13
A42 <i>Streptococcus sp.</i>	1,94125E+13
A74 <i>Bacillus sp.</i>	1,93063E+13
C72 <i>Bacillus sp.</i>	1,81438E+13
A71 <i>Bacillus sp.</i>	1,72E+13
C311 <i>Clostridium sp.</i>	1,72E+13
C73 <i>Streptococcus sp.</i>	1,63438E+13
C31 <i>cocuss sp.</i>	1,51906E+13
C41 <i>cocuss sp.</i>	1,35188E+13
<i>P. Fluorescens</i>	1,18563E+13
A521 <i>Streptococcus sp.</i>	9,15938E+12
B31 <i>Bacillus sp.</i>	6,575E+12
MÁXIMA	2,95906E+13
MÍNIMA	6,575E+12
MEDIANA	1,67719E+13

FUENTE: Las Autoras

II.II BIODEGRADACIÓN DE CIANURO DE SODIO NaCN

✓ Diseño experimental

Los bioensayos consistieron en determinar la actividad degradadora de las bacterias previamente seleccionadas en base a los criterios desarrollados en la tabla 7 correspondientes a la actividad biológica y al conteo en la cámara de Neubauer.

Los ensayos se realizaron con los microorganismos A74, C33 y *Pseudomonas Fluorescens*. ATCC 49838 Para esto se utilizó buffer carbonato (VER ANEXO I) que es una solución formada de carbonato y bicarbonato de sodio 0,1 M en diferentes cantidades, obteniendo medios líquidos a dos pH: 9.2 y 9.6, cuya funcionalidad es “amortiguar”; es decir, generar un efecto regulador del potencial hidrógeno. De esta manera los ácidos, productos de la actividad microbiana no podrán tener efecto alguno sobre el agua, ya que ésta siempre se estabilizará de inmediato.

Ilustración 30: Montaje de reactores para pruebas de biodegradación.



Fuente: Las Autoras

Los ensayos que se realizaron fueron:

Pruebas preliminares: Se efectuaron mediante el uso de matraces con 250 ml de la solución buffer y 0,055 g. de cianuro de sodio (gramos necesarios para crear muestras de concentración 220 ppm) en las que se inocularon 5ml de solución bacteriana (dilución de microorganismos en 500cc de agua destilada).

Estas pruebas constaron de 18 reactores: 9 matraces con buffer carbonato a un pH de 9,2 (3 para cada bacteria) y 9 matraces con solución reguladora a un pH de 9,6 igualmente con tres repeticiones para cada microorganismo. Estos fueron tapados con gasa, algodón y papel aluminio, dejamos reposar, la agitación no se considera en este caso una variable en la investigación.

Cabe mencionar que al adicionar el cianuro de sodio el pH se incrementa 0,4 considerándose así como valores finales del pH 9,6 y 10 en cada caso.

Se extrajeron 80 ml de muestra en frascos plásticos estériles cada tres días (día 4, día 8 y día 12), para realizar el respectivo análisis de cianuro libre por titulación con nitrato de plata.

Bioensayos: Para estas pruebas, además del inculo de bacterias, 0,055 g. de cianuro de sodio NaCN, y de la solución reguladora de pH se agregaron 2,5 ml de dextrosa al 10%, con la finalidad de brindar a los microorganismos una fuente adicional de energía que permitirá una mayor capacidad de adaptabilidad. Se utilizaron en los bioensayos 10 ml de suspensiones de bacterias, para poder garantizar su persistencia y por consiguiente una mayor degradación del cianuro.

Estas adaptaciones se realizaron tomando en consideración los resultados preliminares, ya que el crecimiento bacteriano era escaso y el movimiento celular era muy bajo durante los ocho primeros días, lo que significa que la concentración inicial del inóculo era pobre.

Los primeros 18 matraces se dispusieron en una incubadora a una temperatura de 32 °C. De igual manera estas muestras se extrajeron cada 3 días durante un periodo de 12 días. Para cada análisis en el laboratorio se toman 80 ml de cada matraz en frascos estériles. Antes del envío de cada muestra al laboratorio se realizó el conteo en la cámara de Neubauer de cada una de las muestras de agua para poder constatar el crecimiento bacteriano (VER ANEXO I). Este conteo se realizó tanto al tiempo 0 como a los 4, 8 y 12 días, periodo en el cual se evaluó el comportamiento bacteriano.

Los bioensayos a temperatura ambiente (22°C) se hicieron igual que los anteriores, pero sin el uso de un sistema de incubación.

Pruebas testigo: Para poder realizar con éxito el análisis y la comparación estadística de nuestra tesis, fue necesario elaborar “blancos” (testigo), los cuales nos sirven de base al momento de comparar el nivel de degradación de los ensayos preliminares y bioensayos frente a la pérdida de cianuro sin la intervención de bacterias.

Los blancos se elaboraron en matraces de 250 ml; con 250 ml de solución reguladora de pH, 2,5 ml de dextrosa al 10% y 0,055 gr. de cianuro de sodio. En total se realizaron 18 blancos, a 2 pH diferentes y a 2 temperaturas. Estos también se enviaron al laboratorio para el respectivo análisis cada 4 días.

Los resultados emitidos de cada una de las pruebas realizadas se detallan en el ANEXO II, mientras que los resultados de biodegradación obtenidos se detallan en el ANEXO III.

✓ **Determinación de cianuro libre residual en reactores**

Para la determinación de cianuro libre se empleó el método estándar 4500-CN-D, técnica empleada cuando se analizan muestras que son superiores a 1 mg/l.

Tabla 9: Total de análisis a realizarse en los bioensayos

DESCRIPCIÓN	NÚMERO DE MUESTRAS	NÚMERO DE ENTREGAS	TOTAL ENVIADAS
Preliminares	18	3	54
Bioensayos	18	6	108
Blancos	12	3	36
TOTAL			198

FUENTE: Las Autoras

CAPÍTULO III: RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Para el análisis estadístico de la presente investigación, se utilizó el software STATGRAPHICS CENTURION XV, para el efecto se hace uso de un diseño multifactorial.

Los factores que se consideran para este propósito son los siguientes: tiempo, pH, temperatura y bacterias.

TABLA 10: Factores que intervienen en el análisis estadístico

FACTORES		NÚMERO TOTAL DE NIVELES	VARIABLE DE RESPUESTA
NOMBRE	UNIDADES		
TIEMPO	DÍAS	3	RENDIMIENTO ppm.
pH		2	
TEMPERATURA	°C	2	
TRATAMIENTOS		4	

FUENTE: Las Autoras

Los datos analizados se presentan en la tabla 11 y 12, que corresponde a los niveles de biodegradación en los biorreactores y pérdidas de cianuro en testigos calculados a partir de los resultados emitidos por el laboratorio encargado.

Tabla 11.- Tabla de ppm de cianuro de sodio NaCN biodegradado

VARIABLES			PERIODO DE DEGRADACIÓN								
			0 - 4 DÍAS			4 - 8 DÍAS			8 - 12 DÍAS		
pH	T° C	BACTERIA	R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3
9.6	22	<i>P. Fluorescens.</i>	84,86	75,13	85,94	17,29	27,02	17,29	6,49	7,57	8,65
		<i>A74</i>	89,18	90,26	89,18	14,05	11,89	11,89	5,41	7,57	7,57
		<i>C33</i>	90,26	90,26	87,02	12,97	11,89	10,81	8,65	9,73	9,73
	32	<i>P. Fluorescens</i>	110,61	86,41	112,81	10,01	15,4	7,81	0	12,1	0
		<i>A74</i>	86,41	93,01	90,81	16,5	12,1	13,2	6,6	5,5	8,8
		<i>C33</i>	112,81	86,41	88,61	7,81	18,7	13,2	0	7,7	11
10	22	<i>P. Fluorescens</i>	89,18	89,18	91,34	15,13	14,05	14,05	7,57	8,65	6,49
		<i>A74</i>	89,18	85,94	90,27	14,05	14,05	11,88	5,41	8,65	5,41
		<i>C33</i>	87,96	87,02	93,5	15,27	14,05	12,98	7,57	6,49	7,55
	32	<i>P. Fluorescens</i>	108,41	112,81	90,81	12,1	7,7	18,7	0	0,11	11,11
		<i>A74</i>	108,41	95,21	93,01	11	11	14,3	0	7,7	5,5
		<i>C33</i>	115,01	112,81	115,01	5,61	7,81	5,61	0	0	0

FUENTE: Las Autoras

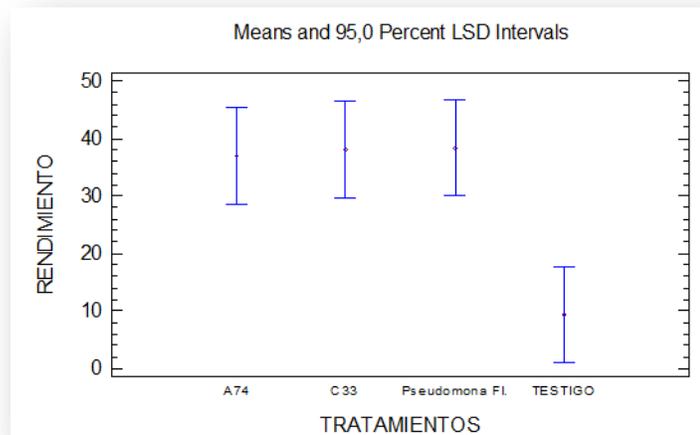
Tabla 12: Pérdidas de cianuro por volatilización en ensayos testigos

VARIABLES		PPM DE CIANURO PERDIDOS EN TESTIGOS (PPM)								
		0 - 4 DÍAS			4 - 8 DÍAS			8 - 12 DÍAS		
pH	T° C	R1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3
9.6	22	3,78	5,94	3,78	2,7	3,78	1,62	7,02	11,35	16,75
	32	4,86	5,94	1,62	14,59	14,59	13,51	28,64	20	12,43
10	22	2,7	4,86	3,78	0	5,94	2,7	24,32	8,1	9,19
	32	5,94	5,94	4,86	5,4	13,51	13,51	14,59	16,75	21,08

FUENTE: Las Autoras

Inicialmente se realizó un análisis para determinar si la disminución de cianuro que se estaba produciendo por volatilización o por la acción biodegradadora de los microorganismos. La siguiente ilustración demuestra que la biodegradación es significativa, lo cual nos da la pauta para realizar comparaciones entre las tres bacterias.

Ilustración 31: LSD - Rendimiento vs. Tratamientos



FUENTE: Las Autoras

Tabla 13: Rango múltiple de DUNCAN para el análisis de los tratamientos frente al testigo

TRATAMIENTOS	CONTEO	LS Media	LS Sigma	GRUPOS HOMOGÉNEOS
TESTIGO	36	9,39472	5,99235	X
A74	36	36,9694	5,99235	X
C33	36	38,1058	5,99235	X
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	36	38,4106	5,99235	X

FUENTE: Las Autoras

Como se indica en la tabla 13, mediante el empleo de la prueba de Duncan o Prueba de Rangos Múltiples se pudo realizar la comparación entre medias y se concluyó que existe una significancia entre tratamientos específicamente entre las bacterias A74, C33 y *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838, con respecto al testigo(sin bacteria); con lo cual se demuestra que el proceso de biodegradación ha influido significativamente para la reducción de las concentraciones de cianuro mientras que las pérdidas de volatilización son bajas gracias al medio buffer carbonato empleado en el procedimiento.

En la Tabla 14 se puede apreciar que los tres tratamientos que estadísticamente presentan significatividad frente al testigo son las cepas A74; C33 y *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838; mientras que la relación entre las tres cepas utilizadas no es significativa como se muestra en la Tabla 15.

Tabla 14: Resultado del análisis entre tratamientos y testigo

TRATAMIENTOS	SIGNIFICATIVIDAD	DIFERENCIA
A74 - C33		-1,13639
A74 - <i>Pseudomonas Fluorescens</i>		-1,44111
A74 - TESTIGO	*	27,5747
C33 - <i>Pseudomonas Fluorescens.</i>		-0,304722
C33 - TESTIGO	*	28,7111
<i>Pseudomonas Fluorescens.</i> - TESTIGO	*	29,0158

En la tabla el asterisco (*) nos indica la significatividad de los tratamientos

FUENTE: Las Autoras

Tabla 15: LSD - Rendimiento por Bacterias

BACTERIAS	COUNT	LS MEAN	LS SIGMA	HOMOGENEOUS GROUPS
A74	36	36,9694	0,955844	x
C33	36	38,2268	0,959646	x
Pseudomonas Fluorescens	36	38,4106	0,955844	x

FUENTE: Las Autoras

El diseño de la investigación, se basa en un Análisis de Varianza ANOVA, en el que se calcula la suma de cuadrados, el cuadrado medio, la razón (cociente F), y los grados de libertad; todos estos parámetros se analizan para determinar la significancia de los tratamientos.

Tabla 16: Análisis de Varianza por Rendimiento

FACTORES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	COCIENTE F	VALOR P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: TIEMPO	174763	2	87381,6	26656,71	0
B: pH	11,5561	1	11,5561	0,35	0,5549
C: TEMPERATURA	148,912	1	148,912	4,53	0,0362
D: BACTERIAS	44,2618	2	22,1309	0,67	0,5129
INTERACCIONES					
AB	366,208	2	183,104	5,57	0,0053
AC	1524,33	2	762,166	23,17	0
AD	209,846	4	52,4616	1,6	0,1827
BC	6,6104	1	6,6104	0,2	0,655

BD	0,0250298	2	0,0125149	0	0,9996
CD	9,57379	2	4,78689	0,15	0,8648
RESIDUOS	2894,4	88	32,8909		
TOTAL	180033	107			

Todos los cocientes – F están basados en el error cuadrático medio residual.

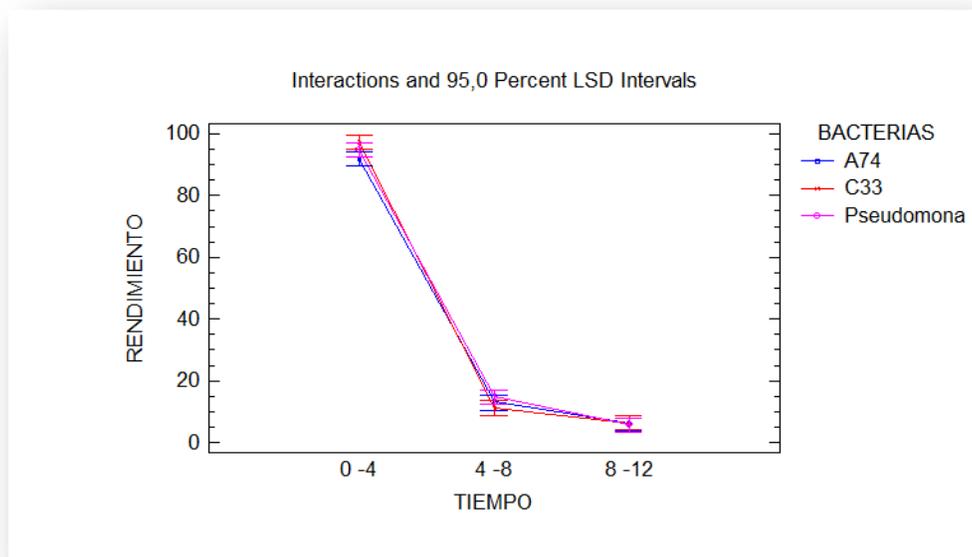
FUENTE: Las Autoras

Como se puede apreciar en la tabla anterior, los factores influyentes en la biodegradación son el tiempo y la temperatura; pues inciden directamente en este proceso.

En el análisis de la DMS (Diferencia Mínima Significativa) se hacen comparaciones simultáneas entre medias adyacentes, permitiéndonos evaluar el rendimiento a partir de la interacción de dos factores. Esta relación se describe a continuación:

Tiempo y bacterias: se considera que el periodo de vida, formación de colonias y fase de latencia de los microorganismos influye en el rendimiento siendo el tiempo óptimo de 0 a 4 días con un rango de degradación que oscila entre 80 y 100 ppm,

Ilustración 32: Interrelación bacterias - tiempo



FUENTE: Las Autoras

En el siguiente LSD del tiempo se comprueba nuevamente que el tiempo es una variable altamente significativa en este estudio.

Tabla 17: LSD de tiempo

TIEMPO (días)	CONTEO	LS Media	LS Sigma	GRUPOS HOMOGÉNEOS
8-12	37	6,07022	0,944601	X
4-8	35	12,9521	0,971964	X
0-4	36	94,5844	0,955844	X

FUENTE: Las Autoras

Temperatura y bacterias: en los niveles de biodegradación se puede verificar que la mayor eficiencia se logra a una temperatura de 32°C.

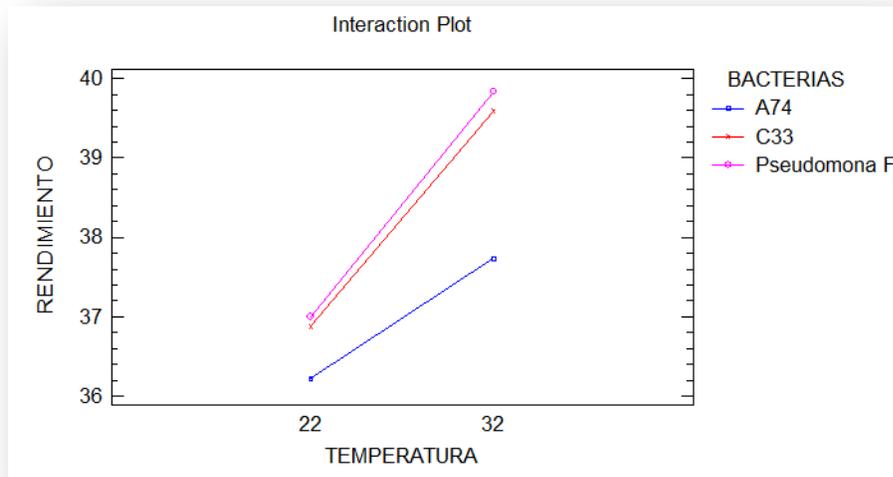
Tabla 18: LSD de temperatura

TEMPERATURA °C	CONTEO	LS Media	LS Sigma	GRUPOS HOMOGÉNEOS
22	54	36,6931	0,780443	x
32	54	39,0447	0,782514	x

FUENTE: Las Autoras

De acuerdo a la ilustración 33, existe diferencia del grado de biodegradabilidad entre las cepas C33 y *Pseudomonas Fluorescens* frente a la cepa A 74.

Ilustración 33: Relación entre temperatura y bacterias



FUENTE: Las Autoras

pH y bacterias: se puede interpretar que el pH óptimo en el proceso de biodegradación de sales de cianuro es de 10 (alcalino), pero este factor no es estadísticamente significativo ver (tabla 18).

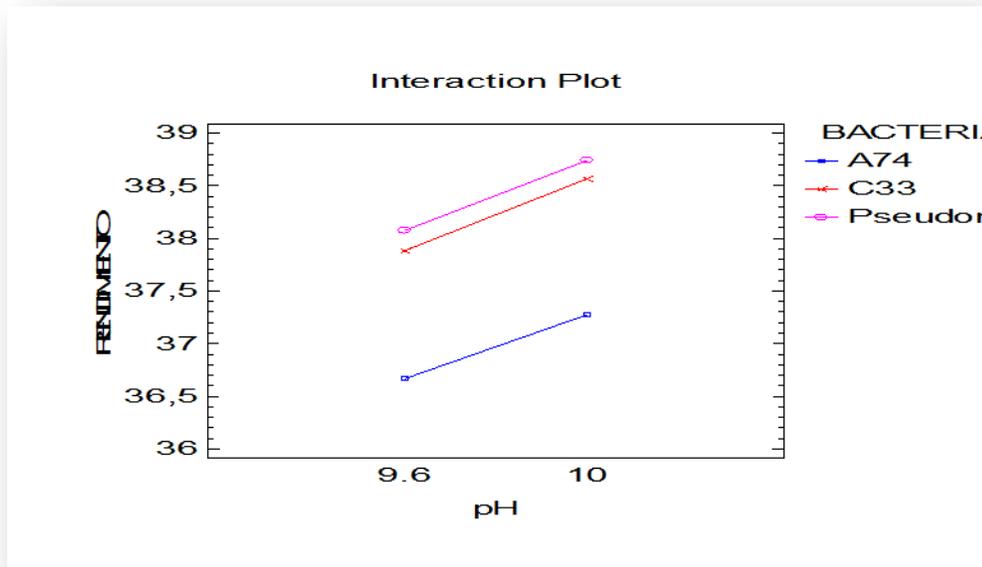
Tabla 19: LSD de pH

TEMPERATURA	CONTEO	LS Media	LS Sigma	GRUPOS HOMOGÉNEOS
9,6	54	37,5414	0,782514	x
10	54	38,1965	0,782514	x

FUENTE: Las Autoras

La capacidad de biodegradación varía, entre las tres cepas, se considera nuevamente con mayor actividad biodegradadora las cepas C33 y Pseudomonas Fluorescens.

Ilustración 34: Interrelación de bacterias y pH



FUENTE: Las Autoras

CONCLUSIONES

- En base a los resultados obtenidos podemos concluir que se acepta la hipótesis 0 ya que hemos demostrado estadísticamente que los microorganismos nativos encontrados en los efluentes mineros tienen un proceso degradativo de cianuro similar a la cepa de bacteria del género *Pseudomonas fluorescens* ATCC 49838.
- Según lo observado en los resultados generados por el software STATGRAPHICS CENTURION XV se constata que la temperatura influye significativamente en el proceso de biodegradación ya que a 32°C se obtiene una mejor degradación con las 3 bacterias empleadas.
- El factor tiempo de biodegradación influye directamente en el proceso de degradación de cianuro de sodio según el análisis estadístico, ya que durante los 4 primeros días se reduce altas concentraciones de cianuro con las 3 bacterias utilizadas.
- El factor pH no se considera como un parámetro que influye directamente en el proceso degradativo según el análisis estadístico efectuado. Aunque a un pH 10 se incrementa levemente la capacidad degradativa de los microorganismos.
- Evaluando las concentraciones de biodegradación podemos concluir que la bacteria nativa C33 *Streptococcus sp.* logró degradar en porcentajes, el 91% del cianuro total inicial, *Pseudomonas. Fluorescens* ATCC 49838 disminuyó el 92% de la concentración total y la bacteria A74 *Bacillus sp.* tiene una capacidad degradadora de 86,3%.

- Las pruebas preliminares nos permitieron observar que el periodo de vida de las bacterias era muy corto porque necesitaban una fuente extra de energía que les permita un mayor desarrollo y degradación de cianuro como fuente de carbono y nitrógeno, por lo que optamos por adicionar suero glucosado, que permitió que los microorganismos se adapten al medio.
- Las pruebas testigo nos sirvieron para determinar los niveles de degradación de los microorganismos empleados en la investigación, verificando la efectividad del proceso frente a las pérdidas de la concentración de cianuro por volatilización.
- El Buffer carbonato empleado permite reducir las pérdidas de cianuro por volatilización.
- En los bioensayos la adición de glucosa fue la fuente energética inicial que permitió que la bacteria se adaptara al medio y que posteriormente utilizara en su proceso metabólico al cianuro como fuente de carbono e hidrogeno, incrementando el crecimiento bacteriano y la biodegradación de la sales de cianuro.
- Los medios de cultivo (TSA y Agar Nutritivo) empleados durante el proyecto nos ayudaron en la conservación de las bacterias por un largo periodo de tiempo pudiendo destacar que *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838 tiene un óptimo crecimiento en Agar nutritivo mientras que las bacterias nativas: C33 *Streptococcus sp* y A74 *Bacillus sp.*, tienen un crecimiento eficiente en el medio TSA.

- Comparando la concentración de sales de cianuro mediante el uso de dos métodos analíticos: espectrofotometría y titulación, se pudo verificar que el contenido de cianuro era similar en ambos casos lo cual respalda la certeza de los resultados obtenidos en los bioensayos.
- Tanto el conteo en la cámara de Neubauer como la determinación de la actividad biológica fueron actividades importantes que nos ayudaron a determinar las 2 bacterias nativas que fueron empleadas en el proceso de biodegradación.

RECOMENDACIONES

- Controlar eficientemente las variables que intervienen en el proceso de degradación para obtener óptimos resultados en cuanto a la capacidad biodegradadora de los microorganismos.
- Buscar una eficiente fuente energética para los microorganismos que garantice una mejor adaptación y desarrollo en medios que contengan sales de cianuro.
- Realizar pruebas de bioensayos con todos los microorganismos nativos, para determinar su capacidad biodegradadora.
- Simular en el laboratorio las condiciones ambientales y características químicas del medio en donde se obtiene la muestra inicial de agua para alcanzar un óptimo desarrollo de los microorganismos nativos.
- Realizar una caracterización biomolecular de los microorganismos nativos y patentar los mismos.
- Formar un cepario de microorganismos nativos para su uso en procesos de biorremediación ambiental.
- Se sugiere emplear los microorganismos nativos insolados y caracterizados en ésta investigación como agentes eficientes de biodegradación de sales de cianuro.
- Considerar un proceso de agitación en una planta de tratamiento para determinar su influencia en un proceso de biodegradación.

PROYECCIÓN FUTURA

Consideramos que esta investigación es importante por los microorganismos nativos que pudimos aislar, debido a su gran capacidad de biodegradación y los posibles usos que se podrían dar a los mismos.

Con esta investigación, se dejan sentadas las bases para la aplicación in situ de estos microorganismos, sobre todo de la cepa C33 – *Streptococcus sp*, la cual a pesar de no ser una bacteria del género *Pseudomonas* tiene un comportamiento similar a la cepa liofilizada *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838 es por esto que mediante un estudio previo de factibilidad podría realizarse un proyecto de biodegradación del cianuro en una planta de explotación minera en la cual mediante el uso de bioreactores sea posible controlar los diferentes factores como el pH , la temperatura, agitación, etc.

La biorremediación in situ de sales de cianuro con el empleo de microorganismos nativos es un mecanismo alternativo de eliminación de contaminantes altamente tóxicos, sobre todo en la actualidad que nuestro país enfrenta una explotación minera a gran escala la cual genera graves repercusiones al ser humano y al medio ambiente.

Esperamos que pronto se pueda generalizar el uso de este tipo de tecnologías cuya finalidad es la de no alterar el equilibrio biológico existente ya que emplea microorganismos propios del medio, que ayudan a tratar de una manera eficiente los problemas ambientales generados por el ser humano.

Anhelamos que a este proyecto se le pueda dar continuidad y de esta manera se fomente la investigación a nivel local y crear estrategias de mitigación con la finalidad de fomentar la investigación en el Ecuador.

BIBLIOGRAFÍA

- ✓ CÁRDENAS Benítez, José Miguel; GUAÑA Jácome, Luis Ramiro. *Degradación del cianuro residual de los desechos mineros de Zaruma y Portovelo*. 1991. Quito- Ecuador.

- ✓ QUIROGA, Patricia N. y OLMOS, Valentina. *Revisión de la Toxicocinética y la toxico dinámica del ácido cianhídrico y los cianuros*. *Acta tóxica*. Argent. Disponible en:
<http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432009000100003&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-3743.

- ✓ RAMIREZ, Augusto V. *Toxicidad del cianuro: Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre*. Disponible en la World Wide Web:
<http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832010000100011&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1025-5583.

- ✓ Lilia A. ALBERT. *Contaminación ambiental, Origen, Causas, Fuentes y Efectos*.

- ✓ AKCIL A, MUDDER, T. *Microbial destruction of cyanide wastes in gold mining: process review*. *Biotechnology Letters* 2003.

- ✓ GUDELO C, Ruth M, BETANCUR U, Judith e JARAMILLO C, Carmen L. *Cyanide residues biotreatment and their relation with public health*. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*.

- ✓ GARCÉS, Adelaida María y otros, *Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro*. *Revista Lasallista de Investigación*, enero-junio, año/vol. 3, número 001. Corporación Universitaria Lasallista. Antioquia, Colombia.

- ✓ CORNELIS P (editor). (2008). *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*, 1st ed. edición, Caister Academic Press.

- ✓ PAJARES Marchand, ORLANDO Edgard, *Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima*, Perú 2002, http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2002/marchand_pe/pdf/marchand_pe-TH.2.pdf.

- ✓ TORRES, Duilio, *El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos*, Alicante – España, 2003. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/540/54012219.pdf>

- ✓ DÍAZ Veliz, G. (2007). *Absorción y vías de administración de fármacos. Programa Farmacología Molecular y Clínica*. [en línea]. Disponible en https://www.u-cursos.cl/medicina/2007/2/TMPCFARM2/1/material_docente/objeto/137770 (consulta: noviembre 2008).

- ✓ BASKIN, S.T.; Brewer, T.G. (1997). *Cyanide poisoning*. Textbook of Military Medicine, Medical aspects of chemical and biological warfare. Zajtchuk and Bellamy Eds. Office of the Surgeon General Department of the Army, Washington DC, USA.

- ✓ LUNA José Rafael. Lic. Bioanálisis, MSc. *Química Analítica. Grupo de Investigación en Toxicología Analítica y Estudios Farmacológicos (GITAEF)*. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela. <http://webdelprofesor.ula.ve/farmacia/lunajr/escuela/hcn.ppt>

- ✓ LAUWERYS, R. (1994). Ácido cianhídrico, cianuros, nitrilos y sustancias similares. *Toxicología Industrial e Intoxicaciones Profesionales*. Mason S.A. Barcelona, España.

- ✓ SARACCO, Sergio; “Intoxicación por Gases”, Mendoza, Argentina. www.fcm.uncu.edu.ar/medicina/posgrado/.../Hipoxias_Toxicas.pdf

- ✓ SANDBERG CG. *A case of chronic poisoning with potassium cyanide*. Act Med Scand. 1967.

- ✓ SERJEANT, E.P.; Dempsey, B. (1979). *Ionization Constants of Organic Acids in Solution*, IUPAC Chemical Data Series No. 23, Serjeant, E. P. and Dempsey, B. (eds.). Pergamon Press, Oxford, UK. [en línea]. Disponible en http://chemweb.unp.ac.za/chemistry/Physical_Data/pKa_compilation.pdf

- ✓ SÁNCHEZ Fernández, Leodegario (2001), Definición de contaminante biológico, en *Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos*, INHT, Ministerio Trabajo y Asuntos Sociales, España [16-11-2007]

- ✓ MONSALVE Germán. *Hidrología en la Ingeniería*. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. Cuarta Edición 2004.

- ✓ GIL Manuel Rodríguez. *Procesos de descontaminación de aguas*. Editorial Thomson. España 2003.

- ✓ ATLAS Ronald M.; BARTHA Richard. *Ecología Microbiana Ambiental*. Cuarta Edición. Addison Wesley.

- ✓ HERNÁNDEZ Sánchez Lina Marcela. *Evaluación de la capacidad de un aislado bacteriano nativo de Pseudomonas sp., como potencial degradador de compuestos cianurados*. 2010. <http://www.bdigital.unal.edu.co/1849/1/43801720.2010.pdf>

- ✓ LOGSDON Mark J., Msc; KAGELSTEIN Karen, PhD, CIH; MUDDER Terry I., PhD. *El manejo de cianuro en la extracción de oro*. Consejo Internacional de Metales y Medio Ambiente. ICM. <http://www.aage.org.ar/manejodelcianuro.pdf>

- ✓ ALGORTA Gabriela. *Bacilos gram negativos no exigentes enterobacteriaceae, vibrionaceae, pseudomonas*.

- ✓ MADIGAN Michael T, MARTINKO John. *Brock de Biología de los Microorganismos*. (10ma Edición).
- ✓ AGENCIA DE SUSTANCIAS TÓXICAS Y EL REGISTRO DE ENFERMEDADES, *Resumen de Salud Pública – Cianuro*, Springfield, 2006.
- ✓ SOCIEDAD NACIONAL DE MINERÍA, PETRÓLEO Y ENERGÍA, *El Cianuro*.
- ✓ MARCK, J Logsdon, y otros, *El Manejo de Cianuro en la extracción del Oro*, EE.UU, 2003.
- ✓ LUQUE, Víctor, *Metabolismo del cianuro y del cianato en Pseudomonas pseudoalcaligenes CECT5344. Aplicaciones biotecnológicas*, analistas Económicos de Andalucía, 2005.
- ✓ GUERRERO, José, *Cianuro: Toxicidad y Destrucción Biológica*.
- ✓ RESTREPO Oscar, y otros, *Degradación microbiana de cianuro procedente de plantas de beneficio de oro mediante una cepa nativa de p.fluorecens*. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, 2006.
- ✓ PROGRAMA EDUCATIVO DE ARGENBIO - CONSEJO ARGENTINO PARA LA INFORMACIÓN Y EL DESARROLLO DE LA

BIOTECNOLOGÍA, *Biorremediación: organismos que limpian el ambiente*, 2006.

- ✓ CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR, Sección Cuarta: Recursos Naturales, 2008.

- ✓ SANDOVAL, Fabián, *La pequeña Minería en el Ecuador*, 2001.

- ✓ EQUIPO MMSD AMÉRICA DEL SUR, *Minería, minerales y desarrollo sustentable en América del Sur*, Centro de Investigación y Planificación del Medio Ambiente, 2002

- ✓ UCP PRODEMINCA, *Monitoreo Ambiental de las Areas Mineras en el sur del Ecuador 1996 -1998*, 1ra. edición, Quito, 1999.

- ✓ PORTAL DEL GOBIERNO CANTONAL DE ZARUMA, *Ordenanza de regulación minera y control para la prevención de la contaminación ambiental en el Cantón Zaruma*, 1996.

- ✓ MORA, Germán y otros, *Historia y Actualidad, Exploción minera, Cantones Zaruma y Portovela Provincia de El Oro*, 2008.

PÁGINAS WEB

- ✓ http://www.tierramerica.net/agua_2002/infografia_agua.pdf
- ✓ <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20090312203346AAVOP0C>
- ✓ <http://www.monografias.com/trabajos37/contaminacion-toxicologia/contaminacion-toxicologia2.shtml>
- ✓ <http://www.misrespuestas.com/que-es-la-contaminacion.html>
- ✓ <http://www.aula21.net/Nutriweb/agua.htm>
- ✓ <http://es.wikipedia.org/wiki/Agua>
- ✓ <http://contaminacion-ambiente.blogspot.com/>
- ✓ <http://www.deigualaaigual.net/es/derechos-humanos/61-medio-ambiente/1359-contaminacion-ambiental>
- ✓ http://www.iadb.org/sds/ENV/publication/publication_205_567_s.htm
- ✓ <http://www.monografias.com/trabajos46/contaminantes-ambientales/contaminantes-ambientales2.shtml>
- ✓ http://dyna.unalmed.edu.co/ver_articulo.php?id_articulo=articulocianuro&tipo=articulo&id=149
- ✓ http://www.ingenieriaquimica.org/articulos/degradacion_cianuro_sodio
- ✓ [http://www.caem.com.ar/files/El%20Manejo%20del%20cianuro%20\(ICMM\).pdf](http://www.caem.com.ar/files/El%20Manejo%20del%20cianuro%20(ICMM).pdf)
- ✓ <http://es.shvoong.com/law-and-politics/1618081-la-miner%C3%ADa-el-cianuro-la/>
- ✓ http://www.diarioc.com.ar/economia/Mineria_a_cielo_abierto-El_cianuro_y_la_contaminacion/89171
- ✓ http://www.agenciaenpie.org/index.php?option=com_content&task=view&id=317&Itemid=43
- ✓ <http://toxicologia-alimentos.blogspot.com/2009/04/intoxicacion-con-productos-industriales.html>
- ✓ <http://www.estrucplan.com.ar/producciones/entrega.asp?identrega=47>
- ✓ www.hazmatargentina.com/descargas/.../atencion_cianuro.pdf

- ✓ <http://mineriasudaca.blogspot.com/2007/02/efectos-del-cianuro-en-la-salud-humana.html>
- ✓ http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts8.html
- ✓ http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/id/34694014.html
- ✓ <http://www.worldlingo.com/ma/enwiki/es/Pseudomonas#History>
- ✓ <http://edicion-micro.usal.es/web/identificacion/ayuda/MACCON01.GIF>
- ✓ <http://www.cme.org.ec/panorama-minero.html>
- ✓ <http://es.wikipedia.org/wiki/Miner%C3%ADa>
- ✓ <http://despertandoconcienciaplanetaria.wikispaces.com/page/pdf/Biorremediaci%C3%B3n>
- ✓ http://www.ucm.es/info/crismine/Geologia_Minas/Historia_Mineria.htm

GLOSARIO

Lénticos: cuerpo de agua sin grandes movimientos como son los lagos, lagunas, cochas, etc.

Lóticos: cuerpos de agua con movimiento (ríos, riachuelos, etc.).

Antropogénica: que es de origen humano, que es producido por el hombre.

Rickettsias: género de bacterias que se encuentran en los piojos, pulgas, chinches, garrapatas y ácaros, que actúan como vectores y como reservorio de las enfermedades que transmiten, ya que son parásitos intracelulares obligados

Desorción: emisión de un fluido previamente absorbido por un material.

Subdrenes: los subdrenes consisten en una red colectora de tuberías perforadas o ranuradas, alojadas en zanjas para permitir recolectar el agua subterránea, con objeto de controlarla y retirarla, minimizando su efecto negativo en las capas estructurales del pavimento.

Quenacho: es una vara hueca fabricada generalmente con bambú, pero también puede ser hecha con otros materiales como PVC, huesos, barro, entre otros. Suele medir 50 a 55 centímetros.

Janqueros: recolectores de oro a través de los desperdicios de los materiales de las sociedades mineras.

Mazo: es una herramienta de mano que sirve para golpear o percutir; tiene la forma de un martillo pero es de mayor tamaño y peso.

Mientras que el martillo cumple su principal papel dentro de la carpintería el mazo lo desempeña en la industria de la construcción o en la albañilería.

Amalgama: en química, es la mezcla homogénea de dos o más metales: aunque en la mayor parte de los casos se denomina aleación (ejemplo típico de una disolución de

sólido en sólido), especialmente se denomina amalgama cuando uno de los metales es el mercurio (en condiciones normales en estado líquido).

Frontones: (también llamado frontis) es un elemento arquitectónico de origen clásico que consiste en una sección triangular o gablete dispuesto sobre el entablamento, que descansa sobre las columnas.

Esquistosomiasis: (antiguamente llamada bilharziasis o bilharziosis) es una enfermedad parasitaria producida por gusanos platelmintos de la clase trematodos del género *Schistosoma* (castellanizado esquistosoma). Es relativamente común en los países en vías de desarrollo, especialmente en África; aunque su tasa de mortalidad es baja, la esquistosomiasis es altamente incapacitante debido a las fiebres con que se manifiestan.³¹

Difusibilidad: mezcla completamente entre ellos. (esta implicada en el aire, en la propagación de Los olores por el aire, etc.)

Liposolubilidad: es la capacidad de relacionarse lo mejor posible con la bicapa lipídica.

Cianogénicos: son metabolitos secundarios de las plantas que cumplen funciones de defensa, ya que al ser hidrolizados por algunas enzimas liberan cianuro de hidrógeno en un proceso llamado cianogénesis.

Hiperpnea: es una respiración rápida, profunda o trabajosa que aparece normalmente durante el ejercicio; también acompaña a cuadros patológicos como dolor, fiebre, histeria y cualquier trastorno en el que el aporte de oxígeno sea insuficiente, como ocurre en las enfermedades respiratorias y circulatorias.

Metaloenzimas: son sustancias de carácter proteico que contienen en su estructura uno o más iones metálicos. Muchas metaloproteínas son enzimas (metaloenzimas) y tienen actividad oxidoreductasa, (catalizan la transferencia de electrones desde una molécula dadora la cual se oxida a una molécula aceptora la cual se reduce)

³¹ Corachán Cuyás, M., Gascón Brustenga, J. & Vinuesa Aumedes, T. 1998. Trematodosis. *Medicine*, 7(82)

Tiocianato: (también conocido como sulfocianato, sulfocianuro o rodanuro) es el anión $[\text{SCN}]^-$ y la base conjugada del ácido tiociánico. Algunos compuestos comunes incluyen las sales incoloras tiocianato de potasio y tiocianato de sodio. Los compuestos orgánicos que contienen el grupo funcional $-\text{SCN}$ son denominados también tiocianatos. El tiocianato de mercurio (II) fue usado anteriormente en pirotecnia.

Cianocobalamina: vitamina B_{12} es un complejo hexacoordinado de cobalto. Cuatro posiciones de coordinación están ocupadas por un macro ciclo de corrina. Una de las posiciones axiales se completa con un grupo cianuro (CN^-). Una cadena lateral del anillo de corrina compuesta por una amida, un grupo fosfato, una ribosa y un nucleótido completa la coordinación a través del resto 5,6-dimetilbenzimidazol en su extremo.

Mioglobina: es una hemoproteína muscular, estructuralmente y funcionalmente muy parecida a la hemoglobina, es una proteína relativamente pequeña constituida por una cadena polipeptídica de 153 residuos aminoacídicos que contiene un grupo hemo con un átomo de hierro, y cuya función es la de almacenar y transportar oxígeno. También se denomina miohemoglobina o hemoglobina muscular.

Paresia: en medicina, la ausencia parcial de movimiento voluntario, la parálisis parcial o suave, descrito generalmente como debilidad del músculo. Es un síntoma común de la esclerosis múltiple.

Osmoregulacion: es la forma activa de regular la presión osmótica del medio interno del cuerpo para mantener la homeostasis de los líquidos del cuerpo; esto evita que el medio interno llegue a estados demasiado diluidos o concentrados. La presión osmótica es la medida de la tendencia del agua para moverse de una solución a otra por medio de la ósmosis.

Tiocianato: (también conocido como sulfocianato, sulfocianuro o rodanuro) es el anión $[\text{SCN}]^-$ y la base conjugada del ácido tiociánico. Algunos compuestos comunes incluyen las sales incoloras tiocianato de potasio y tiocianato de sodio. Los compuestos orgánicos que contienen el grupo funcional $-\text{SCN}$ son denominados también tiocianatos. El tiocianato de mercurio (II) fue usado anteriormente en pirotecnia.

Relaveras: Los relaves contienen altas concentraciones de químicos y elementos que alteran el medio ambiente, por lo que deben ser transportados y almacenados en "tanques o pozas de relaves (relaveras)" donde lentamente los contaminantes se van decantando en el fondo y el agua es recuperada o evaporada.

Rhodotorula mucilaginosa: levadura pigmentada, que forma parte *del phylum Basidiomycota*, fácilmente identificables por colonias distintivas de coloración naranja / rojo cuando se cultivan en APS (dextrosa Sabouraud Agar). Este color distintivo es el resultado de los pigmentos que la levadura crea para bloquear ciertas longitudes de onda de la luz que de otro modo sería perjudicial para la célula. El color de la colonia puede variar de ser de color crema a la naranja, rojo, rosa o amarillo.

Pseudomonas: género de bacilos rectos o ligeramente curvados, Gram negativos, oxidasa positivas, aeróbicos estrictos aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. El catabolismo de los glúcidos se realiza por la ruta de Etner-Doudoroff y el ciclo de los ácidos tricarbóxicos. Algunos miembros del género son psicrófilos, mientras que otros sintetizan sideróforos fluorescentes de color amarillo-verdoso con gran valor taxonómico. Es común la presencia de plásmidos y no forman esporas.

Pseudomonas pseudoalcaligenes: Es una bacteria aeróbica, Gram negativos del suelo que se aisló por primera vez agua de piscina. Es capaz de utilizar el cianuro como fuente de nitrógeno, y como resultado puede ser utilizado para la biorremediación.

Commamonas: es un género de Proteobacteria.

Burkholderia: El género *Burkholderia* está compuesto por: bacilos rectos; Gram negativos; oxidasa y catalasa positivos; con una proporción de G+C que oscila entre el 59 y el 69,5 %. Son bacterias móviles con un flagelo polar único o bien con un penacho de flagelos polares según las especies. También son mesófilos y no esporulados. Su metabolismo es aerobio. Como sustancia de reserva utilizan el polihidroxibutirato.

Xanthomonas: es un género de Proteobacteria, muchos de los cuales causan enfermedades de las plantas. La mayoría de las variedades de *Xanthomonas* están disponibles en la Colección Nacional de Plantas bacterias Patógenas (NCPBP) en el Reino Unido.

Chryseomonas: Las *Chryseomonas* sólo rara vez se ha reportado como un patógeno bacteriano humano. Se ha demostrado que este organismo, en particular, afecta a pacientes con trastornos de la salud o la mora.

Flavimonas: *Flavimonas oryzihabitans*, antes conocido como *Pseudomonas oryzihabitans*, CDC grupo Ve 2 o *Chromobacterium typhiflavum*, es un bacilo gram negativo, no fermentador, que presenta un color amarillo característico. Se trata de una bacteria frecuentemente recuperada de ambientes tales como plantaciones de arroz, suelos y agua estancada; sin embargo, también se encuentra en el ámbito hospitalario (lavabos, equipos de inhalación y otras superficies ambientales).

ANEXO I: PRÁCTICAS DE LABORATORIO

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 1

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO Y METODOS DE SIEMBRA

1. OBJETIVO:

Preparar TSA (TrypticSoy Agar) para sembrar microorganismos con la aplicación de estrictas normas de limpieza y esterilización tanto de materiales y equipos que permitan obtener cultivos viables para la investigación.

2. MATERIALES:

2.2 Elaboración del medio

- ✓ Espátula
- ✓ Algodón
- ✓ Papel Aluminio
- ✓ Matraz (según la cantidad de agar a preparar)
- ✓ Cajas petri de plástico o vidrio
- ✓ Papel Parafilm
- ✓ Probeta

2.3 Siembra, aislamiento y replicación de microorganismos

- ✓ Cajas o tubos con agar PDA, TSA
- ✓ Asas de platino de punta redonda (asa bacteriológica)
- ✓ Asas de platino de punta llana (asa para hongos)
- ✓ Corchos de algodón
- ✓ Cinta parafilm
- ✓ Lámpara de alcohol

3. SUSTANCIAS O REACTIVOS:

3.1 Elaboración del medio

- ✓ TrypticSoy Agar (TSA)

- ✓ Agua Destilada

3.2 Siembra, aislamiento y replicación de microorganismos

- ✓ Muestras de agua (agua, pulpa, sedimento provenientes de la actividad minera)
- ✓ Microorganismos aislados contenidos en tubos o cajas petri.

4. EQUIPOS:

4.1 Elaboración del medio

- ✓ Balanza Digital
- ✓ Hornilla
- ✓ Autoclave
- ✓ Agitador

4.2 Siembra, aislamiento y replicación de microorganismos

- ✓ Mechero Bunsen
- ✓ Cámara de flujo Laminar
- ✓ Pipeta con puntas estériles

5. MARCHA ANALÍTICA:

5.1 Preparación del Medio

- ✓ Para la preparación del medio de cultivo escogemos el agar adecuado TSA, para bacterias y PDA, para hongos.
- ✓ Pesamos el agar en una balanza analítica de acuerdo a las especificaciones de la MERCK con respecto a la relación peso- volumen que difiere para cada medio.

TSA = 40 g de agar en un litro de agua destilada

PDA = 39 g de agar en un litro de agua destilada

- ✓ Procedemos a medir en la probeta la cantidad requerida de agua. Mezclamos los dos componentes en un matraz. Lo tapamos con algodón y papel aluminio y

llevamos a la hornilla agitando constantemente durante 15 minutos hasta obtener una mezcla homogénea.

- ✓ Autoclavamos durante 30 minutos, controlando la presión para evitar cualquier percance.
- ✓ Una vez que el agar está listo, colocamos inmediatamente una cantidad aproximada de 10 ml tanto en tubos como en cajas petri antes de que el agar solidifique.
- ✓ Dejamos enfriar y tapamos. Para los tubos de ensayo se deberá contar con un soporte inclinado (forma pico de clarín). Los tubos deberán estar sellados con tapones de algodón mientras que las cajas petri se cierran con cinta parafilm.

5.2 Métodos de Siembra

Debemos tener listo ya el inóculo, cajas o tubos que contienen el agar específico para cada caso.

Para realizar la siembra del inóculo en el agar el área de trabajo (cámara de flujo laminar) debe ser desinfectada con alcohol para evitar contaminación; también es recomendable trabajar con un mechero para garantizar la esterilización de la atmósfera de trabajo.

Para la primera siembra del inóculo en las cajas utilizamos 3 tipos de muestras contaminadas de cianuro.

- Muestra A= Agua
- Muestra B= Agua y sedimento (pulpa)
- Muestra C= sedimento

- ✓ La muestra solida (C) es diluida con agua destilada en un vaso de precipitación, mezclamos con la ayuda de una varilla de vidrio para facilitar la siembra en las cajas petri, al igual que las muestras A y B que son homogenizadas previa su inoculación en las cajas con agar.
- ✓ Una vez sembradas las muestras, sellamos las cajas con parafilm y codificamos en función del tipo de muestra (A, B, C) y el número de inóculo (1, 2,3...). Así tenemos varias cajas por cada categoría (A1, A2,....., B1, B2..., y C1, C2...).
- ✓ Las colocamos en un lugar limpio y seco durante 72 horas hasta ver las diferentes coloraciones en cada caja producto del crecimiento de colonias bacterianas y esporas de hongos. Finalmente con la ayuda de un marcador permanente codificamos cada una de las cajas en relación a cada microorganismo observado; es así que en la caja A1 encontramos bacterias A11, A12, A13, etc.

6. RESULTADOS:

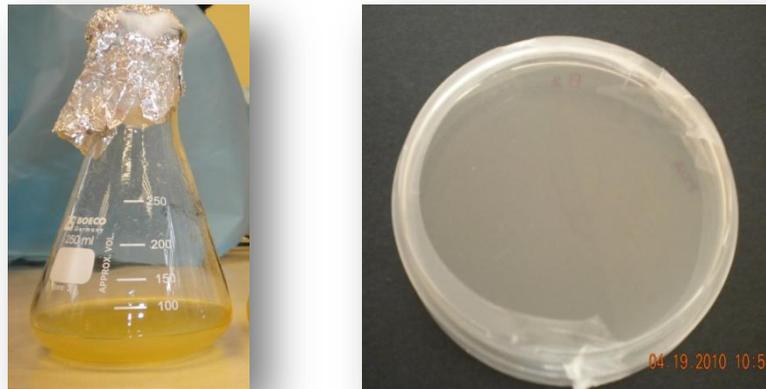


Ilustración 1: Matraz con agar preparado y como producto final caja petri con medio solidificado listo para su uso



Ilustración 2: Caja petri después de la siembra. Observamos microorganismo #1 y microorganismo #2

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 2
AISLAMIENTO DE CEPAS NATIVAS Y REACTIVACION DE
***PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ATCC 49838**

1. OBJETIVOS:

- ✓ Obtener cultivos puros para su posterior uso e identificación.
- ✓ Realizar una correcta reactivación de las *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838 (cepas liofilizadas), evitando la contaminación del medio y aplicando medidas de esterilización y limpieza.

2. MATERIALES:

2.1 Aislamiento de cepas nativas

- ✓ Tubos de ensayo con TSA en pico de clarín.
- ✓ Asas de platino de punta redonda
- ✓ Asas de platino de punta llana
- ✓ Corchos de algodón
- ✓ Cajas petri con hongos y bacterias

2.2 Reactivación de *Pseudomonas Fluorescens*

- ✓ Cajas petri con TSA
- ✓ Papel Parafilm
- ✓ Estufa

3. SUSTANCIAS O REACTIVOS:

3.1 Aislamiento de cepas nativas

- ✓ Tryptic Soy Agar (TSA)

3.2 Reactivación de *Pseudomonas Fluorescens*

- ✓ Duopack con bacteria *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838 (hisopos)

4. EQUIPOS:

4.1 Aislamiento de cepas nativas y reactivación de *Pseudomonas Fluorescens*

- ✓ Mechero Bunsen
- ✓ Cámara de flujo Laminar

5. MARCHA ANALÍTICA

5.1 Aislamiento de cepas nativas

- ✓ Para el aislamiento de cepas nativas procedemos a esterilizar el área de trabajo, en este caso la cámara de flujo laminar. Con la ayuda del mechero quemamos las asas de platino al rojo vivo y empezamos aislando las bacterias codificadas que se encuentran en las cajas petri. Antes de hacer el contacto con la bacteria debemos enfriar el asa en agar puro, este paso se puede hacer en la misma caja en un lugar donde no haya crecimiento microbiano. El momento del raspado de la bacteria debemos procurar solo extraer la bacteria de interés, evitando despegar el agar de la caja petri.

- ✓ Cuando la bacteria haya sido raspada con la punta redonda del asa procedemos a sembrarla en los tubos de ensayo los cuales contienen el agar a modo de pico de clarín (terreno fresco). Como estamos haciendo el trasplante de cajas a tubos tomamos el tubo en la mano derecha, porque en este caso la caja se encuentra cerca del mechero en el mesón de la cámara de flujo laminar. Una vez quitado el algodón del tubo lo acercamos a la llama del mechero para esterilizar; mientras que, en la otra mano tenemos ya el asa con la bacteria y la insertamos en el tubo procurando que la bacteria levemente toque el agar, debemos expandir el microorganismo es zigzag, esterilizamos nuevamente el tubo en la llama y tapamos con la mota de algodón.

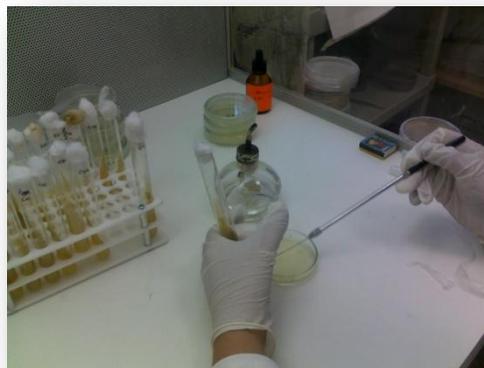
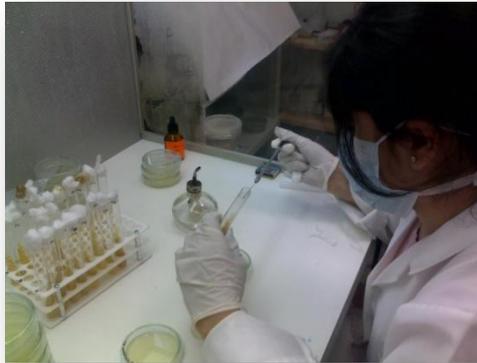


Ilustración 3: Aislamiento y siembra de microorganismos.

5.2 Reactivación de *Pseudomonas Fluorescens*

- ✓ Para la reactivación de las *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838 debemos tener la cámara de flujo laminar completamente desinfectada. En la cámara debemos contar con cajas petri que contengan TSA y además un mechero bunsen para garantizar la esterilización del lugar de trabajo. Una vez que utilizemos mandil, guantes y mascarilla procedemos a abrir el paquete que contiene la bacteria. Dentro de este paquete nosotros encontramos un hisopo dentro de un contenedor plástico color naranja. Para reactivar la bacteria colocamos el hisopo (el cual debe estar tapado) en posición hacia abajo, es decir la cabeza del hisopo debe estar en dirección al suelo. Luego debemos apretar en la parte superior una ampolla de vidrio la cual debe romperse. Una vez rota esta ampolla hacemos que el líquido (solución reactivadora) haga contacto con la parte internade la tapa de

hisopo (contiene la cepa liofilizada), y hacemos contacto con cada una de las cajas petri que contienen TSA.

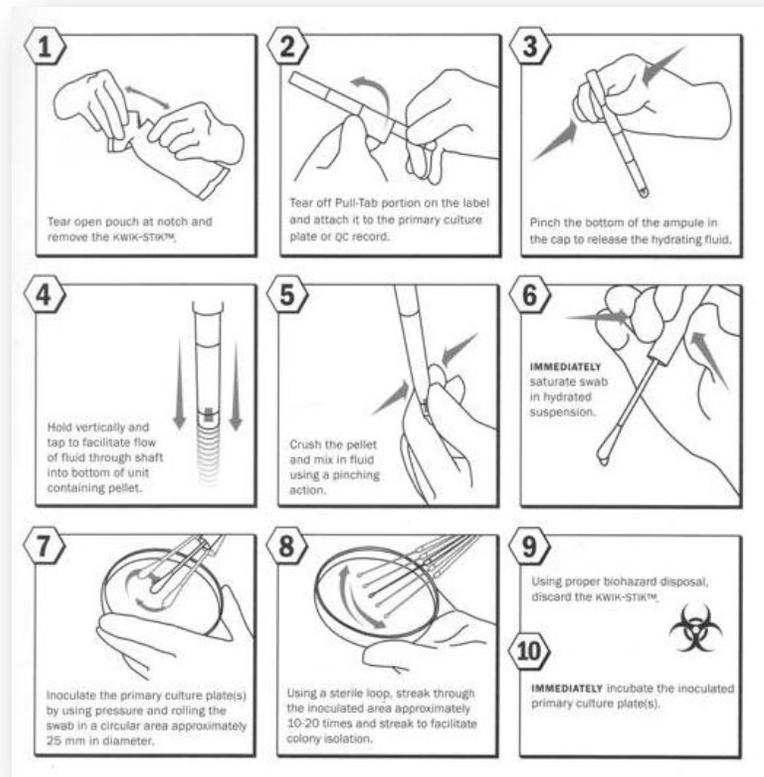


Ilustración 4: Procedimiento de reactivación. Manual Medibac

- ✓ Una vez sembrada la bacteria, sellamos y codificamos cada una de las cajas con la fecha de la siembra.
- ✓ Debemos tener en cuenta que estas bacterias requieren de temperaturas de entre 25 y 30 grados centígrados, es por eso que se recomienda el uso de una estufa para el correcto crecimiento de los microorganismos.
- ✓ Hemos determinado que estas bacterias tienen un periodo máximo de vida de 8 días por lo que para su conservación es necesario usar agar nutritivo en lugar de TSA.

6. RESULTADOS:



Ilustración 5: Reactivación y siembra de *Pseudomonas Fluorescens* ATCC 49838



Ilustración 6: Tubos con microorganismos aislados en pico de clarín

PRÁCTICA DE LABORATORIO# 3

CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

1. OBJETIVO:

Conocer las características morfológicas y estructurales para lograr su correcta identificación.

2. MATERIALES:

- ✓ Algodón
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Asa metálica
- ✓ Cubre objetos
- ✓ Porta objetos
- ✓ Mechero
- ✓ Tubos de ensayo que contenga la bacteria a ser caracterizada.

3. SUSTANCIAS O REACTIVOS:

- ✓ Agua destilada
- ✓ Alcohol
- ✓ Azul de Metileno
- ✓ Fucsina

4. EQUIPOS:

- ✓ Cámara de flujo laminar
- ✓ Autoclave
- ✓ Microscopio
- ✓ Cámara digital

5. MARCHA ANALÍTICA:

Una vez realizado el aislamiento de las bacterias para obtener cultivos puros se procede a realizar la caracterización de cada uno de los tubos obtenidos. Para realizar la caracterización procedemos de la siguiente manera:

5.1 Preparación de Azul de metileno

Para la preparación del azul de metileno empleamos 1 g. de azul de metileno y 100 ml de agua destilada. Se debe mezclar los dos ingredientes hasta disolver completamente. La solución resultante se coloca en un gotero previamente esterilizado, y para terminar lo autoclavamos.

5.2 Preparación del Frotis y coloración de microorganismos

Con un asa bacteriológica se toma una pequeña cantidad del cultivo que se encuentra en el tubo de ensayo y colocamos sobre un portaobjetos limpio y seco. Procedemos a frotarlo y agregamos una gota de azul de metileno, secamos con la ayuda de la llama de un mechero de Bunsen pero sin calentar demasiado, lavamos la placa con agua destilada para quitar el exceso de colorante, nuevamente secamos, colocamos una gota de aceite de inmersión y lo llevamos al microscopio para su observar.

Para que la caracterización se realice de manera correcta se debe verificar que todos los materiales y reactivos sean esterilizados debidamente para evitar que las observaciones en el microscopio proyecten resultados erróneos.

6. RESULTADOS:

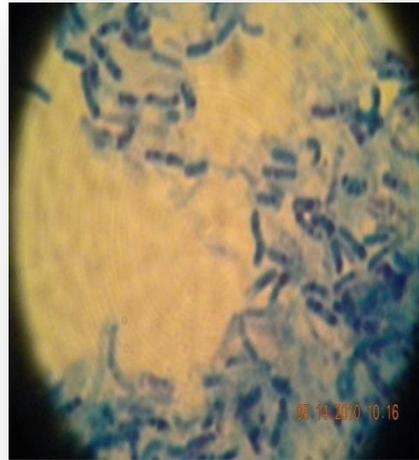


Ilustración 7: Observación al microscopio y caracterización de microorganismos

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 4

REPLICACIÓN A PICO DE CLARÍN DE CULTIVOS PUROS

1. OBJETIVO

Replicar los cultivos puros en tubos de ensayo para su conservación y empleo posterior en pruebas de control biológico y ensayos de biodegradación de cianuro.

2. MATERIALES:

- ✓ Tubos de ensayo con agar TSA
- ✓ Mechero Bunsen
- ✓ Asa bacteriológica
- ✓ Colonias de bacterias
- ✓ Gradillas para tubos

3. EQUIPOS:

- ✓ Cámara de flujo laminar

4. MARCHA ANALÍTICA:

En esta práctica partimos de los microorganismos que ya teníamos sembrados en los tubos. Realizamos un trasplante tubo a tubo para garantizar el cultivo puro, el mismo que se describe a continuación:

- ✓ Se coloca sobre la palma de la mano izquierda cerrándola con el pulgar los dos tubos: con la colonia y con el terreno fresco. Se debe tener cuidado de no contaminarlos con la respiración del operador el momento que se las destapan. Con el asa tomamos una pequeña muestra del tubo que contiene la bacteria u hongo y la colocamos en el tubo limpio en forma de zigzag, pasamos por la llama del mechero la boca de los tubos y tapamos con el algodón, de esta manera realizamos los duplicados necesarios. Luego de 24 horas se puede ver como las bacterias comienzan a desarrollarse en el agar empleado.

- ✓ Es importante no olvidar que el tapón de algodón para el tubo no debe ser muy flojo sino más bien apretado para así prevenir alguna contaminación del terreno de cultivo presente en el tubo y emplear siempre mascarilla. Se debe realizar esta técnica rápidamente para evitar que se contamine el tubo.

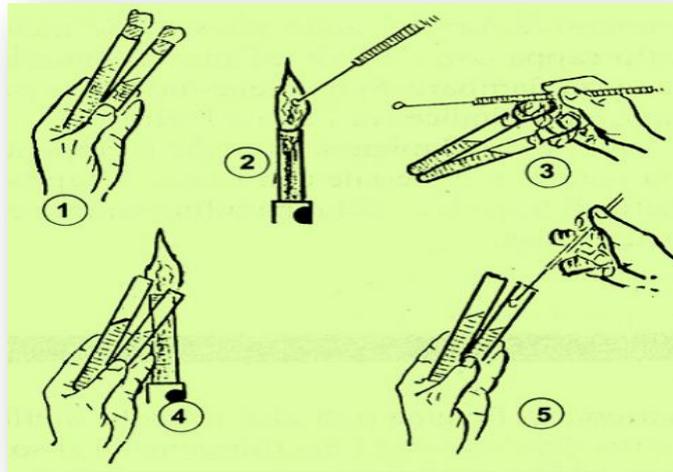


Ilustración 8:Trasplante sobre agar inclinado

5. RESULTADOS



Ilustración 9: Replicación de cultivos puros en agar pico de clarín.

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 5
PRUEBAS DE ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA FRENTE A SALES DE
CIANURO

1. OBJETIVO:

- ✓ Determinar el desarrollo de las bacterias seleccionadas en un medio que contengan sales de cianuro a diferentes concentraciones (500ppm, 1000 ppm y 2000ppm).

2. MATERIALES

- ✓ 12 Cajas petri vacías
- ✓ 12 cajas petri previamente llenadas con TSA
- ✓ Cinta parafilm
- ✓ Asa bacteriológica
- ✓ Colonias de bacterias
- ✓ Vaso de precipitación de 250 ml
- ✓ Matraz de Erlenmeyer de 250 ml
- ✓ Tubos de ensayo que contengan la bacteria a ser caracterizada

3. SUSTANCIAS Y REACTIVOS:

- ✓ Cianuro

4. EQUIPOS:

- ✓ Cámara de flujo laminar

5. MARCHA ANALÍTICA:

Para determinar la actividad microbiológica frente a sales de Cianuro de sodio, se seleccionaron 12 tubos que presentaban las mejores características de desarrollo y con estas se realizaron las pruebas, para cada tubo se prepararon dos cajas petri, una con agar simple a la cual se agregará una solución de cianuro, y otra que contiene una mezcla de TSA y cianuro, ésta última considerando que el solvente es el agar.

5.1 Preparación de Cajas

- ✓ **Elaboración de solución de CN:** para elaborar tres soluciones de Cianuro (500 ppm, 1000 ppm y 2000 ppm), llenamos 3 vasos de precipitación con 100cc de agua destilada, a los cuales adicionamos 0.5gr, 0.1 gr y 0.2gr respectivamente para formar las soluciones de NaCN a las concentraciones especificadas anteriormente.
- ✓ **Elaboración Agar con CN:** Se preparó agar TSA normalmente al cual esterilizamos en el autoclave por 15 minutos, sellando el matraz con algodón, papel aluminio y cinta adhesiva. En este caso el cianuro a diferentes concentraciones se lo adiciona una vez preparado el agar para así evitar que se generen perdidas del mismo por volatilización. La cantidad de agar a preparar está en función de la cantidad de cajas petri requeridas, ya que cada una es llenada con aproximadamente 12cc. Llenamos las cajas con la preparación, dejamos solidificar y sellamos con cinta parafilm.

5.2 Siembra de las bacterias en las cajas:

- ✓ **Cajas con Agar simple:** antes de realizar la siembra de las bacterias, con la ayuda de un marcador permanente se dibujó en la parte posterior de la caja una línea en el centro, de un extremo a otro y a la derecha de marcó con un punto, que sirvió para identificar el crecimiento de la bacteria. Luego de haber realizado ésta operación procedemos a sembrar.
- ✓ Con la ayuda del asa tomamos una muestra de la bacteria seleccionada y sobre la raya trazada la depositamos, luego en el punto dibujado colocamos una gota de la solución de cianuro que fue preparada con anterioridad, e inmediatamente procedemos a sellar la caja con cinta parafilm.
- ✓ **Cajas con TSA y cianuro:** como estas cajas ya contiene cianuro simplemente colocamos con el asa una pequeña muestra de la bacteria sobre el agar en forma de zigzag, luego tapamos y sellamos. Como en esta práctica se maneja sales de

CN es recomendable emplear mascarillas y guantes para evitar intoxicaciones por inhalación de cianuro para lo cual es indispensable aplicar todas las medidas de bioseguridad requeridas.

6. RESULTADOS:



Ilustración 10: Actividad biológica del microorganismo A74 y su comportamiento frente a sales de cianuro.

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 6
MEDIDA DEL CRECIMIENTO BACTERIANO

1. OBJETIVO:

- ✓ Estimación del crecimiento bacteriano mediante la determinación de la densidad celular o densidad bacteriana.

2. MATERIALES:

- ✓ 1 matraz volumétrico de 1000cc
- ✓ 1 matraz volumétrico de 500cc
- ✓ 1 matraz volumétrico de 250cc
- ✓ 1 vaso de precipitación de 50cc
- ✓ 1 vaso de precipitación de 100cc
- ✓ Tapones de algodón para matraz
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Gasa estéril de aprox. 3cm²
- ✓ 1 asa bacteriológica
- ✓ 1 cámara de Neubauer
- ✓ 1 Pipeta Pasteur
- ✓ Puntas plásticas estériles para pipeta Pasteur
- ✓ Alcohol industrial
- ✓ Mechero de Bunsen
- ✓ Papel para limpieza de lentes de microscopio (papel de arroz)
- ✓ Guantes quirúrgicos
- ✓ Mascarilla

3. SUSTANCIAS O REACTIVOS:

- ✓ Agar TSA (Tryptic Soy Agar)
- ✓ Agua destilada
- ✓ Tween 80

4. EQUIPOS:

- ✓ Autoclave
- ✓ Cámara de flujo laminar
- ✓ Microscopio

5. MARCHA ANALÍTICA:

5.1 Preparación de matraces con agar.

- ✓ Preparamos TSA en función de la relación de 40gr de agar por cada 1000cc (1 lt.) de agua destilada¹, y sometemos a esterilización en el autoclave por un tiempo aproximado de 45 minutos conjuntamente con el material de vidrio, puntas plásticas para pipeta y el agua destilada necesaria para la suspensión.
- ✓ Limpiamos el área de trabajo (Cámara de flujo laminar) utilizando alcohol y solución de hipoclorito de sodio, para luego proceder a llenar los matraces de 250cc de capacidad con 40cc de agar medidos en un vaso de precipitación.
- ✓ Dejamos que solidifique el agar y tapamos los matraces con tapones de algodón.
- ✓ Tomamos el cultivo puro de la bacteria a analizarse, lo destapamos y lo flameamos a la llama del mechero, agregamos a éste agua destilada y esterilizada fría hasta que cubra el agar, lo tapamos y agitamos cuidadosamente hasta que la bacteria se desprenda.
- ✓ Depositamos la suspensión bacteriana en el matraz hasta que cubra toda la superficie del agar.
- ✓ Cubrimos la boca del matraz con aluminio antes y después de la siembra.
- ✓ Incubamos durante un periodo de 7 días a una temperatura ambiente de 25⁰C.

¹La cantidad agar a prepararse dependerá del número de matraces a utilizarse.

5.2 Preparación de suspensión de bacterias

- ✓ Tomamos el matraz con el inóculo bacteriano, flameamos la boca a la llama del mechero.
- ✓ Adicionamos al matraz 100cc de agua destilada previamente esterilizada y enjuagamos desprendiendo con cuidado las bacterias con la ayuda de un asa bacteriológica estéril.
- ✓ En un matraz de 500cc de capacidad colocamos la gasa estéril para filtrar la suspensión anterior.
- ✓ Realizamos el procedimiento 5 veces hasta completar 500cc de suspensión.

5.3 Conteo de bacterias en el hematocímetro o cámara de Neubauer

- ✓ Limpiar la cámara cuidadosamente con etanol, la dejamos secar al ambiente y luego la pasamos con papel de arroz.
- ✓ Con la ayuda de una pipeta suspendemos una gota de la solución a analizar sobre el portaobjeto y dejamos que se disperse.
- ✓ Colocamos el cubreobjetos cuidando de no formar burbujas de aire. Caso contrario debemos repetir la operación lavando y secando el portaobjetos. Al colocar el cubreobjetos sobre el portaobjetos se tiene una profundidad de 0,1 mm de forma que el volumen contenido en cada uno de los cuadrados grandes será $0,1 \text{ mm}^3$ ($1,0 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm} = 0,1 \text{ mm}^3$).
- ✓ Colocamos la cámara de Neubauer en la platina del microscopio y enfocamos con el objetivo 10x. Se enfoca de manera que en el campo se cubra un cuadrado cuya área corresponda a 1 mm^2 , generalmente se trabaja con el cuadro central. El

área del cuadro central es de 1 mm^2 y se encuentra subdividida en 25 cuadrados. Cada uno de estos cuadrados mide 0,2 mm de lado, por lo que el área de cada uno será de $0,04 \text{ mm}^2$.

- ✓ Una vez ubicada la cuadrícula de 25 cuadros de $0,04 \text{ mm}^2$, hacemos un cambio de lente al objetivo 40x y contamos las células que se encuentran en el mismo.

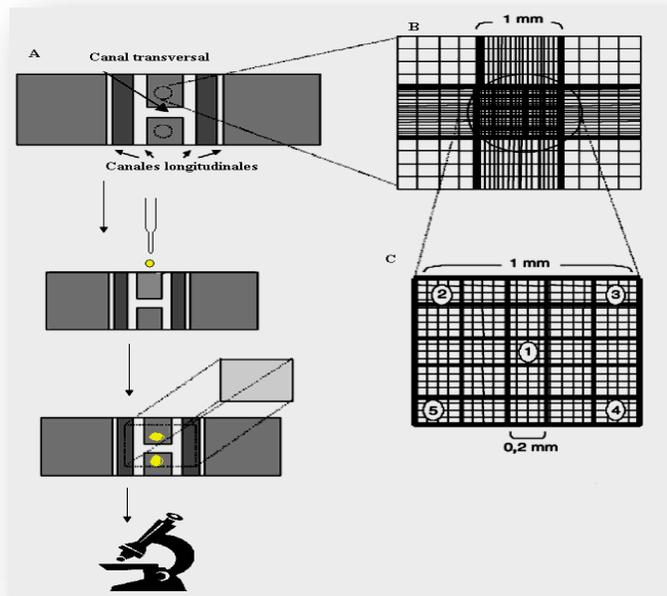


Ilustración 11: Procedimiento de conteo en la cámara de Neubauer

- ✓ Para alcanzar resultados más exactos se recomienda tener un conteo entre 200 y 300 células por muestra. Cuando en el cuadro central existen menos de 200 células, es necesario revisar más cuadros para el conteo. Se sugiere continuar el conteo en los cuatro cuadros que forman las esquinas de la cuadrícula. Si aun así no se alcanza las 200 células, se debe contar el total de los 25 cuadrados.
- ✓ En caso de que el número de células sea muy elevado y se dificulte su conteo será necesario diluir la suspensión muestra en una proporción conocida, la que deberá ser tomada en cuenta en la estimación final.

- ✓ Con los resultados obtenidos de conteo procedemos a determinar la densidad celular mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$N_o \text{ de } \frac{\text{células}}{\text{ml}} = \frac{N_o \text{ total de células contadas}}{N_o \text{ de cuadrados de } 0,04 \text{ mm}^2} \times 10.000$$

6. RESULTADOS:

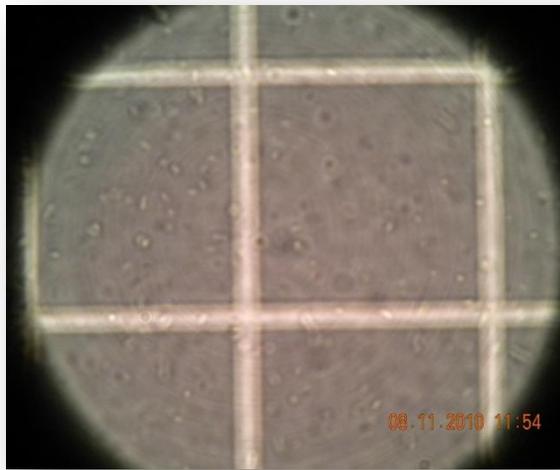


Ilustración 12: Conteo de microorganismos en la cámara de Neubauer al microscopio.

Tabla 1: Resumen del conteo en cámara de Neubauer. Promedio de las dos celdas

MATRAZ	FECHA	CONTEO
A52	21/07/2010	9,15938E+12
C73	22/07/2010	1,63438E+13
C31	22/07/2010	1,51906E+13
C41	26/07/2010	1,35188E+13
A71	26/07/2010	1,72E+13
C72	28/07/2010	1,81438E+13
B31	29/07/2010	6,575E+12
C33	29/07/2010	2,05438E+13
A75	08/02/2010	2,95906E+13
<i>P. Fluorescens</i>	08/11/2010	1,18563E+13
A74	16/8/2010	1,93063E+13
A42	16/8/2010	1,94125E+13
MÁXIMA	A75	2,95906E+13
MÍNIMA	B31	6,575E+12
MEDIANA	C11; C73	1,67719E+13

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 7

BIOENSAYOS

1. OBJETIVO:

- ✓ Determinar la variación de la cantidad de cianuro biodegradado por los tres microorganismos seleccionados durante un periodo 12 días.

2. MATERIALES:

2.2 Preparación del medio

- ✓ Envases plásticos esterilizados de 1lt.
- ✓ Probeta de 100 y 1000 ml.
- ✓ Pipetas graduadas de 1 y 10 ml.
- ✓ Varilla de agitación

2.3 Inoculación de Bacterias

- Matraces de 250 ml
- Varilla de vidrio
- Pipetas graduadas de 1 y 10 ml.
- Algodón
- Gasa estéril
- Papel aluminio

3. SUSTANCIAS O REACTIVOS:

3.1 Preparación del medio

- Bicarbonato de Sodio 0,1M
- Carbonato de Sodio 0,1 M
- Agua destilada

3.2 Inoculación de Bacterias

- Solución a pH de 9,2
- Solución a pH de 9,6

- Suero glucosado al 10%.

4. EQUIPOS:

- pHí metro
- Balanza analítica
- Autoclave

5. MARCHA ANALÍTICA:

Para realizar los bioensayos se empleó Buffer a dos pH: 9.2 y 9.6, en el cual colocaremos posteriormente la bacteria y el cianuro.

- **Preparación del Buffer**

Para comenzar con la preparación del Buffer se debe contar con las siguientes soluciones:

- ✓ Solución A: 84 gr de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) en agua destilada hasta completar 1lt.
- ✓ Solución B: utilizamos 106 gr de carbonato de sodio (Na_2CO_3) que será disuelta en agua destilada hasta completar 1 lt.

Una vez que ya se tienen listas las soluciones procedimos a preparar de la siguiente manera los buffers:

- ✓ **Buffer a 9.2:** 67,6 ml de solución A, 10,8 ml de solución B y 921,6 ml de agua destilada.
- ✓ **Buffer a 9.6:** empleamos 45,3 ml de solución A, 18,2 ml de solución B y 936,5 ml de agua destilada.

- **Preparación de diluciones bacterianas:**

Días antes de realizar los bioensayos sembramos las bacteria seleccionadas A74, C33 y *Pseudomonas Fluorescensen* matraces de 250 ml. que contiene 40 ml de agar TSA solidificado.

Dejamos que la bacteria crezca por un periodo de 7 días y empleamos matraces de 500 ml. Realizamos las diluciones de cada bacteria sembrada.

5.1 Preliminares

Para preparar los ensayos preliminares esterilizamos 18 matraces Erlenmeyer en el autoclave. Una vez esterilizados llenamos los primeros nueve con 250 ml de buffer 9.2 y los restantes con 250 ml de buffer 9.6. A todos los matraces agregamos la cantidad de 0.055 gr de NaCN previamente pesados en una balanza de precisión. A tres matraces con Buffer a 9.3 y tres matraces con buffer 9.6 se le agregó 5 ml de la dilución de la bacteria A 74 y así respectivamente con las otras dos bacterias. Se les agitó con la ayuda de una varilla y se les colocó un tapón de algodón y gasa. Se rotularon los matraces con el nombre de cada bacteria y el pH del buffer con los que fueron llenados y se los colocó en un lugar en el cual no haya incidencia directa del sol.

5.2 Bioensayos

Esterilizamos 36 matraces, en la mitad colocamos 250 de Buffer a 9.2 y en los restantes colocamos 250 de Buffer a 9.6. Adicionamos los 0.055 gr. de NaCN y 2.5 ml y dextrosa a cada uno de ellos y agitamos con la varilla. A 12 matraces le adicionamos 10 ml de bacteria A74 y realizamos la misma operación con las otras dos bacterias. Una vez que están listos con sus respectivos nombres colocamos 18 matraces en la estufa a 32 °C y el resto dejamos a temperatura ambiente.

5.3 Testigos

Se prepararon 12 matraces, los 6 primeros con 250 ml de Buffer 9.2 y 0.055 gr de NaCN y posteriormente fueron colocados en la estufa a 32 °C, los seis restantes se llenaron con buffer a 9.6 y se le adicionaron 0.055 gr de NaCN y por último fueron colocados en un lugar que no esté expuesto al sol.

6. RESULTADOS:



Ilustración 13: Soluciones testigos preparados en matraces de 250 ml a temperatura ambiente.



Ilustración 14: Soluciones bioensayos preparados en matraces de 250 ml a temperatura ambiente.

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 8

CLASIFICACION DE BACTERIAS MEDIANTE LA TINCION DE GRAM

1. OBJETIVO:

- ✓ Clasificar las bacterias empleadas en la investigación por el método de Tinción de Gram para poder realizar su respectiva caracterización.

2. MATERIALES:

- ✓ Goteros
- ✓ Pipetas
- ✓ Portaobjetos
- ✓ Asa Bacteriológica

3. SUSTANCIAS O REACTIVOS:

- ✓ Suspensión de cultivo bacteriano
- ✓ Solución de violeta genciana
- ✓ Solución de Lugol
- ✓ Alcohol al 95 %
- ✓ Solución Fucsina o Safranina para contrateñir

4. EQUIPOS:

- ✓ Mechero Bunsen
- ✓ Microscopio con lente de inmersión

5. MARCHA ANALÍTICA:

Tomamos con la ayuda del asa bacteriológica una pequeña muestra de la bacteria a ser clasificada, la colocamos en un portaobjetos y procedemos a realizar la extensión mediante movimientos giratorios, de tal forma que al terminar la operación, tengamos como producto una espiral en la parte media de la lámina de 1cm^2 de área . Dejamos por algunos minutos para que se seque la muestra.

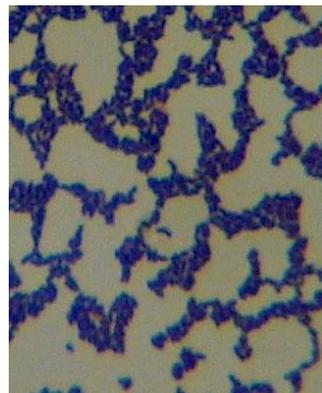
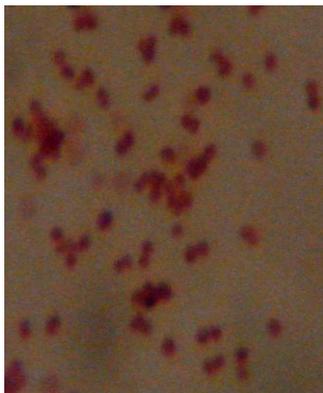
Para realizar la tinción empleamos una cantidad suficiente de violeta de genciana como para cubrirla por completo. Dejamos actuar al colorante por 1 minuto. Una vez que ha pasado el minuto procedemos a enjuagar el portaobjetos con agua corriente, teniendo en cuenta que el chorro de agua no caiga directamente sobre la muestra.

Una vez enjuagado el portaobjetos, se aplica como mordiente yodo o lugol durante 1 minuto más. Pasado el minuto de haber actuado el mordiente, el frotis se decolora con alcohol al 95 % hasta que ya no escurra más líquido azul.

Terminada esta operación lavamos el portaobjetos con agua para quitar los residuos del decolorante y esperamos hasta que se seque ya sea al aire libre o empleando la llama de un mechero.

Cuando el portaobjetos ya esté seco teñimos nuevamente empleando safranina y dejamos actuar durante 1 minuto. Luego de esto se procede a enjuagar con agua, se escurre el agua sobrante y se deja secar. Ya realizada la última acción procedemos observar en el microscopio. Las bacterias Gram positivas se pueden observar de color púrpura – violeta mientras que las Gram negativas de color rojizo-rosado.

6. RESULTADOS:



A74 – Gram positiva – *Bacillus sp.* A75 - Gram negativo - *Diplococos sp.*

Ilustración 15: Bacterias grampositivas y gram negativas identificadas.

PRÁCTICA DE LABORATORIO # 9
DETERMINACIÓN DE CIANUROS EN AGUA

1. OBJETIVO:

- ✓ Determinar la concentración de cianuro presente en cada una de las muestras tomadas de los biorreactores durante un periodo 12 días con una frecuencia de 4 días.

2. MATERIALES:

- Matraces de 250 ml
- Probeta de 100ml
- Pipetas graduadas de 1 ml.
- Algodón
- Gasa estéril
- Gradilla metálica para tubos

3. SUSTANCIAS O REACTIVOS:

- Test de cianuros
- Certipur cianuros solución patrón
- Ácido sulfúrico
- Varillas indicadoras de cianuro
- Agua destilada
- Tubos Hatch
- Cianuro de sodio
- Solución Buffer carbonato pH 9.2
- Solución Buffer carbonato pH 9.6

4. EQUIPOS:

- pHí metro
- balanza analítica

- Plato Agitador CORNING.
- Termorreactor
- Type 16700 Mixer
- Espectrofotómetro NOVA 400

5. MARCHA ANALÍTICA:

Primeramente se procedió a preparar soluciones de cianuro de sodio empleando como solvente 250 cc de soluciones Buffer a dos pH: 9.2 y 9.6; y como soluto 0,055 gr de cianuro de sodio para obtener así soluciones de concentración aproximada a 220 ppm.

Sin embargo, considerando que el método de análisis mide únicamente CN^- y no compuestos como NaCN la concentración real aproximada a ser medida y corroborada por este procedimiento es 116,7 ppm.

Determinación de cianuros en muestras de agua.

La marcha indica que para proceder a la preparación de las muestras a ser medidas, el pH de las mismas debe oscilar entre 5 y 6; razón por la que procedimos a adicionar una gotas de ácido sulfúrico.

- Se verifica el equipo de espectrofotometría con filtros y se limpia el exterior de la cubeta.
- En un tubo tapa rosca colocamos 10 ml de la muestra.
- Añadimos en la muestra una gota del reactivo uno denominado CN-1, cerramos y agitamos brevemente.
- Calentamos los tubos a 120°C durante 30 minutos en el Termorreactor precalentado.



Ilustración 16: Termoreactor

- Los dejamos enfriar en una gradilla metálica a temperatura ambiente.
- Una vez que se enfrían agitamos ligeramente el tubo antes de abrirlo y añadimos inmediatamente 3 gotas del segundo reactivo CN-2, lo cerramos firmemente y mezclamos.
- De cada tubo tapa rosca pipeteamos 5 ml de muestra y añadimos una microcuchara verde rosa de CN-3, cerramos y agitamos.
- A la preparación anterior de cada tubo agregamos una microcuchara de azul rosa CN – 4 y agitamos vigorosamente hasta que se haya disuelto completamente para ello nos ayudamos con un Type 16700 Mixer.



Ilustración 17: Mixer 16700

- Dejamos reposar 10 minutos para que reacciones los componentes.
- Colocamos la muestra en la cubeta y medimos en el espectrofotómetro.

6. RESULTADOS:



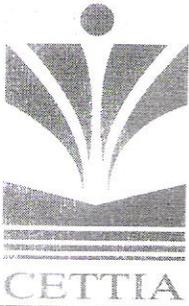
Ilustración 18: Determinación de las concentraciones de cianuro por espectrofotometría

Tabla 2: Registro de los resultados de concentraciones de cianuro por espectrofotometría

CONCENTRACIÓN DE CIANURO EN MUESTRAS ppm*		
REPETICIONES	pH	
	9,6	10
1	0,564	0,565
2	0,56	0,563
PROMEDIO	0,562	0,564

*La capacidad máxima de medición del equipo es de 0,500 mg/lit. Razón por la que los resultados arrojados corresponden a 10 veces la cantidad de cianuro pesado.

El pH de la solución se incrementa en 0.4 al adicionar las sales de cianuro, es por ello que en la tabla se muestran valores de 9.6 y 10 respectivamente.



UNIVERSIDAD TECNICA PARTICULAR DE LOJA
LABORATORIO CETTIA-UTPL

Informe de Ensayo

FECHA DEL INFORME: 2010-03-29
INFORME No. 983
SOLICITUD DE ANALISIS: 3695

INFORMACIÓN DEL CLIENTE:

NOMBRE: Srta. Johana Ochoa
DIRECCION: Cdla. de los Ingenieros
TELEFONO: 099078341 FAX: n/e E-mail: n/e

DATOS GENERALES DE LAS MUESTRAS:

DESCRIPCION: Muestra 1 Agua proyecto de tesis
CONDICION: La muestra llega en envase estéril.
FECHA DE RECEPCION: 2010-03-16

INFORMACIÓN GENERAL:

El informe de ensayo no se puede reproducir parcialmente, excepto en su totalidad con la aprobación escrita del laboratorio.
Los resultados representan exclusivamente la muestra (s) analizada (s).
U: Incertidumbre expandida con un 95% de confianza.
UFC: Unidad formadora de colonias
*Norma de calidad ambiental y descarga de afluentes:Recurso Agua/Limites de descarga a un cuerpo de agua dulce
n.a: No aplica.
n.d: No disponible.
n.e: No específica.
< 1: No desarrollo de colonias. Ausencia

RESULTADOS:

DETERMINACIÓN	FECHA DE ANÁLISIS		MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS	U	LDD	REQUISITOS DEL PRODUCTO		FUENTE DE LOS REQUISITOS O REFERENCIA
	INICIO	FIN						Min.	Máx.	
Muestra 01										
Cianuro	2010-03-26	2010-03-26	LIA-NOVA-001	mg/l	220,00	-	0,002	0	0,1	*

Ing. Myriam Jacome
LÍDER DE CALIDAD

Ing. Miguel Guamán
LÍDER TÉCNICO (E)

FIN DEL INFORME





ETAPA
ENTIDAD TITULAR DE APROVECHAMIENTO DE RECURSOS HÍDRICOS
AGUA POTABLE, DE CONTROL Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTIÓN AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

INFORME DE RESULTADOS

Página 1 de 2

FECHA: 2010/10/29

INFORME N°: 599/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 599/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/25
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 599/01/10	A74 9.28 R2 599/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	12.97	11.89

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 599/03/10	A74 9.6 R1 599/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	12.97	12.97

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 599/05/10	A74 9.6 R3 599/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	12.97	14.05

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorec e 9.6 R1 599/07/10	Pseudofluorec e 9.6 R2 599/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	9.73	9.73

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorec e 9.6 R3 599/09/10	Pseudofluorec e 9.28 R1 599/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	9.73	12.97

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorec e 9.28 R2 599/11/10	Pseudofluorec e 9.28 R3 599/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	11.89	9.73

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 599/13/10	C33 9.6 R2 599/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	10.81	14.05

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, AL CANTARILLADO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 599/15/10	C33 9.28 R1 599/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	7.58	9.73

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 599/17/10	C33 9.28 R3 599/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/25	mg/l	9.73	14.05

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.

**ETAPA**
EMPRESA MUNICIPAL DE TRATAMIENTO DE AGUA POTABLE,
ALCANTARILLADO Y SANEAMIENTO**LSGA**LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/10/25

INFORME N°: 582/10

CLIENTENOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca**MUESTRA**CODIGO: 582/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/18
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 582/01/10	A74 9.28 R2 582/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	32.43	31.35

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 582/03/10	A74 9.6 R1 582/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	32.43	32.43

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 582/05/10	A74 9.6 R3 582/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	35.67	31.34

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R1 582/07/10	Pseudofluorece 9.6 R2 582/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	32.43	32.43

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R3 582/09/10	Pseudofluorece 9.28 R1 582/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	30.27	36.75

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.28 R2 582/11/10	Pseudofluorece 9.28 R3 582/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	46.48	35.67

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 582/13/10	C33 9.6 R2 582/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	33.51	34.59

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE ESTUDIOS AMBIENTALES,
AGUA POTABLE, AL CANTARILLADO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. – Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 582/15/10	C33 9.28 R1 582/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	28.11	31.35

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 582/17/10	C33 9.28 R3 582/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/18	mg/l	31.35	34.59

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES
AGUA POTABLE, ALCANFARILLOS Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/10/27

INFORME N°: 595/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 595/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/21
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 595/01/10	A74 9.28 R2 595/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	18.38	19.46

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 595/03/10	A74 9.6 R1 595/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	20.54	18.38

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 595/05/10	A74 9.6 R3 595/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	21.62	19.46

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R1 595/07/10	Pseudofluorece 9.6 R2 595/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	17.30	18.38

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R3 595/09/10	Pseudofluorece 9.28 R1 595/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	16.22	19.46

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.28 R2 595/11/10	Pseudofluorece 9.28 R3 595/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	19.46	18.38

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 595/13/10	C33 9.6 R2 595/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	18.38	20.54

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANFARILLADO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. – Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 595/15/10	C33 9.28 R1 595/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	15.13	18.38

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 595/17/10	C33 9.28 R3 595/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/21	mg/l	19.46	23.78

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANTARILLO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 1

FECHA: 2010/10/29

INFORME N°: 597/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 597/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/22
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.28 A R1 597/01/10	9.28 A R2 597/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/22	mg/l	117.83	115.67

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.28 A R3 597/03/10	9.6 A R1 597/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/22	mg/l	117.83	118.91

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 A R2 597/05/10	9.6 A R3 597/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/22	mg/l	116.75	117.83

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 E R1 597/07/10	9.6 E R2 597/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/22	mg/l	115.67	115.67

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 E R3 597/09/10	9.3 E R1 597/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/22	mg/l	116.75	116.75

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 E R2 597/11/10	9.3 E R3 597/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/22	mg/l	115.67	119.99

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANFARILLADO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 1

FECHA: 2010/10/29

INFORME N°: 603/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 603/01-12/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/26
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 R1A 603/01/10	9.3 R2A 603/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/26	mg/l	118.91	117.83

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 R3A 603/03/10	9.6 R1A 603/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/26	mg/l	119.99	122.15

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 R2A 603/05/10	9.6 R3A 603/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/26	mg/l	115.67	118.91

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 R1E 603/07/10	9.6 R2E 603/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/26	mg/l	116.21	108.1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 R3E 603/09/10	9.3 R1E 603/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/26	mg/l	108.1	107.02

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 R2 E 603/11/10	9.3 R3E 603/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/26	mg/l	107.02	108.1

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANTARILLO Y AMBIENTE

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 1

FECHA: 2010/11/05

INFORME N°: 619/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 619/01-14/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/29
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.28 R1A 619/01/10	9.28 R2A 619/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/29	mg/l	114.59	110.26

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.28 R3A 619/03/10	9.6 R1A 619/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/29	mg/l	104.86	97.29

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 R2A 619/05/10	9.6 R3A 619/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/29	mg/l	113.51	112.42

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 R1E 619/07/10	9.3 R2E 619/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/29	mg/l	92.97	101.61

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 R3E 619/09/10	9.6 R1E 619/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/29	mg/l	109.18	107.02

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 R2 E 619/11/10	9.6 R3E 619/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/29	mg/l	104.86	100.53

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.28 B1 619/13/10	9.6 B2 619/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/29	mg/l	123.23	119.99

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.

**ETAPA**
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANFARILLADO Y SANEAMIENTO**LSGA**LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/09/27

INFORME N°: 524/10

CLIENTENOMBRE: UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca**MUESTRA**CODIGO: 524/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/09/20
ENTREGADAS POR: Srta. Johanna Ochoa**RESULTADOS**

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 524/01/10	A74 9.28 R2 524/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	99.0	105.6

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 524/03/10	A74 9.6 R1 524/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	92.4	99.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 524/05/10	A74 9.6 R3 524/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	85.8	92.4

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R1 524/07/10	Pseudofluorece 9.6 R2 524/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	96.8	99.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R3 524/09/10	Pseudofluorece 9.28 R1 524/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	81.4	103.4

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.28 R2 524/11/10	Pseudofluorece 9.28 R3 524/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	92.4	101.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 524/13/10	C33 9.6 R2 524/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	103.4	103.4

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANTARILLO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. – Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 524/15/10	C33 9.28 R1 524/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	99.0	96.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 524/17/10	C33 9.28 R3 524/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/20	mg/l	90.2	110.0

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES
AGUA POTABLE, ALCAZARILLAS Y CABLEADO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/09/28

INFORME N°: 532/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 532/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/09/24
ENTREGADAS POR: Srta. Johanna Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 532/01/10	A74 9.28 R2 532/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	77.0	77.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 532/03/10	A74 9.6 R1 532/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	79.2	79.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 532/05/10	A74 9.6 R3 532/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	74.8	81.4

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R1 532/07/10	Pseudofluorece 9.6 R2 532/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	83.6	63.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R3 532/09/10	Pseudofluorece 9.28 R1 532/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	74.8	74.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.28 R2 532/11/10	Pseudofluorece 9.28 R3 532/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	83.6	81.4

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 532/13/10	C33 9.6 R2 532/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	85.8	85.8

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANFARILLADO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 532/15/10	C33 9.28 R1 532/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	77.0	77.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 532/17/10	C33 9.28 R3 532/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/24	mg/l	68.2	88.0

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALICANTARILLADO Y COSECHA

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/10/04

INFORME N°: 537/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 537/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/09/27
ENTREGADAS POR: Srta. Johana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 537/01/10	A74 9.28 R2 537/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	37.4	37.4

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 537/03/10	A74 9.6 R1 537/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	35.2	46.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 537/05/10	A74 9.6 R3 537/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	41.8	44.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R1 537/07/10	Pseudofluorece 9.6 R2 537/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	48.4	35.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R3 537/09/10	Pseudofluorece 9.28 R1 537/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	39.6	39.6

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.28 R2 537/11/10	Pseudofluorece 9.28 R3 537/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	37.4	44.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 537/13/10	C33 9.6 R2 537/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	50.6	48.4

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANTARILLO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. – Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 537/15/10	C33 9.28 R1 537/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	39.6	44.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 537/17/10	C33 9.28 R3 537/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/27	mg/l	35.2	44.0

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANFARILLADO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/10/04

INFORME Nº: 544/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 544/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/09/28
ENTREGADAS POR: Srta. Marisol Marín

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 544/01/10	A74 9.28 R2 544/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	35.2	28.6

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 544/03/10	A74 9.6 R1 544/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	30.8	13.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 544/05/10	A74 9.6 R3 544/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	26.4	28.6

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R1 544/07/10	Pseudofluorece 9.6 R2 544/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	13.2	8.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R3 544/09/10	Pseudofluorece 9.28 R1 544/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	30.8	11.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.28 R2 544/11/10	Pseudofluorece 9.28 R3 544/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	35.2	8.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 544/13/10	C33 9.6 R2 544/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	6.6	8.8

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES
AGUA POTABLE, ALCANTARILLO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 544/15/10	C33 9.28 R1 544/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	6.6	8.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 544/17/10	C33 9.28 R3 544/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/09/28	mg/l	35.2	33.0

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANTARILLO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/10/08

INFORME N°: 555/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 555/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/01
ENTREGADAS POR: Srta. Johanna Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 555/01/10	A74 9.28 R2 555/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	18.7	16.5

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 555/03/10	A74 9.6 R1 555/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	17.6	2.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 555/05/10	A74 9.6 R3 555/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	15.4	14.3

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R1 555/07/10	Pseudofluorece 9.6 R2 555/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	1.1	1.1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.6 R3 555/09/10	Pseudofluorece 9.28 R1 555/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	<1	<1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorece 9.28 R2 555/11/10	Pseudofluorece 9.28 R3 555/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	19.8	<1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 555/13/10	C33 9.6 R2 555/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	<1	<1

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.

 <p>LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION AMBIENTAL Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. – Cuenca Telf : 2890418 - 2890463</p>	<p>INFORME DE RESULTADOS</p>	<p>Página 2 de 2</p>
---	-------------------------------------	----------------------

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 555/15/10	C33 9.28 R1 555/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	14.3	<1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 555/17/10	C33 9.28 R3 555/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	16.5	19.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	M1 555/19/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/01	mg/l	95.7

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,



Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE FIELES Y OCASIONES
AGUA POTABLE, ALICATORIO, LINDO Y ZORRAQUERA

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 2

FECHA: 2010/10/13

INFORME Nº: 562/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 562/01-18/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/05
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R1 562/01/10	A74 9.28 R2 562/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	12.1	11.0

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.28 R3 562/03/10	A74 9.6 R1 562/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	8.8	2.2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	A74 9.6 R2 562/05/10	A74 9.6 R3 562/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	7.7	8.8

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorec e 9.6 R1 562/07/10	Pseudofluorec e 9.6 R2 562/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	1.1	<1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorec e 9.6 R3 562/09/10	Pseudofluorec e 9.28 R1 562/10/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	12.1	<1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	Pseudofluorec e 9.28 R2 562/11/10	Pseudofluorec e 9.28 R3 562/12/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	7.7	<1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R1 562/13/10	C33 9.6 R2 562/14/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	<1	<1

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TRATAMIENTO DE AGUA POTABLE Y ALICANTARILLADO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. – Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 2 de 2

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.6 R3 562/15/10	C33 9.28 R1 562/16/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	<1	<1

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	C33 9.28 R2 562/17/10	C33 9.28 R3 562/18/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/05	mg/l	8.8	8.8

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANTARILLO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 1

FECHA: 2010/10/11

INFORME N°: 558/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 558/01-08/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/04
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.2 R1 558/01/10	9.2 R2 558/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/04	mg/l	27.5	29.7

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.2 R3 558/03/10	9.6 R1 558/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/04	mg/l	30.8	26.4

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 R2 558/05/10	9.6 R3 558/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/04	mg/l	29.7	27.5

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	M2 558/07/10	M3 558/08/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/04	mg/l	103.4	100.1

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.



ETAPA
EMPRESA MUNICIPAL DE TELECOMUNICACIONES,
AGUA POTABLE, ALCANTRILLADO Y SANEAMIENTO

LSGA

LABORATORIO DE LA SUBGERENCIA DE GESTION
AMBIENTAL
Panamericana Norte Km. 5 y 1/2. - Cuenca
Telf : 2890418 - 2890463

**INFORME DE
RESULTADOS**

Página 1 de 1

FECHA: 2010/10/18

INFORME N°: 571/10

CLIENTE

NOMBRE: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
DIRECCIÓN: Calle Vieja y Elia Liut - Cuenca

MUESTRA

CODIGO: 571/01-08/10
DESCRIPCIÓN: Agua de proceso (Tesis)
PROCEDENCIA: Cuenca
FECHA DE RECEPCIÓN: 2010/10/11
ENTREGADAS POR: Srta. Jhoana Ochoa

RESULTADOS

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 R1 571/01/10	9.3 R2 571/02/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/11	mg/l	5.5	5.5

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.3 R3 571/03/10	9.6 R1 571/04/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/11	mg/l	6.6	5.5

PARAMETRO	METODO	FECHA REALIZACION	UNIDADES	9.6 R2 571/05/10	9.6 R3 571/06/10
CIANURO LIBRE	SM 4500 CN D	2010/10/11	mg/l	5.5	6.6

SM: STANDARD METHODS, Edición 21

Atentamente,

Ing. Yolanda Torres Moscoso
RESPONSABLE DEL LABORATORIO

- Los resultados contenidos en el presente informe solo afectan a los objetos sometidos al ensayo.
- Este informe no deberá reproducirse parcialmente sin la aprobación por escrito del laboratorio.

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specifications and Performance Upon Initial Release

Specifications	Additional Information
<p>Microorganism Name: Pseudomonas fluorescens Catalog Number: 0880 Lot Number: 88023 Reference Number: ATCC® 49838™** Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4 Expiration Date: 2011/02</p>	<p>Release Information: Quality Control Technologist: Theresa Iverson Release Date: 2009-06-02 Disclaimer: Last digit(s) of the Lot Number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The actual Lot Number is the first 5 digits of the printed lot number for Catalog #'s of 0999 or less. The actual Lot Numbers for Catalog #'s 01000 and greater are the first 6 digits of the printed lot number.</p>

Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, circular, smooth, gray/yellow colonies</p> <p>Microscopic Features: Straight or slightly curved gram negative rod</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain</p>

Vitek GN	Other Features/Challenges: Results																																																																										
<table border="1"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Phenotypic Features</th> <th style="text-align: center;">Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ADONITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-ARABITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-CELLOBIOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>H2S PRODUCTION</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>Glutamyl Arylamidase pNA</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-GLUCOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>FERMENTATION/GLUCOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>BETA-XYLOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-Alanine arylamidase pNA</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>LIPASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>PALATINOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-TAGATOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>CITRATE (SODIUM)</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>MALONATE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>5-KETO-D-GLUCONATE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalization</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>SUCCINATE alkalization</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>Beta N- ACETYL-GALACTOSAMINIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	ADONITOL	-	L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-	L-ARABITOL	-	D-CELLOBIOSE	-	BETA-GALACTOSIDASE	-	H2S PRODUCTION	-	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	-	Glutamyl Arylamidase pNA	-	D-GLUCOSE	+	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	+	FERMENTATION/GLUCOSE	-	BETA-GLUCOSIDASE	-	D-MALTOSE	-	D-MANNITOL	-	D-MANNOSE	+	BETA-XYLOSIDASE	-	BETA-Alanine arylamidase pNA	+	L-Proline ARYLAMIDASE	+	LIPASE	-	PALATINOSE	-	Tyrosine ARYLAMIDASE	+	UREASE	-	D-SORBITOL	-	SACCHAROSE/SUCROSE	-	D-TAGATOSE	-	D-TREHALOSE	-	CITRATE (SODIUM)	+	MALONATE	-	5-KETO-D-GLUCONATE	-	L-LACTATE alkalization	+	ALPHA-GLUCOSIDASE	-	SUCCINATE alkalization	+	Beta N- ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	-	PHOSPHATASE	-	<p>Oxidase (Kovacs): positive Motility B Medium: positive</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px 0;"> <p>MEDIBAC INC. DISTRIBUIDOR DE MICROBIOLOGICS GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO Y CERTIFICADO SON ORIGINALES</p> </div> <div style="text-align: center;">  AUTHORIZED SIGNATURE </div>
Phenotypic Features	Results																																																																										
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-																																																																										
ADONITOL	-																																																																										
L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-																																																																										
L-ARABITOL	-																																																																										
D-CELLOBIOSE	-																																																																										
BETA-GALACTOSIDASE	-																																																																										
H2S PRODUCTION	-																																																																										
BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	-																																																																										
Glutamyl Arylamidase pNA	-																																																																										
D-GLUCOSE	+																																																																										
GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	+																																																																										
FERMENTATION/GLUCOSE	-																																																																										
BETA-GLUCOSIDASE	-																																																																										
D-MALTOSE	-																																																																										
D-MANNITOL	-																																																																										
D-MANNOSE	+																																																																										
BETA-XYLOSIDASE	-																																																																										
BETA-Alanine arylamidase pNA	+																																																																										
L-Proline ARYLAMIDASE	+																																																																										
LIPASE	-																																																																										
PALATINOSE	-																																																																										
Tyrosine ARYLAMIDASE	+																																																																										
UREASE	-																																																																										
D-SORBITOL	-																																																																										
SACCHAROSE/SUCROSE	-																																																																										
D-TAGATOSE	-																																																																										
D-TREHALOSE	-																																																																										
CITRATE (SODIUM)	+																																																																										
MALONATE	-																																																																										
5-KETO-D-GLUCONATE	-																																																																										
L-LACTATE alkalization	+																																																																										
ALPHA-GLUCOSIDASE	-																																																																										
SUCCINATE alkalization	+																																																																										
Beta N- ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	-																																																																										
ALPHA-GALACTOSIDASE	-																																																																										
PHOSPHATASE	-																																																																										

Note For Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

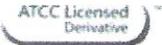


The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. MicroBioLogics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specifications and Performance Upon Initial Release

Specifications	Additional Information																						
<p>Microorganism Name: <i>Pseudomonas fluorescens</i> Catalog Number: 0880 Lot Number: 88023 Reference Number: ATCC® 49838™™ Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4 Expiration Date: 2011/02</p>	<p>Release Information: Quality Control Technologist: Theresa Iverson Release Date: 2009-06-02 Disclaimer: Last digit(s) of the Lot Number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The actual Lot Number is the first 5 digits of the printed lot number for Catalog #'s of 0999 or less. The actual Lot Numbers for Catalog #'s 01000 and greater are the first 6 digits of the printed lot number.</p>																						
<table border="0"> <tr><td>Glycine ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>ORNITHINE DECARBOXYLASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>LYSINE DECARBOXYLASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-HISTIDINE assimilation</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>COURMARATE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCURONIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-MALATE assimilation</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>ELLMAN</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE assimilation</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> </table>	Glycine ARYLAMIDASE	+	ORNITHINE DECARBOXYLASE	-	LYSINE DECARBOXYLASE	-	L-HISTIDINE assimilation	+	COURMARATE	+	BETA-GLUCURONIDASE	-	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	-	L-MALATE assimilation	+	ELLMAN	-	L-LACTATE assimilation	+	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> <p>MEDIBAC INC. DISTRIBUIDOR DE MICROBIOLOGICS GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO Y CERTIFICADO SON ORIGINALES LOTE: _____ EXPIRACION: _____</p> </div>
Glycine ARYLAMIDASE	+																						
ORNITHINE DECARBOXYLASE	-																						
LYSINE DECARBOXYLASE	-																						
L-HISTIDINE assimilation	+																						
COURMARATE	+																						
BETA-GLUCURONIDASE	-																						
O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+																						
Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	-																						
L-MALATE assimilation	+																						
ELLMAN	-																						
L-LACTATE assimilation	+																						

Note For Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

 The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. MicroBioLogics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

VARIABLES		REGISTRO DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE CIANURO EN BIOENSAYOS TESTIGOS (PPM)								
		0 - 4 DÍAS			4 - 8 DÍAS			8 - 12 DÍAS		
Ph	T ⁰ C	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
9.2	25	117,83	115,7	117,8	118,91	117,83	119,99	114,59	110,26	104,86
	32	116,75	115,7	120	107,02	107,02	108,1	92,97	101,61	109,18
9.6	25	118,91	116,8	117,8	122,15	115,67	118,91	97,29	113,51	112,42
	32	115,67	115,7	116,8	116,21	108,1	108,1	107,02	104,86	100,53

tiempo (día)	T ⁰ c	pH	RESULT	PROMEDIO
día cero	25	9.2	123,2	121,61
		9.6	120	

Tabla 1: Comparación del Crecimiento Bacteriano entre la Temperatura (32 °C Y 22 °C) y pH 9,6

ESTUFA					
T	BACTERIA	0	4	8	12
32 °C	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	3,8125E+12	7,9719E+12	2,0531E+12	1,8219E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4188E+12	3,1656E+12	1,6813E+12	5,0719E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1594E+12	4,9688E+11	1,4094E+12	3,5344E+12
AMBIENTE					
T	BACTERIA	0	4	8	12
22 °C	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	3,8125E+12	1,9594E+12	2,525E+12	2,0156E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4188E+12	2,4688E+12	5,35E+12	3,0719E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1594E+12	5,1563E+11	2,6563E+11	3,4375E+11

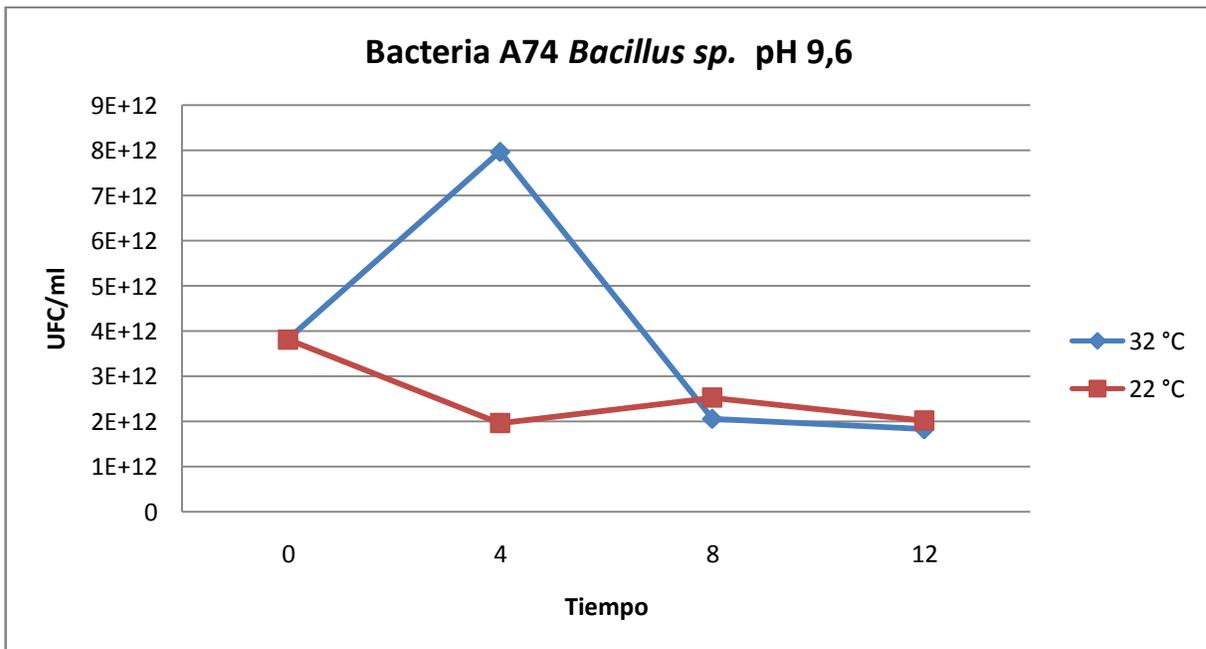


Ilustración 1: Crecimiento bacteriano a diferente temperatura

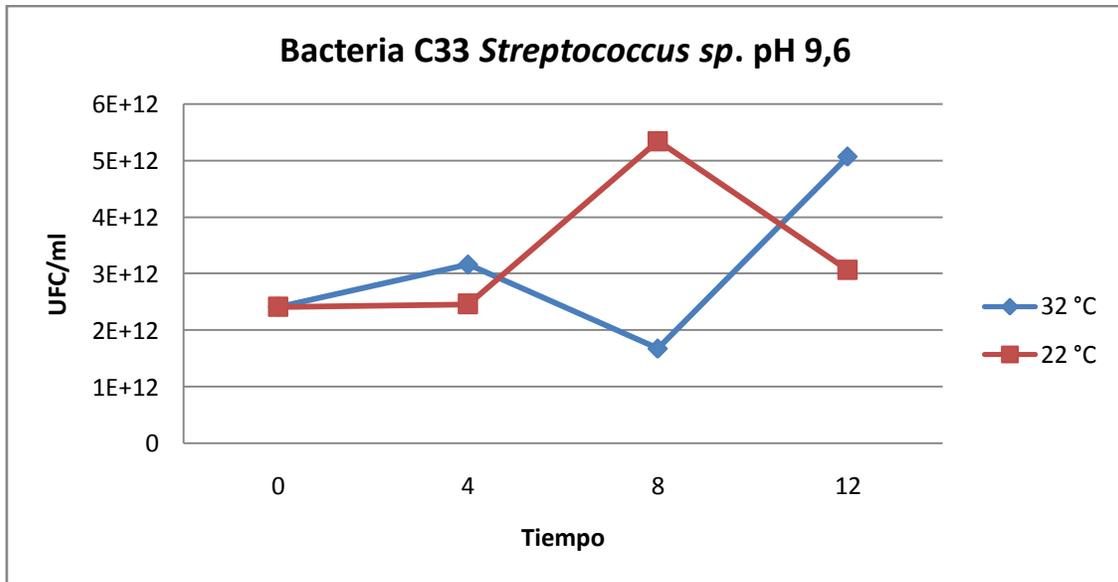


Ilustración 2: Crecimiento bacteriano a diferente temperatura

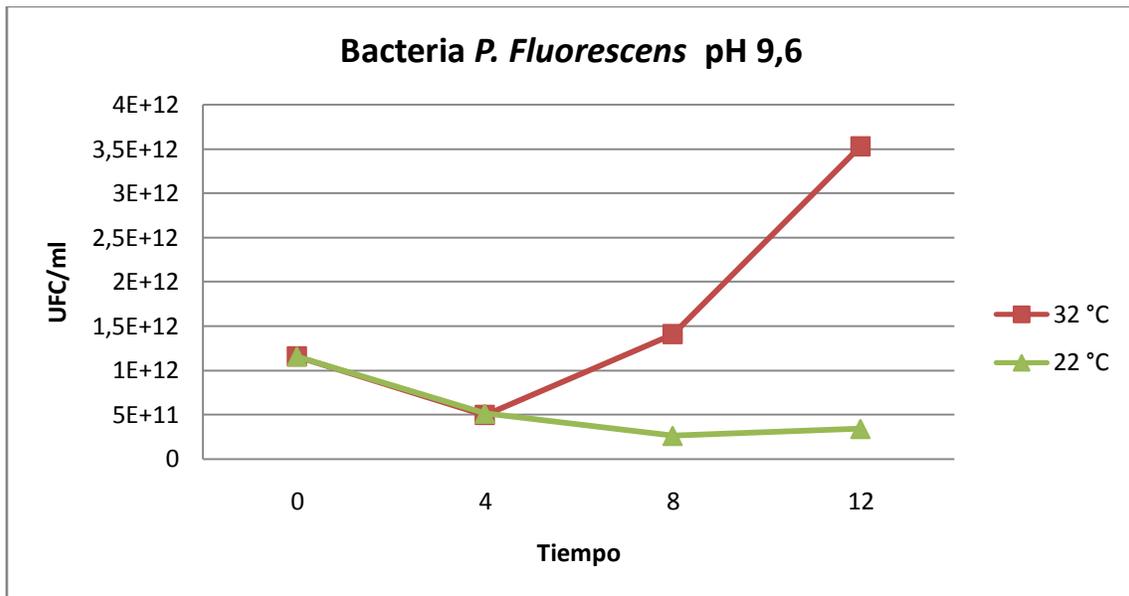


Ilustración 3: Crecimiento bacteriano a diferente temperatura

Tabla 2: Comparación del crecimiento bacteriano temperatura (32 °C y 22 °C) y pH 10

ESTUFA					
T	BACTERIA	0	4	8	12
32 °C	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	2,7281E+12	3,8188E+12	3,0844E+12	2,4281E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4281E+12	1,2406E+12	3,2688E+12	1,9344E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1781E+12	2,1906E+12	1,6219E+12	1,1031E+12
AMBIENTE					
T	BACTERIA	0	4	8	12
22 °C	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	2,7281E+12	1,7688E+12	2,325E+12	1,7938E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4281E+12	2E+12	3,5688E+12	3,9094E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1781E+12	4,5313E+11	3,1563E+11	4,5E+11

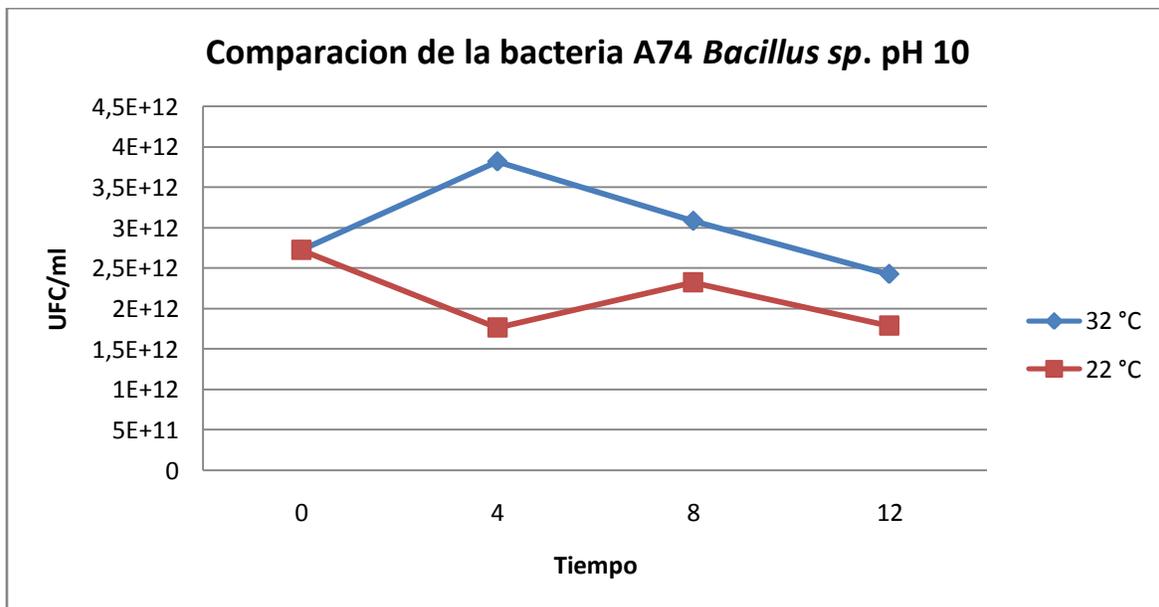


Ilustración 4: Crecimiento bacteriano a diferente temperatura

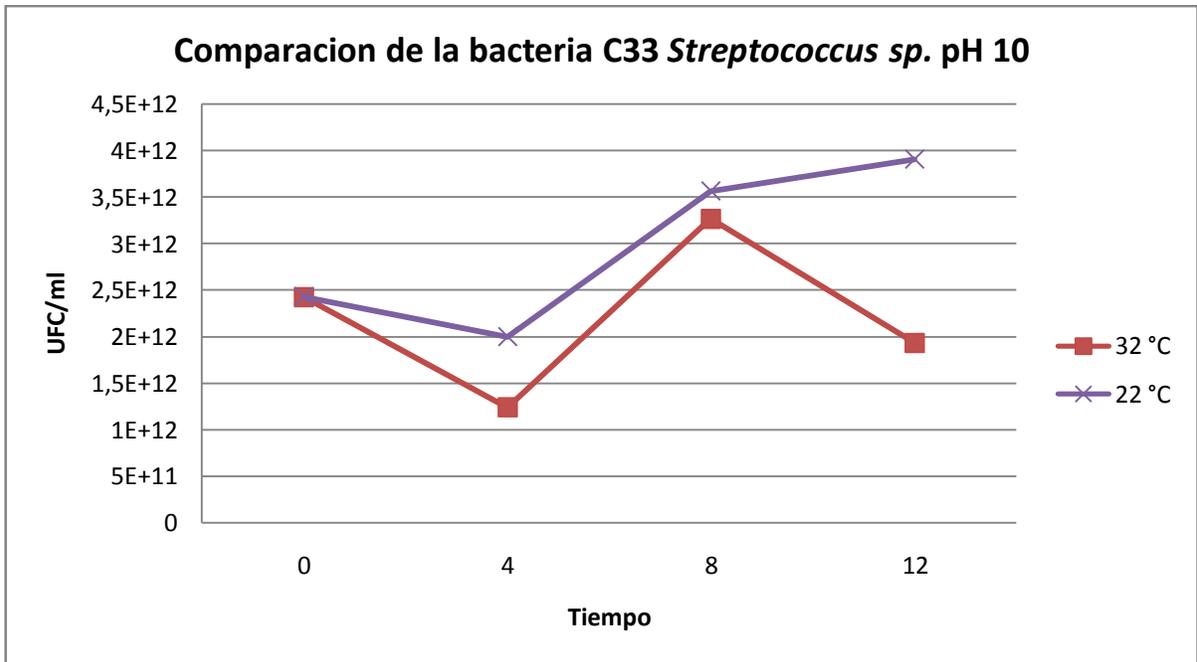


Ilustración 5: Crecimiento bacteriano a diferente temperatura

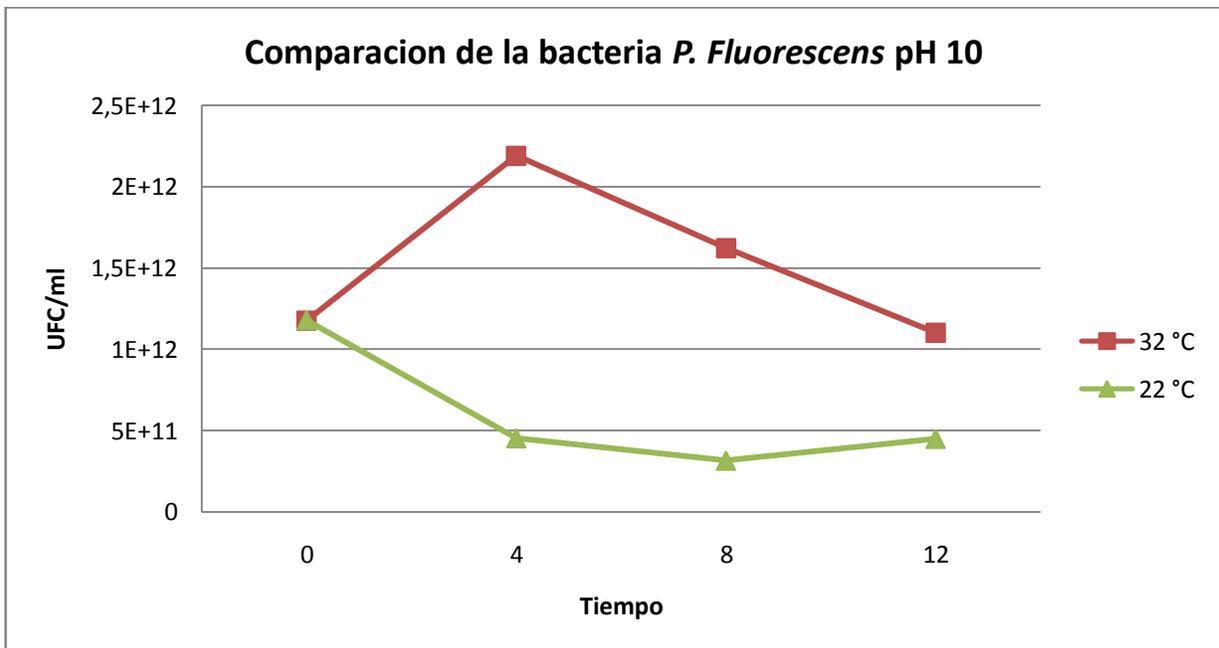


Ilustración 6: Crecimiento bacteriano a diferente temperatura

Tabla 3: Comparación del crecimiento bacteriano entre el pH (9,6 y 10) a temperatura de estufa

DETERMINACION pH					
pH	BACTERIA	0	4	8	12
9,6	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	3,8125E+12	7,9719E+12	2,0531E+12	1,8219E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4188E+12	3,1656E+12	1,6813E+12	5,0719E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1594E+12	4,9688E+11	1,4094E+12	3,5344E+12
DETERMINACION pH					
T	BACTERIA	0	4	8	12
10	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	2,7281E+12	3,8188E+12	3,0844E+12	2,4281E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4281E+12	1,2406E+12	3,2688E+12	1,9344E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1781E+12	2,1906E+12	1,6219E+12	1,1031E+12

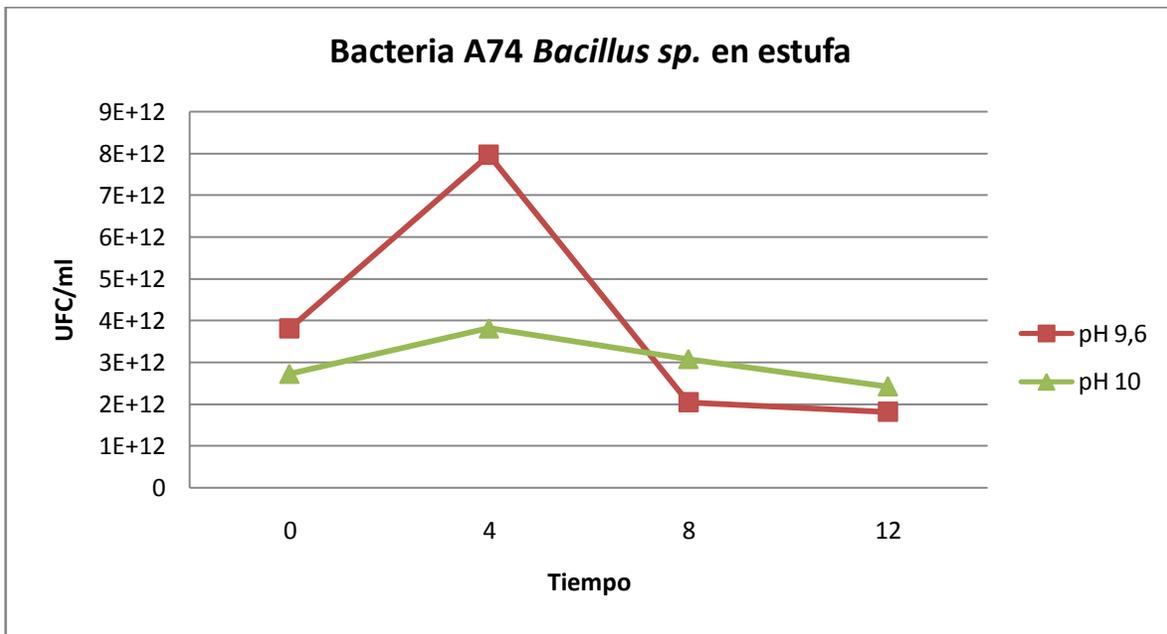


Ilustración 7: Crecimiento bacteriano a diferente pH

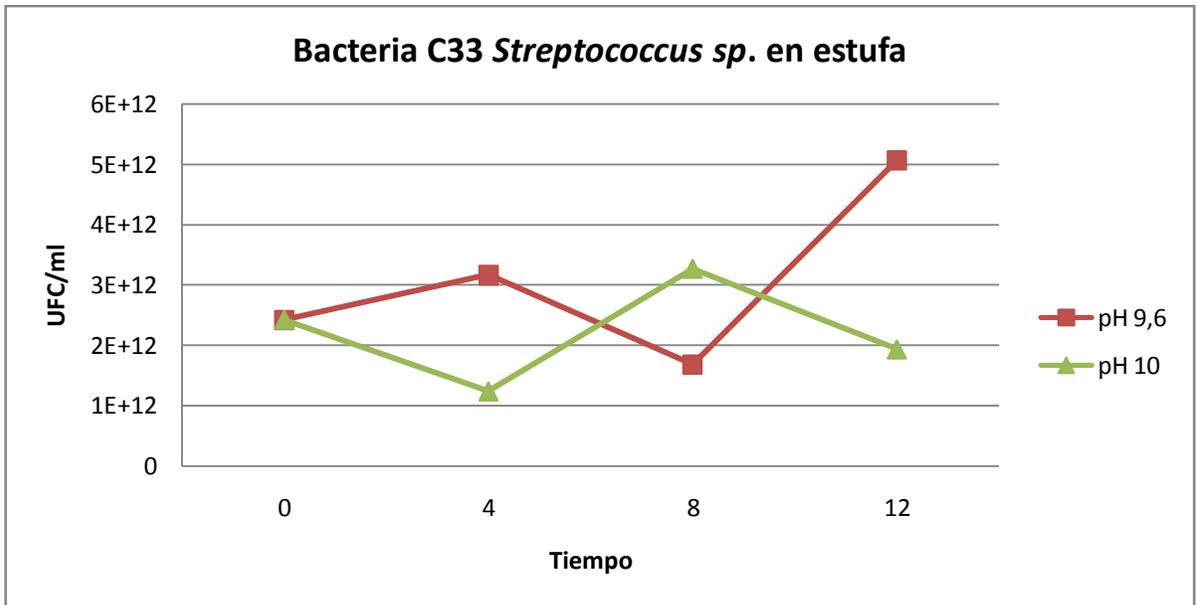


Ilustración 8: Crecimiento bacteriano a diferente pH

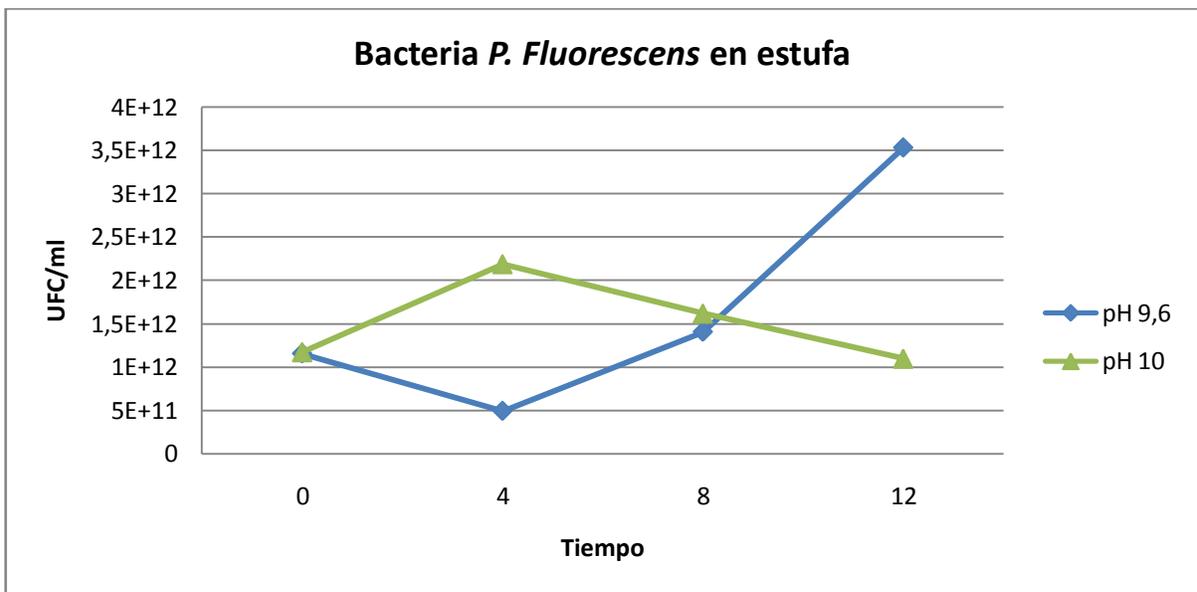


Ilustración 9: Crecimiento bacteriano a diferente pH

Tabla 4: Comparación del crecimiento bacteriano entre el pH (9,6 y 10) a temperatura ambiente

DETERMINACION pH					
pH	BACTERIA	0	4	8	12
9,6	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	3,8125E+12	1,9594E+12	2,525E+12	2,0156E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4188E+12	2,4688E+12	5,35E+12	3,0719E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1594E+12	5,1563E+11	2,6563E+11	3,4375E+11
DETERMINACION pH					
pH	BACTERIA	0	4	8	12
10	BACTERIA A74 <i>Bacillus</i> sp.	2,7281E+12	1,7688E+12	2,325E+12	1,7938E+12
	BACTERIA C33 <i>Streptococcus</i> sp.	2,4281E+12	2E+12	3,5688E+12	3,9094E+12
	BACTERIA <i>P. Fluorescens</i>	1,1781E+12	4,5313E+11	3,1563E+11	4,5E+11

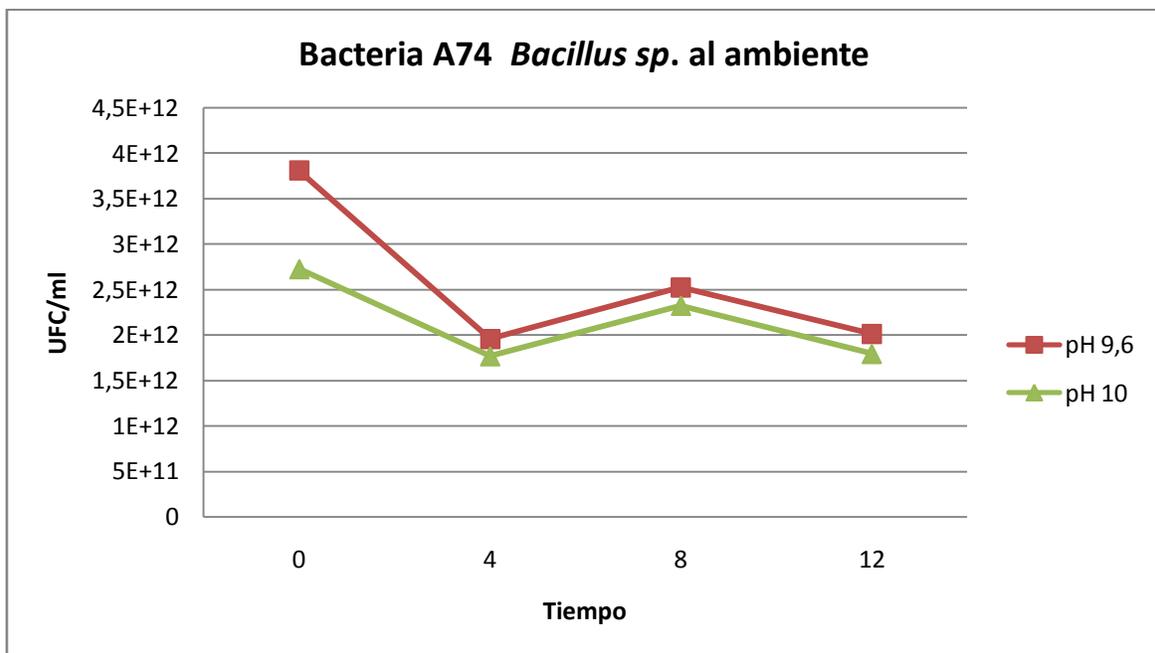


Ilustración 10: Crecimiento bacteriano a diferente pH

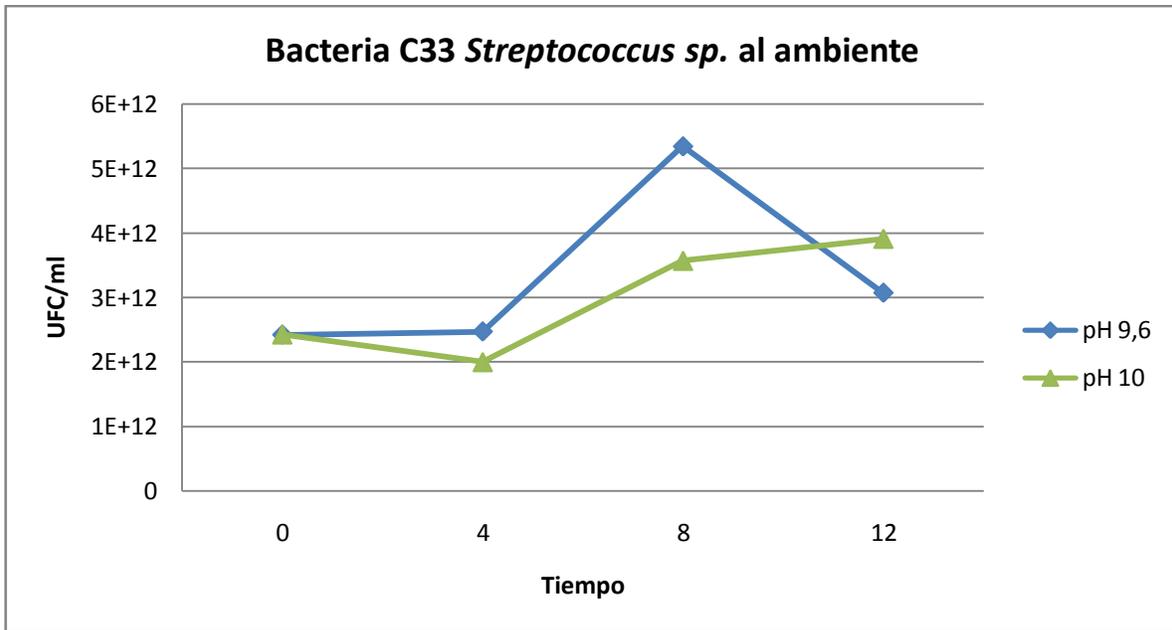


Ilustración 11: Crecimiento bacteriano a diferente pH

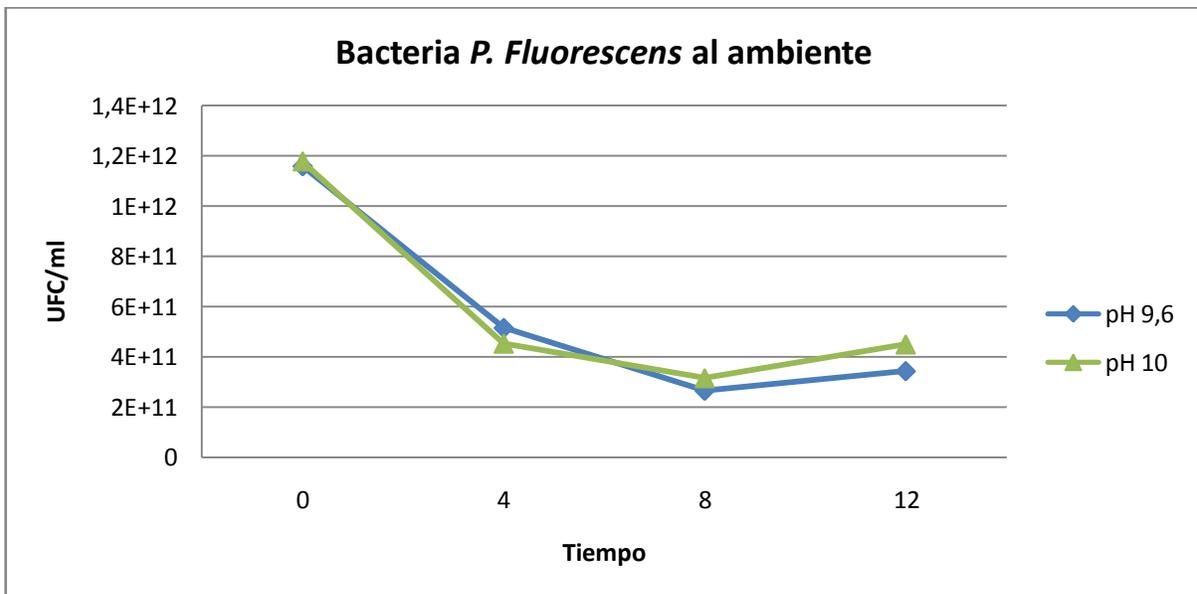


Ilustración 12: Crecimiento bacteriano a diferente pH

**EMPRESA MINERA EMICOR, LUGAR EN DONDE SE
TOMARON LAS MUESTRAS.**



Ilustración 1.- Almacenamiento de material a ser procesado. Cantón Zaruma



Ilustración 2.- Tanques de cianuración



Ilustración 3.- Tanques para la adición de cal y solución de cianuro de sodio



Ilustración 4.- Tanque de procesamiento # 8



Ilustración 5.- Carbón Activado empleado en el proceso aurífero para captar las partículas de oro



Ilustración 6.- Laguna de sedimentación



Ilustración 7.- Relaveras



Ilustración 8.- Toma de muestra líquida – sólida



Ilustración 9.- Obtención de la muestra líquida



Ilustración 10.- Muestra sólida



Ilustración 11.- Muestras a ser sembradas: A (Líquido), B (Sólido-líquido) y C (Sólido)



Ilustración 12.- Llenado y rotulado de cajas con agar TSA y PDA

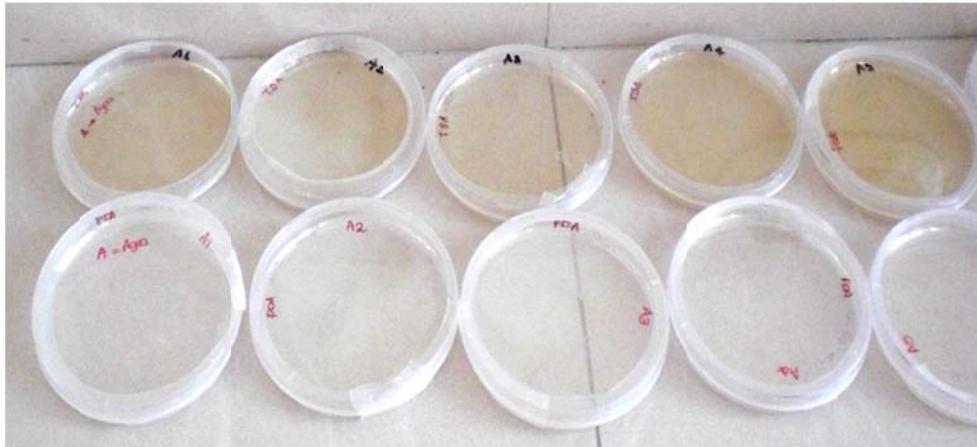


Ilustración 13.- Cajas sembradas con muestra A

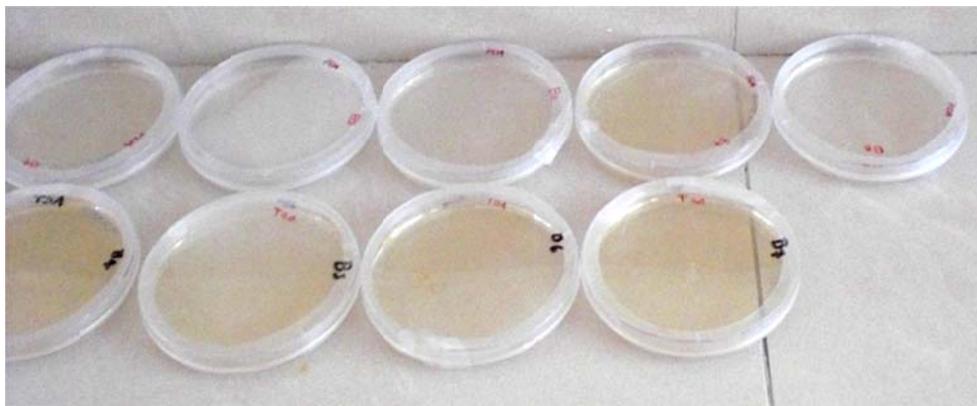


Ilustración 14.- Cajas sembradas con muestra B

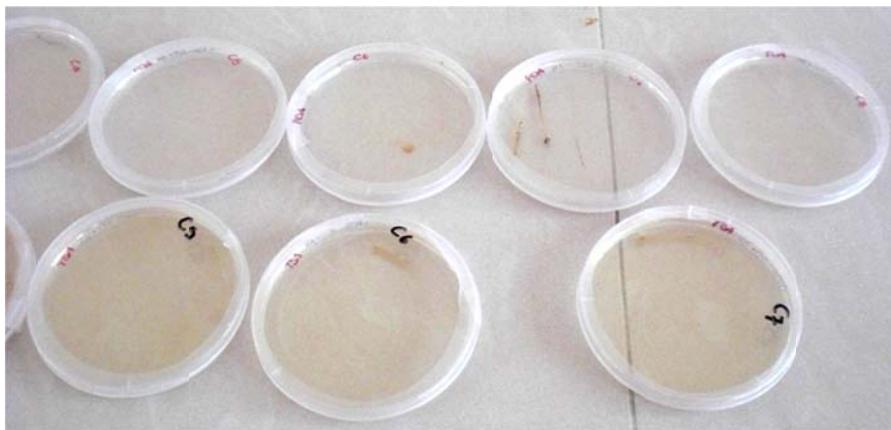
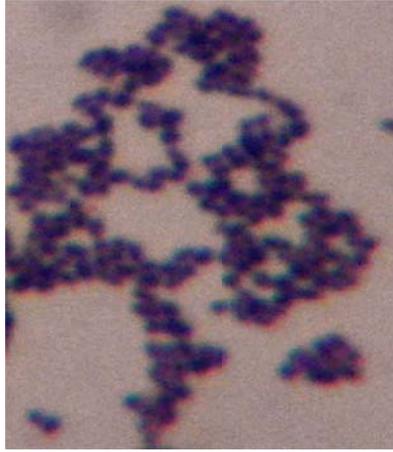
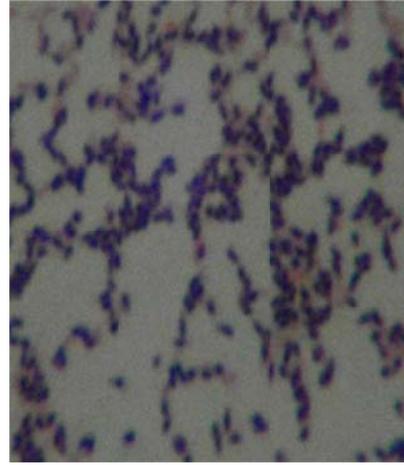


Ilustración 15.- Cajas sembradas con muestra

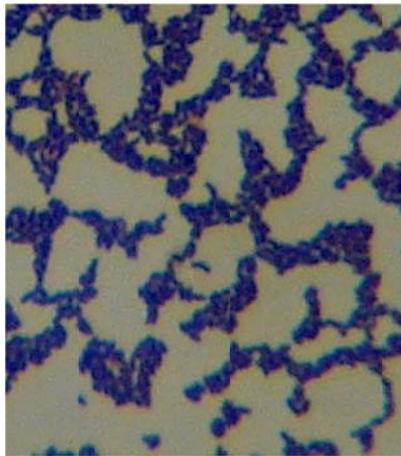
CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS



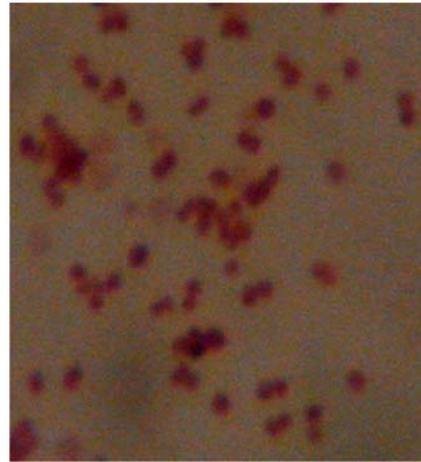
A42 -Grampositivo- *Staphylococcus* sp.



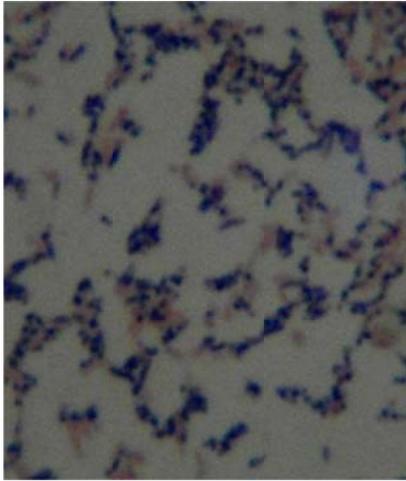
A71- Gram positivo – *Bacillus* sp



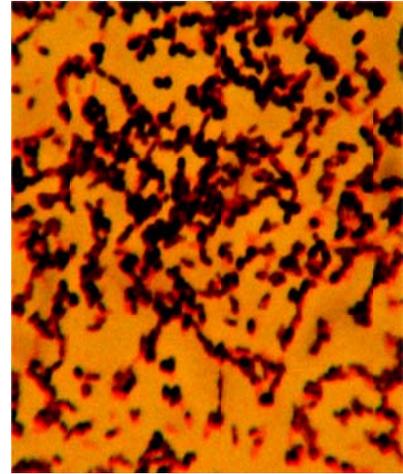
A74 – Gram positiva - *Bacillus* sp.



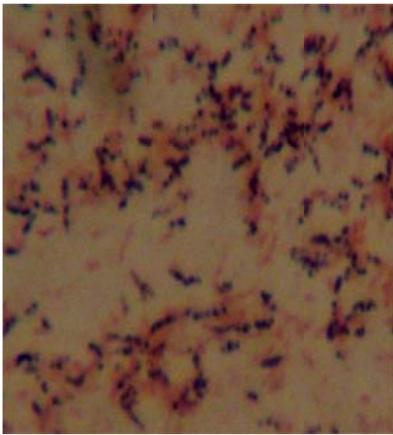
A75 - Gram negativo - *Diplococci* sp.



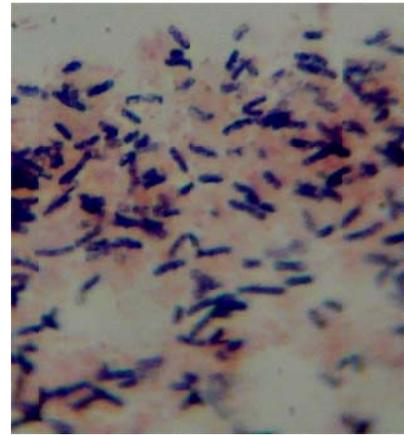
C33- Gram positiva - *Streptococcus sp*



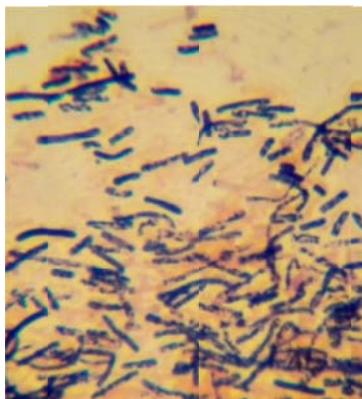
A521- Gram Positiva-*Streptococcus sp*



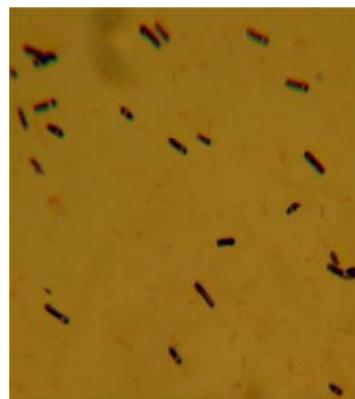
C73- Grampositiva - *Streptococcus sp*



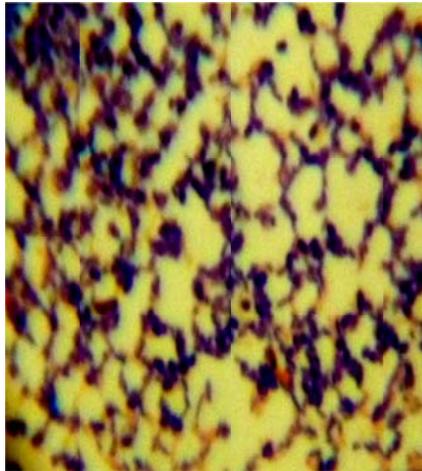
C31 – Gram Positiva- *Coccus sp*



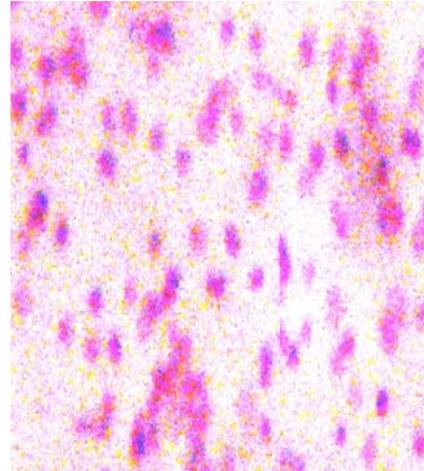
B31 – Gram positiva - *Bacillus s.*



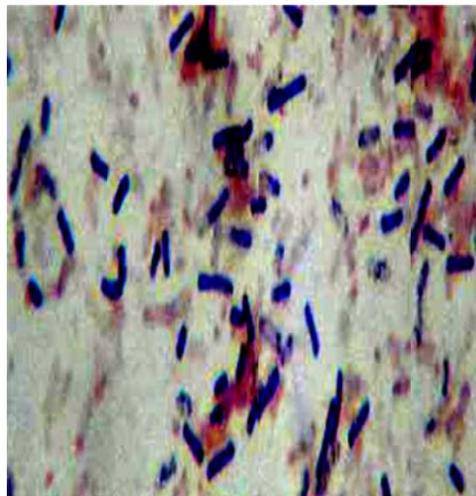
Pseudomona Fluorescens



A72-Grampositiva- *Bacillus vulgaris*



C41-Grampositiva- *Cocuss sp.*



C311- Grampositiva- *Clostridium sp*

Ilustración 16: fotografías de microorganismos identificados

REACTIVACIÓN DE PSEUDOMONAS FLUORESCENS

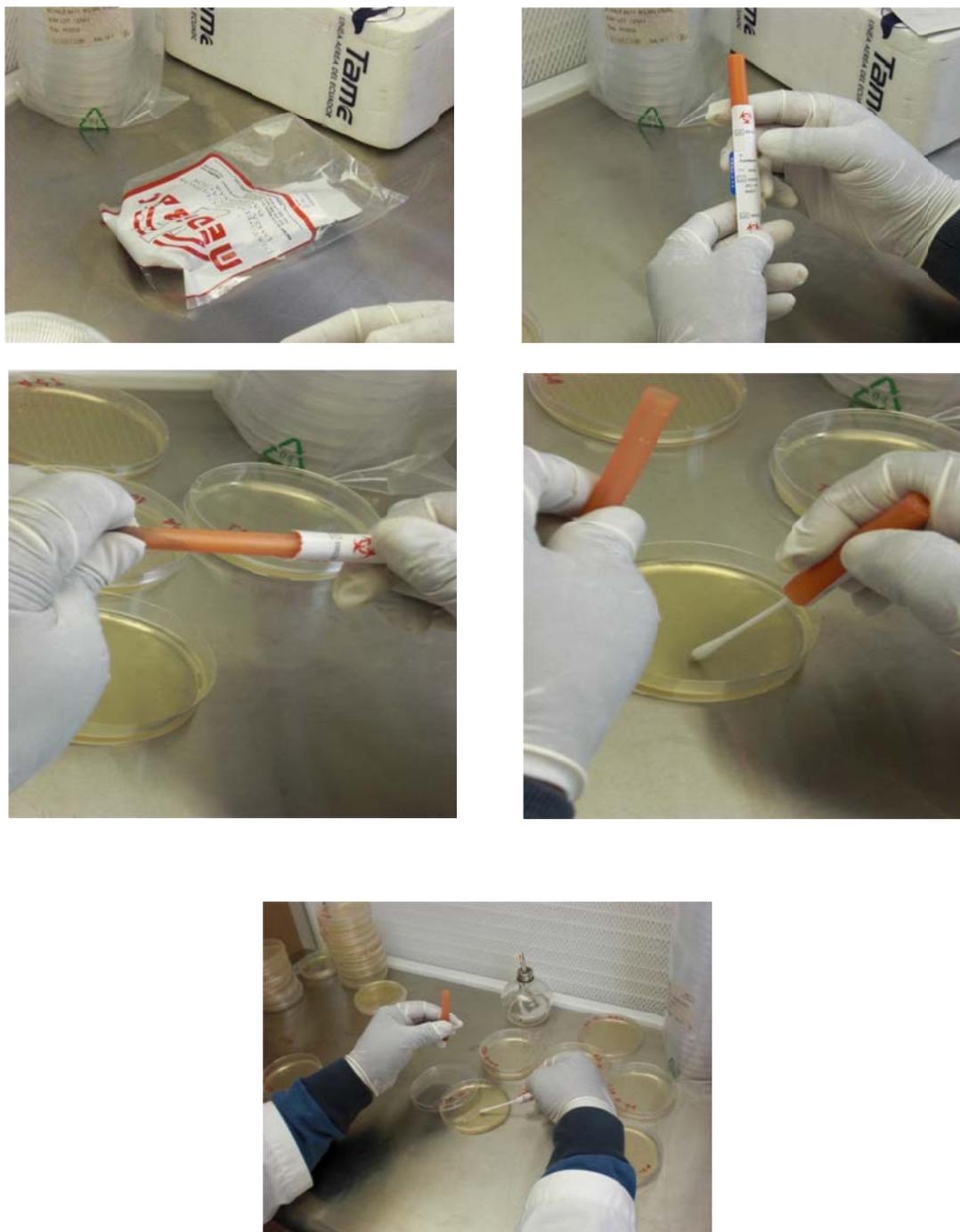


Ilustración 17: Procedimiento para la reactivación de bacterias liofilizadas

PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA



Ilustración 18.- Bacterias A30 Y A75



Ilustración 19.- Bacterias A31 Y A74



Ilustración 20.- Bacterias A73 y B31



Ilustración 21.- Bacterias B2 y C41



Ilustración 22.- Bacterias C31 y C73

ENSAYOS DE BIODEGRADACIÓN

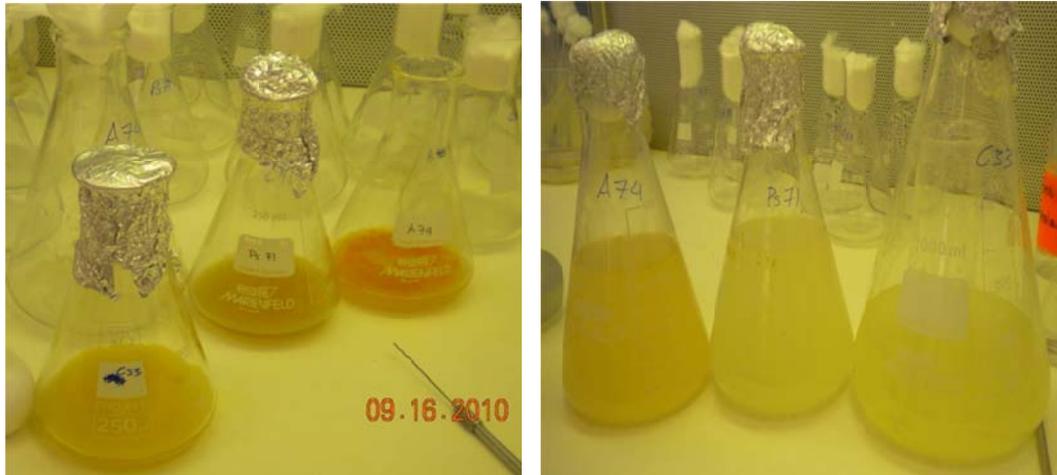


ILUSTRACIÓN 23.- matracos con bacteria sembrada y soluciones de esporas



ILUSTRACIÓN 24.- bicarbonato y carbonato de sodio empleado para preparar los buffers



Ilustración 25.- Matracas que contienen la solución base (buffer, cianuro y glucosa)



Ilustración 26.- Envases empleados para transportar las muestras



Ilustración 27.- Matracas empleados en los bioensayos