

BIORREMEDIACIÓN DE CIANURO EN AGUAS RESIDUALES EMPLEANDO LA ENZIMA RODANASA. PROPUESTA GENERAL PARA LA IMPLEMENTACIÓN.

Ahmed Amaury Ruiz Moré¹, <https://orcid.org/0000-0003-1838-4607>, ahmedamaury9@gmail.com

Elena Carvajal Ciomina², <https://orcid.org/0000-0001-7158-2464>, elena.carvajal@nauta.cu

Lidia González Méndez³, <http://orcid.org/0000-0003-0583-1738>, lgmendez@nauta.cu

Universidad de Ciencias Médicas. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. Dirección de Ciencia e Innovación Tecnológica, Departamento de Investigaciones Biomédicas.

Autor para la correspondencia: ahmedamaury9@gmail.com

Resumen:

El cianuro es un veneno metabólico potente. Se produce de manera natural por múltiples organismos llamados cianogénicos y por la actividad antropogénica, por vertimiento al entorno de aguas residuales contaminadas. Cuba cuenta con regulaciones ambientales para mitigar los efectos dañinos al medio, pero aún no son suficientes. En el municipio Placetas, provincia Villa Clara, radica una empresa para la extracción de oro, mediado un paso determinante que emplea cianuro. Motivado por lo anterior se decide hacer una revisión exhaustiva de la literatura especializada, sobre los métodos de biorremediación del cianuro, mediado microorganismos y enzimas. Resalta a la vista la enzima Rodanasa, capaz de transformarlo en tiocianato, producto más amigable con el medio ambiente. Se reflexiona, además, acerca de las potencialidades de la Empresa Electroquímica de Sagua la Grande y la diseminación de la especie *Clarias gariepinus* en sus embalses dulceacuíferos, para abordar la biorremediación a nivel local. Sin lugar a dudas, es un campo que abre nuevas brechas en la aplicación de la nanotecnología en nuestro territorio, la inmovilización de enzimas, microorganismos y el empleo de biorreactores.

Palabras clave: *biorremediación, microorganismos, Rodanasa, nanotecnología, inmovilización de enzimas, biorreactores*

Abstract

Cyanide is a potent metabolic poison. It is produced naturally by multiple organisms called cyanogens and by anthropogenic activity, through discharge of contaminated wastewater into the environment. Cuba has environmental regulations to mitigate the harmful effects to the environment, but they are still not enough. In the municipality of Placetas, Villa Clara province, there is a gold extraction company, mediated a decisive step that uses cyanide. Motivated by the above, it was decided to make an exhaustive review of the specialized literature on cyanide bioremediation methods, mediated by microorganisms and enzymes. The Rhodanase enzyme is capable of transforming it into thiocyanate, a more environmentally friendly product. It also reflects on the potential of the Electrochemical Company of Sagua la Grande and the dissemination of the *Clarias gariepinus* species in its freshwater reservoirs, to address bioremediation at the local level. Undoubtedly, it is a field that opens new gaps in the application of nanotechnology in our territory, the immobilization of enzymes, microorganisms and the use of bioreactors.

Key words: bioremediation, microorganisms, rodanase, nanotechnology, enzyme immobilization, bioreactors.

Introducción.

La biorremediación es versátil para el manejo de la contaminación por cianuro, común en zonas aledañas a la minera de Placetas, municipio de Villa Clara, donde se realiza la extracción de oro mediante cianuración.¹ Estos problemas deben ser resueltos buscando vías alternativas para la extracción del oro, aunque el actual método haya logrado aumentar considerablemente los rendimientos en la producción.²

Se refieren como fuentes de cianuro algas, bacterias, plantas,³ hongos y algunos insectos,⁴ llamados cianogénicos por su capacidad de sintetizar y almacenar dicho compuesto.

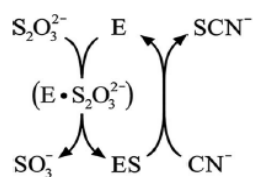
Lo anterior presupone atenuar los vertimientos, ya que la eliminación de los efluentes sin tratamiento pone en riesgo los ecosistemas acuáticos y la salud humana.⁵

Una de las enzimas prometedoras en este sentido es la Rodanasa, con la ventaja que su empleo en la eliminación de cianuro no necesita del suministro de oxígeno, ni la eliminación de biomasa, como es el caso de los cultivos de microorganismos.

Teniendo en cuenta lo anterior se actualizan y analizan diversos procedimientos para la biorremediación del cianuro, especialmente en aguas residuales, y se diseña una estrategia general para el abordaje de la biorremediación.

2. Biorremediación mediada la enzima Rodanasa.

La Rodanasa (tiosulfato: cianuro sulfotransferasa, EC 2.8.1.1) cataliza la formación de tiocianato a partir del cianuro y el tiosulfato, u otros donores de sulfuro. El mecanismo cinético propuesto es de doble desplazamiento (ping pong), mostrado como sigue:⁶



Es una enzima ubicua presente en todos los organismos vivos, desde bacterias hasta el Homo sapiens. Estudios sobre su distribución intracelular han revelado su presencia en el núcleo, citosol, y mayoritariamente en la mitocondria.⁶ Se plantea que la principal función de la Rodanasa es la destoxificación del cianuro, especialmente en los mamíferos, para generar un compuesto menos tóxico, el tiocianato y excretarlo por el riñón.⁷

La Rodanasa es una enzima rezagada en cuanto a implementaciones prácticas, siendo en la biomedicina donde más sobresale; con elevados niveles en fumadores respecto a no fumadores; y alterada en ciertos tipos de cáncer, enfermedades hepáticas y renales, de ahí lo importante de su implementación en la investigación y como biomarcador.⁸⁻¹¹

3. Estrategia general para el abordaje de la biorremediación empleando microorganismos y la enzima Rodanasa.

Después de analizadas las fuentes bibliográficas, se plantea una estrategia para dirigir, de forma general, el abordaje de la biorremediación, mediante biorreactores, cultivo de microorganismos e inmovilización de enzimas, empleando materiales y organismos del entorno local. Se enfoca a resolver múltiples problemas relacionados con el medio ambiente y el empleo de fuentes renovables de energía. Respecto a éste último acápite, el aprovechamiento de la biomasa, tanto la generada de procesos industriales, agropecuarios, etc. sino también la procedente del mar, como las micro y macro-algas.

A continuación se ofrece una guía para el abordaje de una estrategia de biorremediación. Sirva al menos como un nivel de análisis crítico; lo importante es que genere ideas mejorables, innovadoras.

1. Fuentes de contaminación y regulaciones

Identificación de las fuentes antropogénicas del contaminante mediante revisiones bibliográficas sobre el tema. Estudios del suelo y las fuentes hidrográficas de la zona que enmarca la industria; tener en cuenta los regímenes de lluvia. Evaluación de los diferentes procesos de la industria. Revisión de normativas sobre medio ambiente vinculadas con el proceso productivo de la industria generadora.

Equipo de trabajo: Ejecutivos y tecnólogos en las industrias generadoras del contaminante. Expertos en suelo, recursos hidráulicos, meteorología y medio ambiente. Químicos.

2. Muestreo y evidencias de contaminación

Identificación de evidencias ambientales de contaminación y cuantificación de los niveles de afectación, incluida la salud humana. Revisiones sobre muestreo específico a los procesos de la industria. Propuesta de un correcto muestreo: obtención, almacenamiento, traslado, procesamiento y conservación. Garantía de medios de protección para un muestreo seguro.

Equipo de trabajo: Expertos en medio ambiente. Biólogos. Microbiólogos, agrónomos. Médicos toxicólogos y de salud ocupacional. Químicos. Bioquímicos.

3. Propuesta de biorremediación microbiana y obtención de la biomasa

Identificación, aislamiento y caracterización de microorganismos que participan en la descomposición del cianuro: hongos, algas y bacterias. Estudio microbiológico de los efluentes y lagunas de decantación de la industria para identificar los microorganismos y aprovechar dicha fuente en su obtención. Propuesta para la obtención de fuentes naturales

o crecimiento en biorreactores. Recomendaciones sobre el tipo de biorreactor, las condiciones de pH, temperatura, tiempo de retención, agitación, aireación, inóculo, etc.

Equipo de trabajo: Biólogos. Microbiólogo. Ingeniero químico.

4. Propuesta de Biorremediación enzimática

Identificación de biomasa rica en la enzima Rodanasa, especialmente proveniente de hongos, algas y bacterias. Propuesta para la obtención de biomasa de fuentes naturales o crecimiento en biorreactores. Recomendación del tipo de biorreactor y las condiciones de pH, temperatura, tiempo de retención, agitación, aireación, etc. Propuesta de aislamiento, semipurificación y purificación de la enzima. Caracterización de las condiciones del medio de reacción enzimática: estabilización del pH, temperatura, concentración del co-sustrato y la enzima en función del cianuro presente o la eficiencia del proceso de descontaminación, inhibidores y activadores presentes en la muestra contaminante o factibles de adicionar, otros aditivos, etc. Método de cuantificación de la actividad enzimática según la muestra. Propuesta de soporte para la inmovilización. Método de inmovilización de la enzima. Medición de la eficacia y eficiencia de la inmovilización.

Equipo de trabajo: Bioquímico. Microbiólogo. Ingeniero químico.

5. Selección del Biorreactor adecuado.

Diseño del(los) biorreactor(es). Análisis de los procesos de intercambio de materia y energía. Propuesta de ecuación de velocidad de reacción en función del tipo de biorreactor y las condiciones. Implementación al máximo posible de las fuentes renovables de energía. Equipo de trabajo: Ingeniero químico. Ingeniero eléctrico. Ingeniero mecánico. Ingeniero termoenergético.

6. Diseño global del sistema de descontaminación.

Propuesta de flujograma global del proceso de descontaminación. Discusión crítica y pro-activa en equipo, talleres de mesa.

Equipo de trabajo: Ingeniero químico.

7. Monitoreo de las etapas de descontaminación.

Propuesta de monitorización de la eficiencia de cada etapa de descontaminación. Discusión crítica y pro-activa en equipo, talleres de mesa.

Equipo de trabajo: Ingeniero químico. Químico analista. Microbiólogo. Bioquímico.

8. Costos estimados para la implementación.

Análisis económico. Discusión crítica y pro-activa en equipo, talleres de mesa.

Equipo de trabajo: Experto en economía de la industria generadora. Ingeniero.

9. Montaje del sistema tecnológico.

Implementación de la Tecnología propuesta. Discusión crítica y pro-activa en equipo, talleres de mesa. Montaje de las estructuras. Garantía de la seguridad en el trabajo (riesgos, condiciones y medios de protección)

Equipo de trabajo: Ejecutivos de la industria generadora del contaminante. Ingeniero químico. Ingeniero eléctrico. Ingeniero mecánico. Ingeniero termoenergético. Químico analista. Microbiólogo. Bioquímico.

10. Ensayo funcional del sistema

Ensayo piloto del proceso global. Resultados de los procesos de intercambio de materia y energía. Verificación de la ecuación de velocidad de reacción en función del tipo de biorreactor y las condiciones. Evaluación de la pertinencia y sostenibilidad de las fuentes renovables de energía empleadas.

11. Garantía de sostenibilidad del sistema

Cumplimiento y actualización de los contratos que garantizan recursos materiales. Planificación de mantenimientos, reposiciones y piezas de repuesto. Educación continuada para la formación de recursos humanos en el manejo, integración y reparación de cada componente o etapa del proceso global.

Equipo de trabajo: Tecnólogo de la industria generadora. Ingeniero químico.

12. Control de la Calidad del proceso

Control de la calidad de cada etapa. Revisiones bibliográficas de los procedimientos empleados y los más factibles de implementar. Implementación de métodos estadísticos que describan y midan la eficacia y eficiencia de cada proceso y etapa (diagramas, métrica sigma, etc.)

Equipo de trabajo: Químico. Microbiólogo. Bioquímico. Ingeniero químico.

13. Mejoría continua del sistema

Mejora continua (eficiencia y costes) del proceso y cada una de sus etapas. Análisis crítico (cualitativo y cuantitativo) de los resultados obtenidos en el paso anterior.

Equipo de trabajo: Ejecutivos de la industria. Ingeniero químico. Químico. Microbiólogo. Bioquímico.

4. Grupo inNOVAcEnz. Desafíos y Promesas

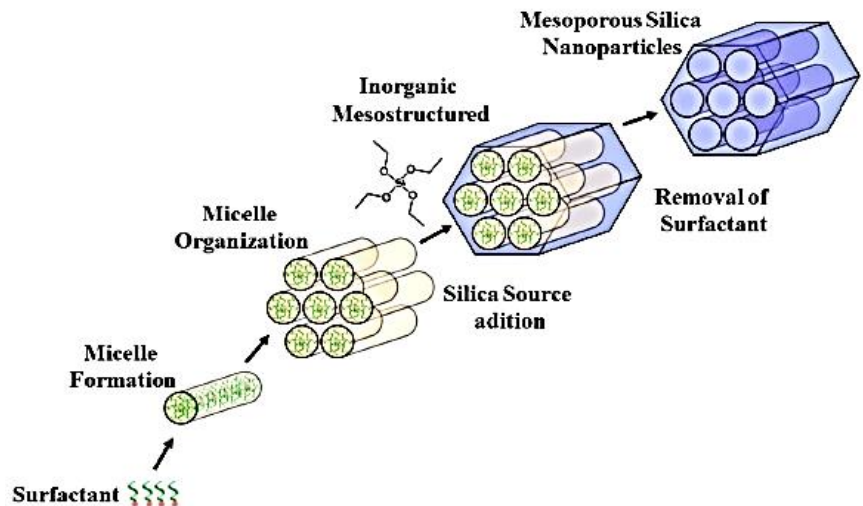
InNOVAcEnz nace en una Universidad de Ciencias Médicas, para la evaluación de biomarcadores de cáncer aunque, pertinentemente con la realidad de nuestro país, se vio obligado extenderse a otros sectores, como el saneamiento ambiental. Con muchos tropiezos, por detractores que no interiorizan la salud del ser humano depende en mucho del medio ambiente, y nos compete a todos.

Así, la acumulación de biomasa es una problemática preocupante cuando se analiza nuestro entorno; un potencial de energía renovable, que invita a analizar y evaluar los principales nichos ecológicos o de desechos industriales, para su utilización. Junto a ello se deben analizar las fuentes de enzima que tenemos a mano, donde los microorganismos aportan grandes ventajas. Muy válido tener en cuenta que varios microorganismos emplean la enzima Rodanasa: *Azotobacter vinelandii*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ferrobacillus ferroxidans*, *Thermobacillus denitrificans*, *Desulfotomaculum nitrificans*, *Fusarium sp.*¹², aunque sería pertinente analizar la composición microbiana de las zonas de vertimiento de nuestro objeto de biorremediación, incluido el sitio de drenaje, de modo que existan altas probabilidades que los aislamientos sean capaces de resistir elevadas concentraciones de cianuro, y ser potenciales para su implementación. Bien pudieran utilizarse microorganismos individuales o consorcio de ellos.

Las algas constituyen una fuente importante de recursos y energía renovables, con aplicaciones en múltiples sectores industriales.¹³⁻¹⁷ Así, se pretende ejecutar proyectos investigativos con especialistas en hongos y algas de la Universidad Marta Abreu de Villa Clara, en vistas de aprovechar su experticia y una vía de extensión de sus líneas de trabajo; muy enriquecedor para todas las partes.

La inmovilización de enzimas, complementada con la tecnología de los nanomateriales, consigue una fusión muy prometedora para la biorremediación. De igual manera los nanomateriales, con tamaños de partícula entre 1-100 nm (en al menos una dimensión); debido a su tamaño exhiben propiedades fisicoquímicas únicas y características ajustables, alta resistencia mecánica, bioactividad y reabsorbilidad mejoradas.¹⁸ A causa de lo anterior, los materiales nanométricos han llevado a diversas industrias como la electrónica, textil, medicina, cosmética, agricultura y de alimentación a rediseñar sus productos de manera novedosa y funcional. Entre ellos los nanotubos, grafenos, fullerenos, puntos cuánticos, nanoalambres,¹⁹ nanopartículas de Ag, Au, Ti, Zn, magnéticas y especialmente las nanopartículas de sílice mesoporosa (MSN), Estos MSN se forman por condensación de sílice en torno a micelas orgánicas, creando una matriz ordenada de estructuras porosas con cientos de mesoporos dispuestos a nivel atómico de forma hexagonal. (Figura 1) Se han reportado dos tipos de compuestos de estructuras porosas MCM-41 y SBA-15, los más usados en la actualidad.²⁰

Figura 1. Representación esquemática de la fabricación de nanopartículas mesoporosas de silica. Observe el paso de adición del silicato para estructurar la nanopartícula. Fuente: Correa et al. (2020) ²¹



Las MSN presentan ventajas sobresalientes, como facilidad de síntesis, alta biocompatibilidad, alta fase vítrea residual, valores de dureza mejorados, propiedades mecánicas robustas, composición química relativamente inerte,¹⁸ alta estabilidad frente a la degradación enzimática,²² alta capacidad de carga,²³ biodegradabilidad mejorada,²⁴ gran área de superficie ($>1000 \text{ mm}^2/\text{g}$)²⁵ y grandes volúmenes de poros adaptables (1.3-50 nm).²⁶ Además, tienen la capacidad de funcionalizarse con diferentes materiales y/o moléculas a través de la ingeniería de superficies.

Nuestro interés se enmarca en una de las industrias más importantes de nuestra región, la Empresa Electroquímica de Sagua la Grande, Villa Clara (ELQUIM), productora de silicato de sodio (Grado Comercial), además de otros productos.

Melendez y cols. (2013) muestran evidencias de la eficacia para generar nanopartículas mesoporosas de silica empleando silicato de sodio comercial.²⁷ Esto constituye un excelente nivel de partida para incursionar en la ingeniería de los nanomateriales y de la inmovilización de enzimas, en nuestra región.

Otro procedimiento que va ganando terreno, especialmente en la biomedicina, es la funcionalización y recubrimiento de las nanopartículas de sílice mesoporosa, para trunca la toxicidad asociada a la sílice debido a los grupos de superficie²⁸ (principalmente a los grupos silanol). Las MSN se pueden modificar covalentemente con grupos funcionales orgánicos e inorgánicos,²⁴ incluidos los hidruros que mejoran la entrega selectiva,¹⁸ biodistribución²⁸ y la adsorción electrostática de medicamentos con diferentes cargas²⁹ al impedir las interacciones indeseables entre las nanopartículas y el medio ambiente.³⁰

Entre los nanomateriales funcionalizados empleados en la inmovilización de enzimas están los llamados ORMOSIL, nanopartículas a base de sílice, que se conjugan con grupos funcionales para adquirir funciones adicionales. Estos grupos funcionales orgánicos pueden

ser: amino (-NH₂), carboxilo (-COOH), tiol (-SH), hidroxilo (-OH), entre otros. Para formar los ORMOSIL se utiliza el metasilicato de sodio (Na₂SiO₃) como precursor. ³¹ Cabe añadir que las partículas de sílice son, según la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, del inglés), “reconocidas generalmente como seguras” por su inocuidad y fácil síntesis; lo que ubica a los nanomateriales basados en sílice en un tema de investigación de la ingeniería biomédica. ³²

Los geles de sílice son una forma granular y porosa del óxido de silicio. Son más fuertes y consistentes que otros geles. Su estructura está formada por tetraedros de SiO₄ unidos por puentes siloxano (Si-O-Si) en su interior y en condiciones normales su superficie está cubierta por grupos hidroxilo, (silanol, Si-OH). Uno de los precursores más importantes para los geles de sílice es el metasilicato de sodio.

En el presente trabajo es de interés enfocar las aplicaciones de la enzima Rodanasa, especialmente en la biorremediación, ^{33,34} donde se implementen métodos de inmovilización. Paralelamente pudiera aprovecharse el sulfito formado por acción de la Rodanasa como sustrato para bacterias sulfurosas que produzcan sulfuro de hidrógeno, el cual podría ser bombeado hacia otro reactor con desechos de mercurio.

El H₂S forma amalgamas estables con el mercurio, devolviéndolo a su estado natural.

Una curiosa fuente de Rodanasa es el hígado del pez *Clarias gariepinus*,³⁵ introducido por la industria pesquera en el año 1999, y ha invadido descontroladamente nuestros ecosistemas dulceacuíferos como una amenaza a su equilibrio. No se tienen referencias sobre el empleo de su hígado, otra manera de aprovechar la biomasa como fuente renovable de recursos. Es un potente omnívoro que ha mostrado alto contenido de mercurio, al estar diseminado por el río Undoso, de Sagua la Grande, donde se vierten efluentes de la Empresa Electroquímica (ELQUIM).³⁶ Es válido aclarar que hace pocos años dicha empresa cambió su tecnología de electrodos de mercurio por otros de membrana.

Otra aplicación tentativa de la Rodanasa es en la industria de bebidas, donde evita la formación del etilcarbamato (uretano), un cancerígeno proveniente de plantas cianogénicas utilizadas para fabricar alcohol. ³⁷

Por otro lado, las enzimas inmovilizadas son insertadas en Biorreactores enzimáticos, lo cual contribuye a controlar las condiciones óptimas de los procesos productivos, y de hecho los rendimientos. Estos reactores han recibido atención tanto en el ámbito de investigación como industrial, por ser amigables con el medio ambiente y tener aplicaciones en las industrias química, alimentaria, farmacéutica, biotecnológica, etc.³⁸

Todas estas estrategias de biorremediación de efluentes contaminados con cianuro, podrían tener un positivo impacto ecológico y proveyerían tecnologías amigables con el medio ambiente, además de ser otra alternativa a los tratamientos físicos y químicos más costosos y extendidos.

Referencias bibliográficas

1. Pérez A. Caracterización petrográfica y mineralógica del sector aurífero Meloneras, Placetas, Villa Clara [Tesis de Grado]. Holguín, Cuba: Instituto Superior Minero Metalúrgico de Moa; 2015.
2. Quiala Y, Menéndez C, Rosa E, Díaz S. Enfoque de ciclo de vida en la inspección estatal ambiental a procesos en Cuba. *Revista Cubana de Ingeniería* 2018;9(2):69-80.
3. Chand T, Kumar V, Kumar V. Microbial Remediation of Cyanides. *Biorem Curr Res Appl* 2017. p.88-110. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/315668598>
4. Gordillo M. Biodegradación de cianuro en aguas y suelos contaminados por la minería de oro. [Tesis de Especialidad]. Bogotá, Colombia: Fundación Universidad de América; 2018.
5. Barua R, Kolman M, Aguila M, Zapata P, Alvarenga A. Aislamiento e identificación de microorganismos amilolíticos y tolerantes a cianuro de efluentes de la industria almidonera. *RECyT* 2021; 35: 6–13.
6. Sorbo B. Crystalline rhodanese. Enzyme catalyzed reaction. *Acta Chem Scand* 1953; 7:1137–1145. doi:10.3891/acta.chem.scand.07-1137.
7. Westley J (ed) Rhodanese and the sulphane pool. En: Jakoby WB (ed) *Enzymatic basis of detoxification*, vol 2. New York, Estados Unidos: Academic Press; 1980; pp 245–259.
8. González J. Actualización en biomarcadores predictores de respuesta a fármacos La visión del Oncólogo. Fundación Madrileña. XIII "Update in surgical pathology". Madrid, Nov 30–Dic 1, 2017. [consultado el 22 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.seap.es/documents/10157/1557222/Biomarcadores+predictivos.+La+visi%C3%B3n+del+onc%C3%B3logo.+Definitiva.+ppt.pdf/08ee919d-c764-4980-81aa-785b0c2b2209>.
9. Aydogan B, Radosevich J, editores. *Precision Medicine in Oncology*. Nueva Jersey, Estados Unidos: Wiley-Blackwell; 2020.
10. Olivares M, Pereyra C, Richardson D, Reyes O. Marcadores tumorales y su valor en ginecología. *Cienc Salud*. 2020; 4(1):27–47. [consultado el 20 de abril de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.22206/cysa.2020.v4i1.pp27-47>

11. Fouad Y, Aanei C. Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer Res* 2017; 7, 1016–1036. [consultado el 20 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5446472/>.
12. Alvillo A, Garrido S, Buitrón g, Thangarasu P, Rosano G. Biological treatment for the degradation of cyanide: A review. *J Mat Res Technol* 2021; 12:1418-1433.
13. de Assis L, Calijuri M, do Couto E, Assemany P. Microalgal biomass production and nutrients removal from domestic sewage in a hybrid high-rate pond with biofilm reactor. *Ecol Eng* 2017;106:191–199.
14. Wayne K, Ying J, Loke P, Hui N, Ching J, Chuan T et al. Microalgae biorefinery: high value products perspectives, *Bioresour Technol* 2017.
15. Adamia G, Chogovadze M, Chokheli L, Gigolashvili G, Gordeziani M, Khatisashvili G et al. About possibility of alga *Spirulina* application for phytoremediation of water polluted with 2,4,6-trinitrotoluene. *Ann Agrar Sci* 2018;16:348–351.
51. Rodríguez R, Espada U, Moreno J, Vicente G, Bautista L, Morales V et al. Environmental analysis of *Spirulina* cultivation and biogas production using experimental and simulation approach. *Renew Energy* 2018;129:724–732.
16. Feng H, He Z, Zhang B, Chen H, Wang Q, Kandasamy S. Synergistic bio-oil production from hydrothermal co-liquefaction of *Spirulina platensis* and α -Cellulose. *Energy* 2019.
17. Feng H, He Z, Zhang B, Chen H, Wang Q, Kandasamy S. Synergistic bio-oil production from hydrothermal co-liquefaction of *Spirulina platensis* and α -Cellulose. *Energy* 2019.
18. Tsamesidis I, Pouroutzidou G, Lymperaki E. Effect of ion doping in silica-based nanoparticles on the hemolytic and oxidative activity in contact with human erythrocytes. *Chem Biol Interact* 2020; 318.
19. Lizarazo C, Gonzáles E, Arias C, Guarguati J. Nanomateriales: un acercamiento a lo básico. *Med Secur Trab* 2018 [online]. 64 (251), pp. 109-118. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/mesetra/v64n251/0465-546X-mesetra-64-251-00109.pdf>.
20. Hoang T, Cao V, Nguyen T. Functionalized mesoporous silica nanoparticles and biomedical applications. *Mater Sci Eng C* 2019;99:631-656.
21. Corrêa G, Sábio R, de Cássia T, Monteiro A, Vassalo D, Lima S et al. Highlights in Mesoporous Silica Nanoparticles as a Multifunctional Controlled Drug Delivery Nanoplatform for Infectious Diseases Treatment. *Pharm Res* 2020;37: 191.
22. Poostforooshan J, Belbekhouche S, Shaban M. Aerosol-assisted synthesis of Tailor-Made hollow mesoporous silica microspheres for controlled release of antibacterial and anticancer agents. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020;12(6):6885-6898.

23. Cheng Y, Zhang Y, Deng W, Hu J. Antibacterial and anticancer activities of asymmetric lollipop-like mesoporous silica nanoparticles loaded with curcumin and gentamicin sulfate. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2020;186:1-10.
24. Deodhar G, Adams M, Trewyn B. Controlled release and intracellular protein delivery from mesoporous silica nanoparticles. *Biotechnol J* 2017;12(1):1-11.
25. Yanagisawa T, Shimizu Y, Wu K, Lee C. Development of glycyrrhizin-conjugated, chitosan-coated, lysine-embedded mesoporous silica nanoparticles for hepatocyte-targeted liver tissue regeneration. *Materialia* 2019;9:1-12. DOI: 10.1016/j.mtla..100568.
26. Gounani Z, Asadollahi M, Pedersen J. Mesoporous silica nanoparticles carrying multiple antibiotics provide enhanced synergistic effect and improved biocompatibility. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2018;175:498-508. DOI: 10.1016/j.colsurfb..12.035.
27. Meléndez H, Mercado A, García L, Castruita G, Perera Y. Hydrothermal synthesis of mesoporous silica MCM-41 using commercial sodium silicate. *J Mex Chem Soc* 2013;57(2):73-79.
28. Downing M, Jain P. Nanoparticles for Biomedical applications, cap. 16, Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, properties, and biomedical applications. Department of quimical engineering, Florida, USA. [on line]. 2019, [consulted on: 16 de mayo 2020], Disponible en: <http://DOI: 10.1016/B978-0-12-816662-8.00016-3>.
29. Li T, Shi S, Goel S. Recent advancements in mesoporous silica nanoparticles towards therapeutic applications for cáncer. *Acta Biomater* 2019;89:1-13. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.02.031.
30. Bakhshian A, Zare H, Razavi S. Smart drug delivery: capping strategies for mesoporous silica nanoparticles, *Microporous Mesoporous Mater* 2020;299:110115, 2020. DOI: 10.1016/j.micromeso..110115.
31. Piñón A. Efecto de la concentración de precursores en las propiedades de silicatos orgánicamente modificados con polietilenglicol (PEG) [Tesis de Grado]. Ciudad Juárez Chihuahua, México: Instituto de Ingeniería y Tecnología; 2017.
32. Feng Y, Panwar N, Tng D, Tjin S, Wang K, Yong K. The application of mesoporous silica nanoparticle family in cancer theranostics. *Coordination Chemistry Reviews* 2016; Review Article 4/30.
33. Aponte H. Development of soil quality indices based on biological indicators to assess chemical soil degradation by metal(loid)s in soils near to a copper smelter [Tesis Doctorado]. Temuco, Chile: Universidad de la Frontera; 2020.

34. Dwivedi N, Balomajumder C, Mondal P. Application of microorganisms in biodegradation of cyanide from waste water. *Advances in Microbial Biotechnology* 2018. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/326682652>.
35. Titilayo O, Kayode F, Kuku A, Afolayan A. Physicochemical and kinetic characteristics of rhodanese from the liver of African catfish *Clarias gariepinus* Burchell in Asejire lake. *Fish Physiol Biochem* 2010;36:573–586.
36. de La Rosa D, Lima L, Olivares S, Graham D, Enriquez I, Diaz O et al. Assessment of Total Mercury Levels in *Clarias gariepinus* from the Sagua la Grande River, Cuba. *Bull Environ Contam Toxicol* 2009;82:101–105.
37. Taki N, Imamura L, Takebe S, Kobashi K. Cyanate as a precursor of ethyl carbamate in alcohol beverages. *Jpn J Toxicol Environ Health* 1992; 38(6): 498-505.
38. Ceballos L, Farías L, Rosales L, Problemas y soluciones en el diseño de reactores enzimáticos. *Investigación y Ciencia* 2016; 24(67):pp.78-85.