

ARTÍCULO DE REVISIÓN

UN ACERCAMIENTO A LA BIORREMEDIACIÓN DE CIANURO EN AGUAS RESIDUALES, EMPLEANDO MICROORGANISMOS.

Elena Carvajal Ciomina¹, <https://orcid.org/0000-0001-7158-2464>, elena.carvajal@nauta.cu

Lidia González Méndez², <http://orcid.org/0000-0003-0583-1738>, lgmendez@nauta.cu

Ahmed Amaury Ruiz Moré³, <https://orcid.org/0000-0003-1838-4607>, ahmedamaury9@gmail.com

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.

La industrialización es un arma de doble filo si no se hace un manejo adecuado tanto de los recursos materiales empleados como de los subproductos y desechos generados. Muchas producciones requieren del empleo del cianuro o algún derivado, lo cual tiene como inconveniente su alta contaminación al medio ambiente. En nuestro país suelen aplicarse métodos físicos y químicos con el fin de contrarrestar estos efectos dañinos, pero indudablemente la biorremediación va imponiendo sus pautas. Villa Clara es una provincia que cuenta con una geominera para la extracción de oro empleando cianuro, que es arrastrado en las aguas residuales afluentes. Motivado por lo anterior se decide hacer una revisión exhaustiva sobre el tema de la biorremediación, mediante el empleo de microorganismos. Es indudable el enorme potencial que poseen los microorganismos para la descontaminación del medio ambiente, sea como monocultivos o en consorcio con otros, donde la tecnología de los biorreactores juega un rol preponderante en la eficacia y eficiencia de los procesos.

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

Abstract:

Industrialization is a double-edged sword if the material resources used and the by-products and wastes generated are not properly managed. Many productions require the use of cyanide or some derivative, which has the disadvantage of high environmental pollution. In our country, physical and chemical methods are usually applied to counteract these harmful effects, but undoubtedly bioremediation is

imposing its guidelines. Villa Clara is a province that has a geominig plant for the extraction of gold using cyanide, which is dragged in the tributary wastewater. Motivated by the above, it was decided to make an exhaustive review on the subject of bioremediation, through the use of microorganisms. There is no doubt about the enormous potential that microorganisms have for the decontamination of the environment, either as monocultures or in consortium with others, where bioreactor technology plays an important role in the efficacy and efficiency of the processes.

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

1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas han ido ganando espacios en todos los sectores de la vida humana. Se encuentran representadas en la industria química y agroalimentaria, el saneamiento ambiental, y en la biomedicina. La Rodanasa es una enzima con grandes potencialidades, especialmente para el seguimiento de la contaminación por cianuro, susceptible en zonas aledañas a la Geominera de Placetas, municipio de Villa Clara, donde se realiza la extracción de oro mediante cianuración.¹

La utilización del cianuro de sodio es el que más incide en la contribución total de los procesos involucrados, principalmente en la formación de partículas, seguido del cambio climático del ecosistema y salud humana.²

Estos problemas se pueden mitigar buscando vías alternativas para la extracción del oro, aunque es válido aclarar que el cianuro ha logrado aumentar considerablemente los rendimientos en la producción, muy por encima incluso de la extracción con mercurio.²

El Análisis del Ciclo de Vida comparativo después de tomadas las medidas, arrojó excelentes resultados en cuanto a la disminución del impacto de las categorías relacionadas con la ecotoxicidad, demostrándose la factibilidad ambiental de la implementación de las medidas...aunque como vemos aún queda mucho por hacer y pudieran implementarse otras herramientas que vayan a la aplicación de métodos de biorremediación.

Estos métodos, que emplean microorganismos, células y sus productos, pueden implementar la enzima Rodanasa, gracias a su especificidad por el cianuro.

Existen además, ciertos procedimientos que implican la biorremediación del cianuro; algunos emplean métodos químicos, ³ otros microorganismos, ⁴ y otros enzimas aisladas provenientes ellos, ⁵ para la eliminación de cianuro generados en la industria de extracción de oro.

Un sitio en el punto de mira dentro de nuestra región es la Geominera de Placetas, ² que cuenta con una laguna de oxidación adonde lixivian aguas residuales cargadas del mencionado contaminante, con impactos desfavorables para la biosfera.

Estos estudios son pertinentes de implementar pues existen muchas fuentes de cianuro subvaloradas, a veces por conveniencia, y debe ganarse tiempo en identificarlas y atenuar sus vertimientos, ya que la eliminación de los efluentes sin tratamiento pone en riesgo los ecosistemas acuáticos y la salud humana. ⁶

Teniendo en cuenta lo anterior se pretende actualizar y analizar diversos procedimientos para la biorremediación del cianuro, especialmente en aguas residuales. Se hace énfasis en el empleo de microorganismos, lo cual abre nuevos cauces para el tratamiento de contaminantes en nuestras comunidades.

2. Generalidades sobre biorremediación de cianuro.

2.1. Fuentes de cianuro.⁷

Múltiples son las fuentes generadoras de cianuro: las naturales y las generadas por la amplia actividad antropogénica. Dentro de las fuentes naturales están: a) Algas cianogénicas (*Chlorella vulgaris*, *Plectonema boryanum*, *Anacystis nidulans*); b) Bacterias cianogénicas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas chlororaphis*); c) Plantas cianogénicas (*Manihot esculenta*, *Sorghum bicolor* (sorgo), *Linum usitatissimum*, *Alocasia macrorrhizos* y *Bambuseae* (bambú)), donde existen alrededor de 2000 fuentes naturales de cianuro, como por ejemplo almendras, cerezas, alfalfa, rábano, legumbres, col, coliflor, brócoli, nabos, entre otras plantas. Asimismo, está presente en bacterias, hongos, algas e incluso en algunos insectos". ⁸

De las derivadas de la actividad del hombre, las plantas de coque, la manufactura de pinturas, pesticidas, explosivos y autos; el refinamiento de aceites y las industrias química y minera. ⁷

Desde el punto de vista químico sus estructuras se clasifican como: ⁹

Nombre común	Grupo de cianuro	Compuestos
Cianuros inorgánicos como complejos disociables de ácido débil	Cianuro libre	CN ⁻ , HCN
	Cianuro simple	NaCN, KCN, Ca(CN) ² , Hg(CN) ₂
	1. Fácilmente soluble	Zn(CN) ₂ , Cd(CN) ₂ , Cu(CN),
	2. Sales neutras insolubles	Ni(CN) ₂ , Ag(CN)
	Complejos de cianuro débiles	Zn(CN) ₄ ²⁻ , Cd(CN) ₃ ⁻ , Cd(CN) ₄ ²⁻
Cianuros inorgánicos como complejos disociables de ácido fuerte	Complejos de cianuro moderadamente fuerte	Cu(CN) ₂ ⁻ , Cu(CN) ₃ ²⁻ , Cu(CN) ₄ ³⁻ , Ni(CN) ₄ ²⁻ , Ag(CN) ₂ ⁻
	Complejos de cianuro fuertes	Fe(CN) ₆ ⁴⁻ , Co(CN) ₆ ⁴⁻ , Au(CN) ₂ ⁻ , Fe(CN) ₆ ³⁻
	Tiocianato	SCN ⁻
	Cianato	CNO
Cianuros orgánicos (nitrilos):	Alifáticos	Propionitrilo, acetonitrilo, acrilonitrilo
	Aromáticos	Benzonitrilo, cianopiridina
	Cianolípidos	Linamarina, amigdalina, durrina

2.2. Descontaminación del cianuro.

Haciendo uso de diferentes procesos se han desarrollado diferentes opciones para tratar las aguas residuales. Así, son utilizadas dos tecnologías combinadas: tratamiento y reciclado. El tratamiento incluye procesos como: degradación natural, oxidación química, precipitación, cloración alcalina, adsorción, acidificación, quelación, procesos electroquímicos, evaporación, Intercambio iónico, radiación UV y conversión.⁸ Esta última para transformar el cianuro en compuestos menos tóxicos como el tiocianato o ferrocianato. ⁴

Algunas fábricas procesan sus efluentes utilizando lagunas de decantación como un paso que favorece la degradación aeróbica de los compuestos orgánicos. En la actualidad, la incorporación de un proceso adicional de tratamiento anaeróbico permite la producción de biogas a partir de esos efluentes y logra minimizar la toxicidad de ácido cianhídrico. ¹⁰

2.2.1. Biorremediación de cianuro con el empleo de microorganismos.

Los procesos anteriormente mencionados comparten una característica, los microorganismos se desarrollan en un medio donde pueden moverse sin restricciones; no obstante, los microorganismos inmovilizados presentan ventajas respecto a estos. Además, es aconsejable que los microorganismos permanezcan a

altos niveles de pH (alcalófilos) para evitar la volatilización del cianuro y en turno degradar el cianuro libre y el tiocianato.¹¹

Existen bacterias y hongos que pueden metabolizar el cianuro como única fuente de nitrógeno y carbono para originar productos finales no tóxicos, tanto en ambientes aerobios como anaerobios, incluyendo *Bacillus punillus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas paucimobii*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Leptosphaeria maculans*, *Fusarium oxysporum*, *Burkholderia cepacia*, *Trichoderma* sp., *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* y *Azotobacter vinelandii*.¹²

Algunos trabajos han reportado el aislamiento de bacterias como *Proteus* y *Pseudomonas* a partir de muestras tomadas en el punto de descarga de aguas residuales.¹³ Además, se considera que estas últimas poseen un gran potencial de biorremediación cuando forman consorcios con otras especies bacterianas.¹⁴ Bacterias del género *Acinetobacter* son abundantes en ambientes naturales.¹⁵

En otras investigaciones se ha demostrado la capacidad de *Pseudomonas aeruginosa* en la biodegradación de cianuro libre bajo condiciones alcalinas,¹⁶ por lo que su presencia y aislamiento a partir de muestras de efluentes industriales podría sugerir su potencial como biorremediador de las aguas residuales.

Lo anterior se conoce como proceso de degradación biológico o biorremediación, definido como “el uso de organismos vivos, componentes celulares o enzimas libres con el fin de realizar mineralización, transformación parcial o humificación de residuos o agentes contaminantes”.⁴ También se considera un tratamiento secundario ya que está ligado a los procesos microbiológicos aerobios y anaerobios.

En el caso de los procesos anaerobios, son consideradas opciones atractivas de degradación ya que puede producirse biogás con poca demanda biológica de oxígeno, requerir pequeños volúmenes y poca energía lo que lo hace más económico en comparación con procesos aerobios. Así, la identificación de microorganismos capaces de transformar cianuro en metano, los procesos anaerobios serían más factibles y eficientes para las biotecnologías de remoción de contaminantes”.¹⁷

Estos tratamientos varían sus características y eficacia dependiendo del tipo de proceso, sea *in situ* (aplicado en el lugar contaminado) y *ex situ* donde se retira el suelo contaminado y se lleva a un lugar especializado para realizar el tratamiento.

Una alternativa para el tratamiento de estos efluentes industriales es mediante estrategias de bioestimulación y bioaumentación. La primera, consiste en la adición de componentes que mejoren la actividad metabólica de los microorganismos

presentes en el sitio contaminado, mientras que en la segunda se incorporan bacterias que sean capaces de eliminar ciertos compuestos tóxicos. En ambos casos se presenta como desafío la prevalencia de los microorganismos cuya actividad fisiológica sea la indicada para el proceso de remediación. Por este motivo, es necesario conocer la diversidad de microorganismos presente en los efluentes para establecer las capacidades metabólicas in situ, ya sea para mejorar el proceso de bioestimulación o para seleccionar aquellos que serán reintroducidos a mayor escala en el ambiente contaminado.¹⁸

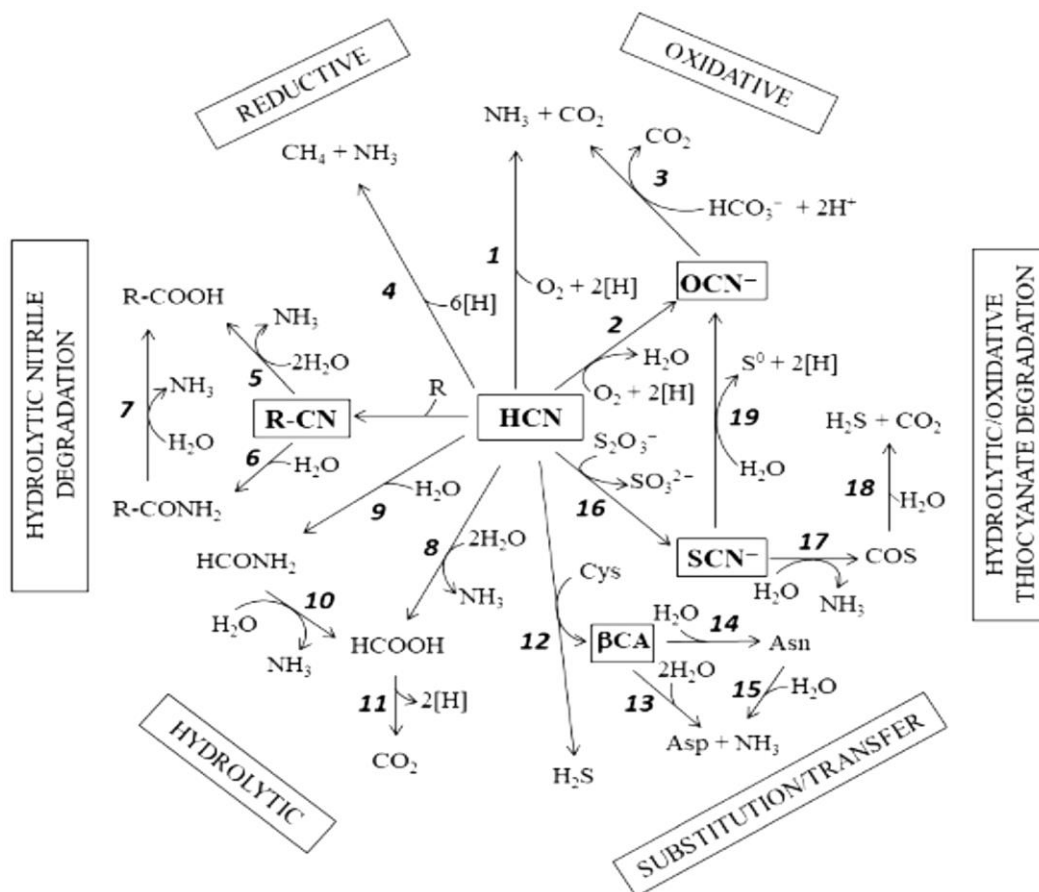
Como ayuda para entender mejor los diferentes caminos que tienen los microorganismos para degradar cianuro, Almagro y cols. (2017),¹⁷ brindan un esquema bien representativo, donde se evidencian todos los productos intermediarios durante el desarrollo de las reacciones; tomando también los nitrilos y tiocianato que estos pueden transformar.

Explicaremos sólo dos de ellas, por la importancia que revisten para la actual revisión: las reacciones de sustitución / transferencia.

Existen dos tipos de reacciones de asimilación de cianuro: de sustitución y síntesis de aminoácidos:¹⁹

- β -Cianoalanina sintasa. En este caso, la enzima, presente en las mitocondrias de plantas superiores e insectos, cataliza la conversión de la cisteína en β -cianoalanina y sulfuro, según: $\text{HCN} + \text{HSCH}_2\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{H} \rightarrow \text{NCCH}_2\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{H} + \text{H}_2\text{S}$.
- Tiosulfato sulfurotransferasa (Rodanasa). Esta enzima es encontrada en la fracción mitocondrial del hígado y riñones de los animales. Cataliza la conversión del cianuro en tiosulfato para producir tiocianato y sulfito.

Algunos microorganismos emplean más de un mecanismo para asimilar el cianuro, y otros pueden solo usar uno.



Fuente: Almagro et al. (2017) ¹⁷

Dependiendo de las enzimas presentes en los microorganismos, las reacciones producen ácido fórmico, formamida, o amoníaco, los cuales de hecho pueden transformarse en nitrito o nitrato. ^{9,20}

De acuerdo con la teoría, se han logrado conocer los tiempos que toman algunos microorganismos para realizar dicha labor de degradación. ²⁰

Un estudio realizado en suelos de minas de oro reveló tres consorcios de microorganismos obtenidos allí, aislados, lavados con caldo nutritivo e incubado a temperatura ambiente y finalmente se conservaron en agar nutritivo inclinado con aceite mineral. Para identificar los microorganismos más eficientes, a las diferentes incubaciones de los consorcios se les aumentaba la concentración de cianuro de potasio en el caldo, esto se realizaba en condiciones aerobias y anaerobias con un pH de 7.

Una referencia muy completa sobre estos temas es abordada por Alvillo y cols. (2021),²¹ quienes analizan diversas estrategias de biorremediación empleando microorganismos, o consorcios de ellos, sus medios de cultivo, los biorreactores

empleados, los soportes de inmovilización, los tiempos de retención, empleo de agitación y oxigenación, así como las eficiencias de los procesos.

Las enzimas que son responsables para la biodegradación del cianuro son generalmente producidas en condiciones mesofílicas, las cuales ocurren a temperaturas óptimas de 20-40°C. ¹¹

Los principales factores que afectan la biodegradación del cianuro son: concentración inicial de cianuro, concentración inicial de biomasa, disponibilidad de oxígeno, pH, temperatura, tiempo de retención, velocidad de agitación, y fuente de carbono adicional.

Se describen, además, los sistemas de biomasa suspendida e inmovilizada, así como estudios implementados en el laboratorio con estos sistemas para la degradación biológica del cianuro con cepas puras o consorcios microbianos.

Alvillo y cols. (2021)²¹ refieren varias condiciones de cultivo de diversos microorganismos, resaltamos aquellos que emplean tiocianato como fuente de nitrógeno: la *Kleibsell*, con glucosa como fuente de carbono; KCN y KSCN como aporte de nitrógeno; las *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Kleibsell*, con glucosa como fuente de carbono; fosfatos, SCN- como aporte de nitrógeno.

Para la biodegradación del cianuro se han implementado varios sistemas de biomasa suspendida. Resaltaremos algunas de ellas por su alta eficiencia y dado nuestro interés: para *Pseudomonas parafulva* se emplea KCN como fuente de nitrógeno y como fuente de carbono glucosa y extracto de levadura; ²² para *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT 5344 se emplea NaCN como fuente de nitrógeno; ²³ para la *Klebsiella pneumoniae* se emplea KCN como fuente de nitrógeno y como fuente de carbono el medio de cultivo con sacarosa; ²⁴ para *Bacillus* sp., *Bacillus*, *Klebsiella*, *Providencia* y *Pseudomonas* se emplea SCN como fuente de nitrógeno y como fuente de carbono el medio con fosfatos y glucosa; ²⁵ para *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Alcaligenes* se emplea KCN como fuente de nitrógeno; ⁵

Otro importante factor a tener en cuenta es la concentración del inóculo adicionado al inicio del tratamiento. Este generalmente está en el rango de $1 \cdot 10^7$ a $1 \cdot 10^9$ UFC/mL cuando se trabaja en un proceso en batch. ^{22,26}

Aunque hay muchos materiales que pueden inmovilizar la biomasa, los más estudiados son las rocas (granito, tezontle volcánico), arcilla, y materiales sintéticos (polipropileno, polietileno, poliuretano, poliestireno, y otros plásticos). ²⁷

Otros estudios utilizan otros materiales naturales como roca granito, cáscara de cítricos, celulosa y gravilla y materiales sintéticos como acero, geotextiles, alginato que afectan directamente las concentraciones de la biomasa en el tratamiento. ²⁸ El tiempo de retención, la agitación, y el flujo dependen de la configuración de los reactores en el rango de 8 h a 200 días. ²⁹

Para la biodegradación del cianuro se han implementado varios sistemas de biomasa inmovilizada. Para ilustrarlo solo se ejemplifican algunas de ellas.

- Para el *Bacillus sp.* se emplea KCN como fuente de nitrógeno y como fuente de carbono el medio de cultivo con sacarosa; requiere una concentración inicial de CN- de 300 mg/L; un tiempo de retención de 10 h a 5 rpm; un pH de 10.5; una temperatura de 20 °C y 2 mg/L de O₂; una concentración de inóculo de 15% (v/v) ($2.5 \cdot 10^7$); todo en un soporte con discos de acero sumergidos un 40%. Se logra una eficiencia de un 97% de remoción de cianuro y una concentración final hasta 9 mg/L. ²⁶
- Para un consorcio bacteriano se emplea tiocianato, cianato y cianuro como fuente de nitrógeno y como fuente de carbono glucosa o glicerina; requiere una concentración inicial de 100-500 mg/L de tiocianato, 60 mg/L de cianato y < 10 mg/L de cianuro; un tiempo de retención de 200 días; TRH = 3 horas; un pH entre 7.4-7.6; una temperatura de 5 °C y 3 mg/L de O₂; todo en un soporte Anox Kaldnes. Se logra una eficiencia de un 98-99 % de remoción de tiocianato, 90 % de cianato y 95% de cianuro y una concentración final entre 0.78-1.32 mg/L de tiocianato, 5.5 mg/L de cianato y 0.5 mg/L de cianuro. ²⁹
- Para un consorcio de la planta de tratamiento de agua residual se emplea cianuro y tiocianato como fuente de nitrógeno; requiere una concentración inicial de cianuro de 5.8 mg/L, de tiocianato 37 mg/L; tiempos de retención de 0.45, 1.24 y 2.4 horas; un pH entre 7-8.5; una concentración de inóculo de 10.5 g/L; todo en un soporte de gravilla (297 m²/m³). Se logra una eficiencia de un 99% de remoción de cianuro y un 93 % de tiocianato y una concentración final de 0.06 mg/L de cianuro y 1.7 mg/L de tiocianato. ²⁸

Los procesos de biorremediación para el tratamiento de metales emplean varios mecanismos para convertir estos en formas menos tóxicas: biosorción, bioprecipitación, biofiltración y biovolatilización.

Las bacterias y hongos son los microorganismos más comúnmente empleados en los procesos de biorremediación de metales pesados. ³⁰

Karamba et al. ³¹ evaluaron la degradación del KCN con la inmovilización de la bacteria *S. marcescens* AQ07 bacteria. Analizaron los efectos de diversas variables empleando un método de un-factor-en-cada-momento: varios tamaños de partícula del lecho de inmovilización y diferentes concentraciones, pero con agitación constante de 150 rpm, por 24 h y a temperatura ambiente. El proceso empleó medio buffer fosfato a pH 6 y glucosa como fuente de carbono. Obtuvieron así la combinación de factores con una máxima remoción de cianuro del 98%.

Subsecuentemente, la degradación de cianuro en presencia de 10 metales pesados evaluados (Hg, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ag, Ni, Pb y Zn) a una concentración de 1 mg/L. Los resultados mostraron un 62 % de eficiencia cuando acomplejaron con el Hg, comparado al 98 % en presencia de los otros metales.

Conclusiones

Las aguas residuales conteniendo cianuro pueden ser tratadas por biorremediación. Para ello es factible el empleo de microorganismos en cultivos, aeróbicos o anaeróbicos en biorreactores. Así, las demandas de oxígeno son controladas, como el pH, la temperatura, el tiempo de retención, y otros, lo cual presupone un amplio estudio previo a nivel de laboratorio antes de su escalado a niveles industriales.

BIBLIOGRAFÍA

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. BQE Water. Nuestras Tecnologías Para Tratar Cianuro / STAR. [Página Web]. [Consultado el 11 enero 2018]. Disponible en: <https://www.bqewater.com/es/soluciones-tecnologicas/cianuro-sart/>.
4. Garcés A, Agudelo L, Macías K. Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro. Revista La Sallista de Investigación. Vol 3. Núm 1. Antioquia. [En línea]. 2009. p.8-10 [Consultado 13,03,2021]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69530103>

5. Cornejo M. Biorremediación de relaves mineros con un consorcio microbiano nativo caracterizado molecularmente y productor de enzimas degradadores de cianuro y derivados [Tesis de Maestría]. Lima, Peru: Universidad Nacional de Tumbes; 2016.
6. 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.
7. Chand T, Kumar V, Kumar V. Microbial Remediation of Cyanides. Bioremed Curr Res Appl 2017. p.88-110. Disponible en:
<https://www.researchgate.net/publication/315668598>.
8. 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
9. Copari A. Biodegradation of cyanide by Klebsiella sp under different conditions of physicochemical factors at the aerated bioreactor level [Tesis]. Tacna, Peru: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna; 2019.
10. Sharma M, Akhter Y, Chatterjee S. A review on remediation of cyanide containing industrial wastes using biological systems with special reference to enzymatic degradation, World J Microb Biotech 2019; 35: 70.
11. Flores Y. Removal of pharmaceutical compounds in reactors with immobilized biomass [Tesis Doctoral]. Ciudad de Mexico, Mexico: Universidad Nacional Autónoma de Mexico; 2017.
12. Kumar R, Saha S, Dhaka S, Kurade M, Kang C, Baek S et al. Remediation of cyanide-contaminated environments through microbes and plants: a review of current knowledge and future perspectives. Geosys Eng 2017; 20: 28-40.
13. Izah S, Enaregha E, Epidi O. Changes in insitu water characteristics of cassava wastewater due to the activities of indigenous microorganisms. MOJ Toxicol 2019; 5:78-81.
14. Enerijiofi K, Ekhaize F, Ekomabasi I. Biodegradation potentials of cassava mill effluent by indigenous microorganisms. J Appl Sci Env Manag 2017; 21:1029-1034.
15. Atrouni A, Joly M, Hamze M, Kempf M. Reservoirs of non-baumannii Acinetobacter species. Frontiers Microbiol 2016; 7:49.
16. Mekuto L, Ntwampe K, Kena M, Golela M, Amodu O. Free cyanide and thiocyanate biodegradation by Pseudomonas aeruginosa STK 03 capable of heterotrophic nitrification under alkaline conditions”, Biotech 2016; 6:6.

17. Almagro V. Exploring anaerobic environments for cyanide and cyano-derivates microbial degradation. *Applied Microbiol Biotechnol* 2017; p.1067-1074.
18. Kuppusamy S, Venkateswarlu K, Megharaj M, Vasudevan N, Lee Y. Biostimulation and Bioaugmentation: Modern Strategies for the Successful Bioremediation of Contaminated Environments. *The Handbook of Environmental Remediation*, 2020, pp. 299-330.
19. Park J, Trevor B, Benedik M. Cyanide bioremediation: the potential of engineered nitrilases. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017;101.
20. Luque-Almagro VM, Cabello P, Sáez L, Olaya A, Moreno C, Roldán M. Exploring anaerobic environments for cyanide and cyano-derivatives microbial degradation. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018;102(3):1067-74.
21. 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. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.03.030>
22. Moradkhani M, Yaghmaei S, Nejad ZG. Biodegradation of cyanide under alkaline conditions by a strain of *Pseudomonas putida* isolated from gold mine soil and optimization of process variables through response surface methodology (RSM). *Period Polytech Chem Eng* 2018; 62(3):265-73.
23. Cabello P, Luque V, Olaya A, Sáez L, Moreno C, Dolores M. Assimilation of cyanide and cyano-derivatives by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344: from omic approaches to biotechnological applications. *FEMS (Fed Eur Microbiol Soc) Microbiol Lett* 2018;365(6):1-7.
24. Avcioglu N, Bilkay I. Biological Treatment of Cyanide by Using *Klebsiella pneumoniae* Species. En: *Food Technology and Biotechnology*. Octubre 2016.vol. 54, p. 450-454.
25. Mekuto L, Ntwampe S, Mudumbi J. Microbial communities associated with the co-metabolism of free cyanide and thiocyanate under alkaline conditions. *3 Biotech* 2018;8(93):1-11.
26. Guamán M, Nieto D. Evaluation of the rotational speed and carbon source on the biological removal of free cyanide present on gold mine wastewater, using a rotating biological contactor. *Journal of Water Process Engineering* 2018; 23:84-90.
27. Smith H. Treatment of wastewater from residential marine platforms using immobilized biomass systems [Tesis de Maestría]. Ciudad de México, Mexico: Universidad Nacional Autonoma de México; 2016.

28. Di Biase A, Wei V, Kowalski M, Bratty M, Hildebrand M, Jabari P, et al. Ammonia, thicyanate, and cyanate removal in an aerobic up-flow submerged attached growth reactor treating gold mine wastewater. *Chemosphere* 2020;243:1-9.
29. Vincent S, Dale C, Young B, Laliberte M, Pouzenc A. Gold mine effluent treatment: cyanide compounds and total nitrogen biodegradation using moving bed biofilm reactor. *Water Environment Federation* 2016. p. 5636-51.
30. Rosas J. Identification of heavy metal tolerant halophytic bacteria [Tesis de Maestría]. Toluca, Mexico: Universidad Autonoma del Estado de Mexico; 2017.
31. Karamba K, Ahmad S, Zulkharnain A, Yasid N, Khalid A, Shukor M. Biodegradation of cyanide and evaluation of kinetic models by immobilized cells of *Serratia marcescens* strain AQ07. *Int J Sci Technol* 2017; 14:1945-58.