

Aislamiento y adaptación de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* en un efluente de proceso de cianuración de minerales auríferos

Isolation and adaptation of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* from a cyanidation process effluent of auriferous minerals

Vladimir Alejandro Arias-Arce^{1,a}, Tito Libio Sánchez-Rojas^{2,b}, Yuri Castillo-Aldave^{3,c}, Ricardo Vega-Alave^{3,d}

Recibido: 26/06/2023 - Aprobado: 22/08/2023 – Publicado: 15/12/2023

RESUMEN

En el presente trabajo se describe el aislamiento y selección de cepas bacterianas del género *Pseudomonas* en medios cetrimida, acetamida y agar king B, a partir del efluente del proceso de cianuración y del depósito de relaves de la Planta de Procesamiento de Mineral Aurífero, Caravelí – Arequipa. Posteriormente, se realizó la adaptación en medio mínimo mineral modificado (M9M), a diferentes concentraciones de cianuro de sodio, para evaluar la tolerancia y la degradación del radical CN⁻.

Los resultados de las siembras en distintos medios nutritivos permitieron observar cambios en la coloración con viraje de transparente claro a rojo intenso en medio acetamida y de transparente a verde fluorescente en medio agar king B, revelando la presencia de la bacteria *P. pseudoalcaligenes*. De manera similar, durante el proceso de adaptación de una cepa cuya población celular inicial fue de 2.0E+06 UFC/mL, en medios suplementados a 50, 100, 150, 200 y 250 ppm de cianuro libre, a las siguientes condiciones: temperatura de 30°C, pH de 10.5, agitación a 150 rpm y en un periodo de 72 horas; se observaron, que las cepas presentes en los medios de 50 y 100 ppm de cianuro libre, presentan resistencia y muestran crecimiento y, contrariamente las cepas en mayor concentración de cianuro, muestran limitada acción de crecimiento y adaptación.

Palabras claves: Adaptación, aislamiento, efluentes de cianuro, mineral aurífero, *P. pseudoalcaligenes*

ABSTRACT

This work describes the isolation and selection of bacterial strains of the genus *Pseudomonas* in Cetrimide, Acetamide and King B Agar media, from effluents of the leaching process and from the tailings deposit of the gold ore processing plant, Caraveli - Arequipa. Subsequently, the adaptation was made in Modified Mineral Medium (M9M), to different concentrations of sodium cyanide, to evaluate the tolerance and degradation of the CN⁻ radical.

The results of sowing in different nutrient media allowed us to observe changes in coloration with a change from clear to intense red in Acetamide Medium and from clear to fluorescent green in King B Agar Medium, revealing the presence of *P. pseudoalcaligenes* bacteria. Similarly, during the adaptation process of a strain whose initial cell population was 2.0E+06 CFU/mL, in media supplemented with 50, 100, 150, 200 and 250 ppm of Free Cyanide, at the following conditions: temperature of 30°C, pH of 10.5, stirring at 150 rpm and in a period of 72 hours; it was observed that the strains present in the media of 50 and 100 ppm of Free Cyanide present resistance and show growth, and on the contrary, the strains in higher concentration of cyanide show limited growth and adaptation action.

Keywords: Adaptation, isolation, cyanide effluents, gold mineral, *P. pseudoalcaligenes*

1. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica, Departamento de Ingeniería Metalúrgica, Grupo de Investigación en Medioambiente y Biometalurgia. Lima, Perú.

2. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Biología, Departamento de Microbiología y Biotecnología, Grupo de Investigación en Medioambiente y Biometalurgia. Lima, Perú.

3. Universidad Nacional del Callao, Facultad de Ingeniería Química, Grupo de Investigación en Medioambiente y Biometalurgia. Lima, Perú.

a. E-mail: variasa@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7053-9656>

b. E-mail: tsanchezr@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3853-2128>

c. E-mail: castilloaldavey@hotmail.com - ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8970-7458>

d. Autor para correspondencia: ricardovegalave@gmail.com - ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9067-9397>

I. INTRODUCCIÓN

La acción metabólica de las bacterias del género *Pseudomonas* son consideradas un paradigma clave en el reciclado de materia orgánica de diversos ecosistemas; por tanto, juega un papel importante en la mejora y mantenimiento de la calidad del medio ambiente (Escribano, 2016; Panay et al., 2020). Teniendo en cuenta que la extracción del oro y la plata se realiza generalmente mediante procesos de cianuración, generándose grandes volúmenes de efluentes con cianuro de forma iónica simple y complejo; los que al no ser tratados impactan negativamente al medio ambiente, afectando el suelo y el agua próximos al proceso de tratamiento y a la atmósfera, por la emanación de gases cianhídricos (Gordillo, 2018); requiriéndose su tratamiento en la etapa final del procesamiento, hasta conseguir la conversión en productos no contaminantes y que la concentración final esté por debajo de los límites permitidos para el vertido al medio ambiente (Johnson, 2014; Alvillo et al., 2021).

Existen diversas técnicas para el tratamiento de residuos que contienen cianuro, los métodos más abundantes son los físicos y químicos. Estos métodos incluyen los procesos: clorinación alcalino, SO₂ /aire (INCO), oxidación con peróxido de hidrógeno, con el ácido de caro y la descomposición biológica natural (Akcil et al., 2003). La degradación microbiana del cianuro implica el uso de bacterias aeróbicas capaces de degradar el cianuro (Martínez & Hernández, 2022); obteniéndose como subproductos típicos: dióxido de carbono, nitrógeno gaseoso y amoníaco como subproductos típicos (Conrado, 2014).

Los estudios en biominería revelan que se tienen múltiples poblaciones y consorcios microbianos aislados de diversos lugares, demostrándose la capacidad para tolerar concentraciones relativamente altas de cianuro (hasta 300 mg/L) y también pueden degradar el cianuro contenido en efluentes de procesos mineros (Maniatis et al., 2004). El ion cianuro como fuente de carbono y nitrógeno es utilizado en el metabolismo de diversos organismos tales como hongos y bacterias. Así, el *Bacillus ipeeaterium* transforma cianuro de potasio en ácido aspártico, asparagina y el dióxido de carbono libre o unido a compuestos cianurados, la *P. pseudoalcaligenes* CECT534, bajo condiciones alcalinas, consumen el cianuro y lo transforma en amoníaco y la *Fusarium solani* IHEM 8026 degrada el cianuro de potasio a ácido fórmico (Garcés et al., 2006). En el tratamiento de soluciones cianuradas, mediante las *Pseudomonas fluorescens*, aisladas de residuos de mineral cianurado, se identificó un gran potencial de degradación (Cotrina & Mamani, 2022).

Con cepas obtenidas a partir de solución almacenada en un estanque de relaves de proceso de tratamiento de mineral aurífero y sometidas a tolerancias en Medio Mínimo (M9), suplementado con diferentes concentraciones de cianuro, se mostró un crecimiento a 350 ppm y, en proceso de remediación, con 50 ppm de cianuro, se elimina alrededor del 66% al cabo de cinco días (Khamar et al., 2015). De otra parte, el contenido de cianuro en aguas residuales o contaminadas con

valores de pH cercanos a 10 y principalmente inferiores, el cianuro tiende a volatilizarse como ácido cianhídrico. El tratamiento de purificación de aguas residuales que contienen escaso contenido de cianuro o complejos de ciano-metal, con cepas de *P. pseudoalcaligenes* constituye una alternativa efectiva en comparación a los métodos fisicoquímicos disponibles (Huertas et al., 2010). Sin embargo, la detoxificación de cianuro también puede ser conseguida con cepas de *Rhodococcus* a pH de 7 (Maniyam et al., 2011). Igualmente, mediante cepas de *Klebsiella* sp. ART1 se logra degradar el cianuro contenido en productos de baja concentración, recomendándose su uso como alternativa en el tratamiento de remediación (Mamani et al., 2020).

Para la degradación de altas concentraciones de cianuro contenido en los efluentes de procesos industriales de pH alcalino, se tiene como alternativa el empleo de la bacteria identificada como *P. pseudoalcaligenes*, este microorganismo utiliza el cianuro libre como fuente de carbono y energía para su crecimiento aeróbico, teniendo como ruta de degradación a través de cianhidrinas, sintetiza sideróforos utilizando complejos cianurados (Sánchez, 2013; Cabello et al., 2018). El control del pH en el medio es importante durante las etapas de aislamiento, cultivo y adaptación de las bacterias, teniendo en cuenta la pérdida de cianuro por volatilización mediante la formación de cianuro de hidrógeno, que ocurre por la disminución del pH del medio, ello es necesario controlar para garantizar la degradación (Huertas et al., 2010).

El crecimiento bacteriano en medios alcalinos cianurados, muestra la capacidad de asimilar complejos cianuro-metálicos, nitrilos y otros derivados como el cianato, evitando la transformación y volatilización como ácido cianhídrico y haciendo que el *P. pseudoalcaligenes*, tenga la posibilidad de uso en el tratamiento de residuos industriales conteniendo cianuro (Escribano, 2016). Otro estudio de evaluación de la capacidad biodegradativa de cianuro por bacterias alcalófilas en medio mínimo mineral suplementada con distintas concentraciones de cianuro, logra degradar eficientemente un máximo de 100 mg/L de cianuro libre, con bacterias nativas aisladas de relaves de procesamiento de minerales (Tuya Salas, 2014; Agurto & Arzapalo, 2021).

Los vertidos de aguas residuales con altos contenidos de cianuro son atribuidos a la actividad minera y a la joyería. La industria minera genera ingentes cantidades de aguas residuales que además de cianuro contienen arsénico, plomo, mercurio, cadmio, entre otros elementos y compuestos tóxicos. En los últimos años, el conocimiento de una vasta información sobre la genómica y proteica de muchos microorganismos ha permitido la posibilidad de diseñar mapas metabólicos y trazar las estrategias para utilizar microorganismos en la biorremediación (Luque-Almagro et al., 2016). La secuenciación del genoma de *P. pseudoalcaligenes*, así como el estudio del análisis filogenético y evolutivo y comparativo de la cepa, han sido abordados en el desarrollo de tesis doctorales, donde se hallaron semejanzas y diferencias en la distribución genética funcional y en la asimilación de cianuro y compuestos cianurados (Estepa, 2016).

II. MÉTODOS

2.1 Obtención de muestras cianuradas

Las muestras fueron extraídas de la Planta de Procesamiento de Mineral Aurífero que se encuentra ubicada en el poblado de Caravelí, Arequipa, Perú, se extrajeron diez muestras líquidas; seis, provinieron de la etapa final del proceso de lixiviación de mineral aurífero y cuatro, de la fosa de almacenamiento de solución tratada, conocida como relavera (Figuras 1A y 1B, respectivamente). Las muestras fueron refrigeradas y transportadas al laboratorio (en la ciudad de Lima), teniendo en cuenta las recomendaciones de Ashbolth (2015). El registro de las variables; como el pH, la temperatura y otros factores permiten predecir e identificar el género y la clasificación de los microorganismos presentes (Madigan et al., 2010).

2.2 Aislamiento y enriquecimiento de las bacterias alcalófilas

Las muestras son llevadas a un medio líquido selectivo rico en nutrientes y luego a otro medio selectivo sólido, proveyendo de la dilución necesaria (Rodallega, 2015). Los efluentes obtenidos en el muestreo fueron sembrados en placas con medio selectivo de agar cetrimida e incubados a 30°C durante 4 días, para favorecer el crecimiento de las bacterias del género *Pseudomonas*. El medio contiene peptona como fuente de nitrógeno, y glicerol como fuente de carbono y energía; además, contiene compuesto de amonio cuaternario, cetrimida (bromuro de cetil trimetil amonio) que inhibe el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos. Luego las colonias de bacterias se trasladan a tubos de ensayo que contienen medio líquido de agar cetrimida y son agitados por 24 horas y a temperatura ambiente. El medio, que contiene cloruro de magnesio y sulfato de potasio, también es utilizado para estimular la expresión fenotípica de la *Pseudomonas aeruginosa* e inhibir selectivamente la generación y crecimiento de otros microorganismos (Pretendida et al., 2013).

2.3. Adaptación en medio mínimo mineral modificado (M9M)

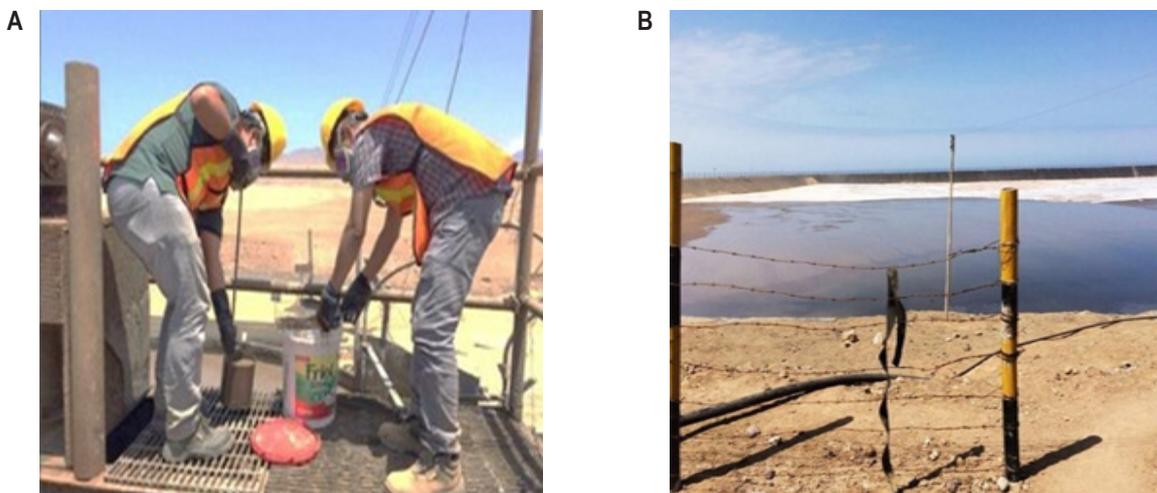
Usando la metodología de Tiago et al. (2004), se evaluaron los cultivos enriquecidos, adicionando 1 mL de cultivo en 9 mL de medio mínimo líquido (M9), compuesto por sales y extracto de levadura, esterilizados por filtración utilizando millipore de 0.22 μm de abertura de poro; además, tamponada con buffer de carbonato-bicarbonato 0.2 molar a pH 10.5 y solución traza de sales minerales (Luque-Almagro et al., 2005). La cepa seleccionada cuya concentración celular fue 2.0×10^6 UFC/mL, se inoculó en medio mínimo mineral suplementado a 50, 100, 150, 200 y 250 ppm de cianuro libre (determinado por titulación con nitrato de plata), luego es agitada en plataforma a 150 rpm, temperatura de 30 °C, pH 10.5 y por un periodo de 72 horas.

2.2. Aislamiento y enriquecimiento de las bacterias alcalófilas

Las muestras son llevadas a un medio líquido selectivo rico en nutrientes y luego a otro medio selectivo sólido, proveyendo de la dilución necesaria (Rodallega, 2015). Los efluentes obtenidos en el muestreo fueron sembrados en placas con medio selectivo de agar cetrimida e incubados a 30°C durante 4 días, para favorecer el crecimiento de las bacterias del género *Pseudomonas*. El medio contiene peptona como fuente de nitrógeno, y glicerol como fuente de carbono y energía; además, contiene compuesto de amonio cuaternario, cetrimida (bromuro de cetil trimetil amonio) que inhibe el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos. Luego las colonias de bacterias se trasladan a tubos de ensayo que contienen medio líquido de agar cetrimida y son agitados por 24 horas y a temperatura ambiente. El medio, que contiene cloruro de magnesio y sulfato de potasio, también es utilizado para estimular la expresión fenotípica de la *Pseudomonas aeruginosa* e inhibir selectivamente la generación y crecimiento de otros microorganismos (Pretendida et al., 2013).

Figura 1

Recolección de muestras en planta de procesamiento de minerales. (A) Tanque de etapa final de lixiviación y (B) Estanque de almacenamiento de residuo (relavera) postprocesamiento de mineral



2.3. Adaptación en medio mínimo mineral modificado (M9M)

Usando la metodología de Tiago et al. (2004), se evaluaron los cultivos enriquecidos, adicionando 1 mL de cultivo en 9 mL de medio mínimo líquido (M9), compuesto por sales y extracto de levadura, esterilizados por filtración utilizando millipore de 0.22 μm de abertura de poro; además, tamponada con buffer de carbonato-bicarbonato 0.2 molar a pH 10.5 y solución traza de sales minerales (Luque-Almagro et al., 2005). La cepa seleccionada cuya concentración celular fue 2.0×10^6 UFC/mL, se inoculó en medio mínimo mineral suplementado a 50, 100, 150, 200 y 250 ppm de cianuro libre (determinado por titulación con nitrato de plata), luego es agitada en plataforma a 150 rpm, temperatura de 30 °C, pH 10.5 y por un periodo de 72 horas.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características de las muestras

Se realizó la medición de algunos parámetros fisicoquímicos como pH, temperatura y concentración de cianuro libre, los que se presentan en la siguiente Tabla 1:

Tabla 1

Características fisicoquímicas de los efluentes de cianuro muestreados

Muestra	Tipo de muestra	pH	Temperatura (°C)	Cianuro libre (ppm)
1	Planta	10.5	30	560
2	Planta	10.6	30	580
3	Planta	10.5	30	560
4	Planta	10.6	30	565
5	Planta	10.6	30	560
6	Planta	10.5	30	570
7	Relave	10.3	30	530
8	Relave	10.2	30	510
9	Relave	10.4	30	560
10	Relave	10.2	30	520

Las muestras extraídas de la planta de procesamiento presentan valores de pH y concentración de cianuro libre ligeramente superior en comparación a las muestras extraídas de la fosa de almacenamiento de efluentes tratados, pero ambos grupos de muestras avizoran condiciones favorables como hábitat de microorganismos alcalófilas y entre ellas la bacteria *P. pseudoalcaligenes*.

3.2. Aislamiento y enriquecimiento de *P. pseudoalcaligenes*

A partir de las muestras extraídas, los ensayos se realizaron en medio líquido de agar cetrinida en tubos de ensayo por duplicado se obtuvieron cepas, las que se caracterizaron macroscópica y microscópicamente y se observaron colonias redondas, lisas, de bordes regulares y coloración

de tonalidad verdosa o verde que indican la presencia de cepas de *P. pseudoalcaligenes*, y luego previa dilución y tinción, se efectúa el conteo mediante un microscopio óptico. Ver Figura 2. Muestra similitud en la identificación Gram realizada por Ortiz J.C. (2017), en la activación de cepa liofilizada para demostrar su actividad biodegradativa de medio líquido cianurado.

Las muestras fueron llevadas a medio acetamida y medio mínimo mineral y en particular las muestras 5 y 6 se ensayaron en ambos medios, teniendo finalmente 12 muestras y el mismo número de cepas bacterianas y; como resultado, ocho correspondieron a bacilos Gram negativos; uno a cocos Gram positivo; uno a cocos Gram negativo y dos a bacilos Gram positivos. Tan solo en una muestra de relavera se encuentran bacilos Gram negativas, como se puede apreciar en la Tabla 2.

La presencia de *P. pseudoalcaligenes*, fue confirmada por la siembra en agar king B y se observó la adopción de una coloración verde fluorescente después de 24 horas de incubación a 30°C que se presenta en la Figura 3.

Con la nueva sepa de la muestra N.º 7 se evaluó el crecimiento en medio mínimo mineral con agitación, a pH 10 y en un periodo de 20 horas; realizando el conteo cada 2 horas se determinó que la fase de crecimiento exponencial ocurre entre las 8 y 14 horas aproximadamente, incrementándose de 6.0×10^7 a 3.5×10^8 UFC/mL durante las seis horas. El cultivo se inicia con una población bacteriana de 1.0×10^4 UFC/mL. La cinética de crecimiento se muestra en la Figura 4.

Bajo las condiciones mencionadas, se revela el ciclo de crecimiento bacteriano, observándose periodos aproximados; la fase de adaptación con crecimiento lento (del día 2 al día 10), la fase de crecimiento exponencial (del día 10 al día 14) y finalmente, un periodo de disminución de la población a partir del día 14.

Existen diversas técnicas clásicas de identificación y cultivo, hasta la obtención de cepas puras, a nivel morfológico y a nivel molecular (Sernaque et al., 2019). La morfológica es una metodología para la identificación de comunidades bacterianas presentes en suelos y aguas procedentes de los procesos tecnológicos utilizados para la extracción de oro a partir de minerales.

3.3. Adaptación en medio mínimo mineral modificado

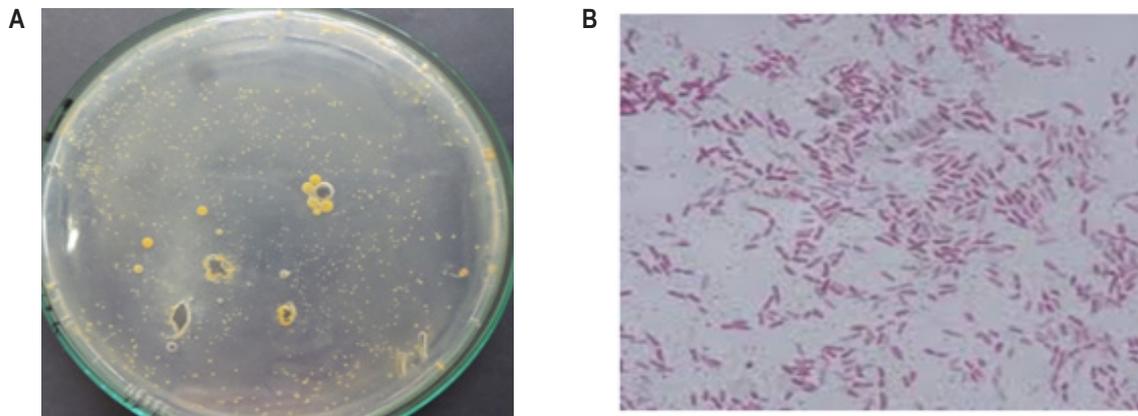
El medio fue suplementado con solución de cianuro de sodio hasta obtener concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 250 ppm de cianuro libre.

Se observa que las cepas vertidas en medios con 50 y 100 ppm de cianuro libre poseen resistencia y muestran crecimiento, contrariamente a las cepas con mayor concentración de cianuro. En la Tabla 3, se representan los resultados de la prueba tolerancia a diferentes concentraciones de cianuro.

Para determinar la población se efectuó la dilución y conteo en cámara de Neubauer y también por dilución y sembrado en placa en medio agar nutritivo,

Figura 2

Colonias y bacilos en la muestra 7 (efluente de fosa de relaves). (A) Aislamiento primario en agar medio cetrimida, donde se observa colonias de coloración verdosa. (B) Observación microscópica a 1000X, bacilos Gram Negativos

**Tabla 2**

Características fisicoquímicas de los efluentes de cianuro muestreados

Muestra	Código	pH Medio	Tipo de muestra	Medio de cultivo	Morfología	Gram
1	C1	10.5	Planta	Acetamida	Bacilos	-
2	C2	10.5	Planta	Medio mineral	Bacilos	+
3	C3	10.5	Planta	Medio mineral	Bacilos	+
4	C4	10.5	Planta	Acetamida	Bacilos	-
5	C5	10.5	Planta	Acetamida	Bacilos	-
	C5.1			Medio mineral	Bacilos	-
6	C6	10.5	Planta	Acetamida	Bacilos	-
	C6.1			Medio mineral	Bacilos	-
7	C7	10.5	Relave	Acetamida	Bacilos	-
8	C8	10.5	Relave	Acetamida	Cocos	+
9	C9	10.5	Relave	Acetamida	Cocos	-
10	C10	10.5	Relave	Acetamida	Bacilos	+

Nota: Las muestras del relave y el medio acetamina, permiten identificar la presencia de bacilos y cocos.

Figura 3

Cultivo de la muestra 7 en agar king B a 30°C. Crecimiento de colonias fluorescentes confirmando la presencia de *P. pseudoalcaligenes*

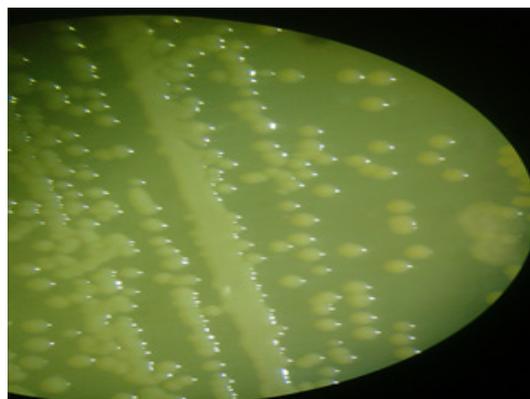


Figura 4

Cinética de crecimiento (conteo en UFC/mL mediante cámara Neubauer) de *P. pseudoalcaligenes*

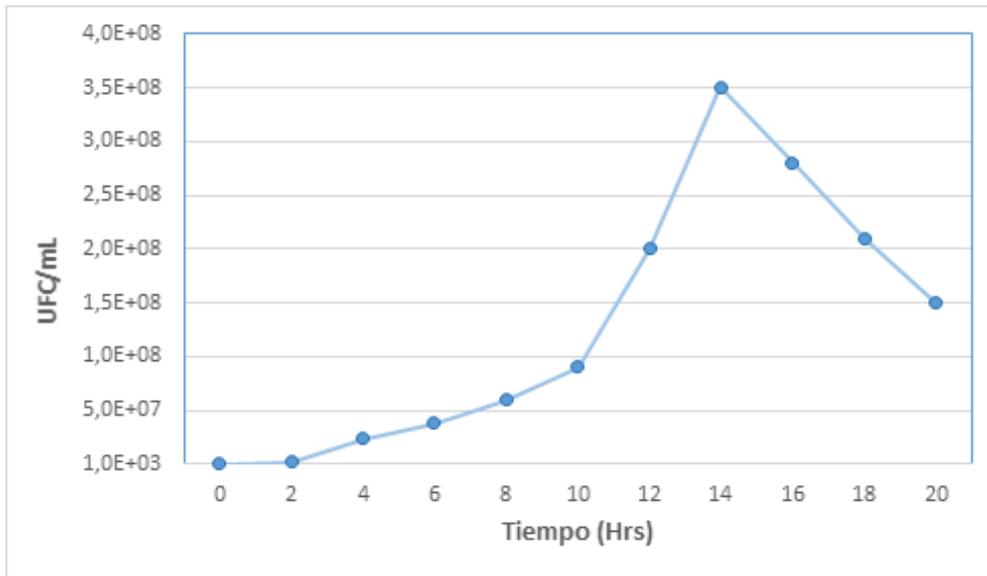


Tabla 3

Características fisicoquímicas de los efluentes de cianuro muestreados

Muestra Enriquecida (Cepa)	CN ⁻ (mg/L)				
	50	100	150	200	250
	+++	++	+	+	-

Nota: - : Sin crecimiento, +: Crecimiento lento, ++: Crecimiento moderado, +++: Crecimiento rápido

IV. CONCLUSIONES

El aislamiento y adaptación de bacteria *P. pseudoalcaligenes* se realizó exitosamente a partir de varias muestras de efluente, cuyas características en pH, temperatura y concentración de cianuro fueron similares y favorables para el desarrollo de microorganismos alcalófilos.

El crecimiento de la bacteria en medio mínimo mineral se logra agitando a 150 rpm, a pH 10 y en un periodo de 20 horas. El conteo se realizó cada 2 horas, observándose crecimiento exponencial en el periodo de las 8 a 14 horas aproximadamente, con incremento de la población bacteriana de 6.0×10^7 a 3.5×10^8 UFC/mL.

La cepa seleccionada cuya concentración celular fue 2.0×10^6 UFC/mL, se inoculó en medio mínimo mineral suplementado a 50, 100, 150, 200 y 250 ppm de cianuro libre, a las siguientes condiciones: temperatura de 30°C, pH de 10.5, en agitación a 150 rpm y por un tiempo de 72 horas; se observa que las cepas de 50 y 100 ppm de cianuro libre poseen resistencia y muestran crecimiento; contrariamente, las cepas con mayor concentración de cianuro no muestran crecimiento.

Para identificar la evolución favorable de la bacteria *P. pseudoalcaligenes* y simultáneamente, la degradación del cianuro libre contenido en el efluente sometido a remediación, se recomienda estudiar el metabolismo bacteriano influenciado por el radical CN⁻, siendo este el principal contaminante del efluente de los procesos de extracción de oro y plata utilizando cianuro de sodio.

La cinética de crecimiento bacteriano durante el ciclo de vida fue dada en el periodo de 4 días aproximadamente (del día 10 al día 14); seguido del periodo o etapa de disminución de la población; esto, atribuida a la disminución del pH y de los elementos nutrientes, parámetros que deben estudiarse.

V. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, que a través del Vicerrectorado de Investigación y Posgrado financió los proyectos de investigación N.º 161601031, C17162131 y C18160202, a cada uno de los miembros del grupo de investigación en Biometalurgia; igualmente, nuestro agradecimiento a los

integrantes del grupo de investigación en Microbiología Ambiental y Biotecnología, de la Facultad de Ciencias Biológicas.

VI. REFERENCIAS

- Agurto Ludeña, A. C., & Arzapalo Marcelo, R. (2021). Revisión sistemática y metaanálisis: Aplicación de microorganismos para la degradación de cianuro en las aguas residuales por actividades mineras auríferas. [Tesis de grado, Universidad César Vallejo]. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/85740>
- Akcil, A., Karahan, A. G., Ciftci, H., & Sagdic, O. (2003). Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas* sp.). *Minerals engineering*, 16(7), 643-649. [https://doi.org/10.1016/S0892-6875\(03\)00101-8](https://doi.org/10.1016/S0892-6875(03)00101-8)
- Alvillo-Rivera, A., Garrido-Hoyos, S., Buitrón, G., Thangarasu-Sarasvathi, P., & Rosano-Ortega, G. (2021). Biological treatment for the degradation of cyanide: A review. *Journal of Materials Research and Technology*, 12, 1418-1433. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.03.030>
- Ashbolt, N. (2015). Microbial Contamination of Drinking Water and Human Health from Community Water Systems. *Current Environmental Health Reports*, 2(1), 95-106. <https://doi.org/10.1007/S40572-014-0037-5>
- Cabello, P., Luque-Almagro, V. M., Olaya-Abril, A., Saez, L. P., Moreno-Vivian, C., & Roldán, M. D. (2018). Assimilation of cyanide and cyano-derivatives by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344: from omic approaches to biotechnological applications. *FEMS microbiology letters*, 365(6), fny032. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny032>
- Castillo Cotrina, D., & Carpio Mamani, M. (2022). Biodegradación del cianuro contenido en el lixiviado de un mineral aurífero. *Revista Ciencias Biológicas y Ambientales*, 1(1). <https://doi.org/10.33326/29585309.2022.1.1596>
- Conrado Moreno V. (2014). Asimilación de cianuro por bacterias. "Lo que no mata, engorda" Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM), Universidad de Córdoba. <https://sebbm.es/rincon-del-aula/asimilacion-de-cianuro-por-bacterias-lo-que-no-mata-engorda/>
- Escribano Fernández, M. P. (2016). Análisis transcriptómico y proteómico de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 en respuesta a cianuro. [Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba]. UCOPress. <http://hdl.handle.net/10396/13825>
- Estepa Pedregosa, J. (2016). Degradación bacteriana de cianuro y compuestos nitrogenados tóxicos. [Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba] <https://helvia.uco.es/handle/10396/13694>
- Garcés Molina, A. M., Betancur, L. M. A., Mazo, K. I. M., & Alzate, N. A. S. (2006). Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro. *Revista Lasallista de investigación*, 3(1), 7-12. <https://www.redalyc.org/pdf/695/69530103.pdf>
- Gordillo González, M. C. (2018). Biodegradación de cianuro en aguas y suelos contaminados por la minería de oro [Tesis de grado, Fundación Universidad de América]. <http://52.0.229.99/handle/20.500.11839/7134>
- Huertas, María & Sáez, L.P. & Roldán, M & Luque-Almagro, Víctor & Martínez-Luque, M & Blasco, Rafael & Moreno-Vivián, C & García-García, I. (2010). Alkaline cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 in a batch reactor. Influence of pH. *Journal of hazardous materials*. 179. 72-8. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.02.059>
- Johnson D.B. (2014). *Biomining - Biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials*. Elsevier. *Curr Opin Biotechnol*, 30:24-31. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.04.008>
- Khamar, Z., Makhdoumi-Kakhki, A., & Gharai, M. M. (2015). Remediation of cyanide from the gold mine tailing pond by a novel bacterial coculture. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 99, 123-128.
- Luque-Almagro V.M., Huertas M.J., Martínez-Luque M., Moreno-Vivián C, Dolores Roldán M, García-Gil LJ, Francisco Castillo, Rafael Blasco FC. (2005). Bacterial degradation of cyanide and its metal complexes under alkaline conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 940-947. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.940-947.2005>
- Luque-Almagro Víctor M., Moreno-Vivián Conrado y Dolores Roldán María (2016). Biodegradación de cianuro wastes from mining and jewellery industries. *Current Opinion in Biotechnology*. Volume 38, April 2016, P. 9-13 <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.12.004>
- Madigan M.T. Clark, D. P., Stahl, D., & Martinko, J. M. (2010). *Brock biology of microorganisms* 13th edition. Benjamin Cummings.
- Mamani, A. B. C., Mamani, M. C., & Quiroz, C. J. C. (2020). Optimización de factores fisicoquímicos en la biodegradación de cianuro por *Klebsiella* sp. ART1, en biorreactor aireado. *Ciencia & Desarrollo*, (26), 20-31. <https://doi.org/10.33326/26176033.2020.26.929>
- Copari Mamani, A. B., Carpio Mamani, M., & Cáceda Quiroz, C. J. (2020). Optimización de factores fisicoquímicos en la biodegradación de cianuro por *Klebsiella* sp. ART1, en biorreactor aireado. *Ciencia & Desarrollo*, 26, 20-31. <https://doi.org/10.33326/26176033.2020.26.929>
- Maniatis T., B. Wahlquist, T. Pickett. (2004). Biological cyanide destruction in mineral processing waters. *Applied Biosciences Corp. Salt Lake City, UT. SME Annual Meeting. Feb. 23-25, Denver, Colorado.*
- Maniyam, M. N., Sjahrir, F., & Ibrahim, A. L. (2011). Bioremediation of cyanide by optimized resting cells of *Rhodococcus* strains isolated from Peninsular Malaysia. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 1(2), 98. <https://doi.org/10.7763/IJBBB.2011.V1.18>
- Martinez, S., & Hernández, A. A. (2022). El papel de los procariontes en la degradación del cianuro. *Herreriana*, 3(2), 33-36. <https://doi.org/10.29057/h.v3i2.8162>
- Ortiz, J. C. B. (2017). Caracterización microbiológica de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (ATCC 17440) y su capacidad biodegradativa de cianuro presente en relaves mineros. *Veritas*, 10(1), 132-136. <https://doi.org/10.35286/veritas.v10i1.52>

- Panay, A. J., Vargas-Serna, C. L., & Carmona-Orozco, M. L. (2020). Biodegradation of cyanide using recombinant *Escherichia coli* expressing *Bacillus pumilus* cyanide dihydratase. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(1), 27-35.
- Pedregosa, J. E. (2016). Degradación bacteriana de cianuro y compuestos nitrogenados tóxicos [Doctoral dissertation, Universidad de Córdoba]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/dctes?codigo=63906>
- Pretendida, U., & Do Procedimento, P. E. E. (2013). BD Pseudose Agar (Cetrimide Agar). https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4613611/mod_resource/content/1/BDCetrimideAgar.pdf
- Rodallega Nazarit, S. E. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias capaces de degradar cianuro, presentes en tanques de almacenamiento de cianuro en una mina de oro del municipio de Buenos Aires Cauca. <http://biblioteca2.icesi.edu.co/cgi-olib?oid=277245>
- Sánchez Bermúdez, D. (2013). Estudio molecular de poblaciones *Pseudomonas* ambientales [Doctoral dissertation, Universitat de les Illes Balears]. <http://hdl.handle.net/10803/125338>
- Sernaque Aguilar, Y. A., Cornejo La Torre, M., Pierre Regard, J., & Mialhe Matonnier, E. L. (2019). Caracterización molecular de bacterias cultivables y no cultivables procedentes de pozas de lixiviación con cianuro. *Revista Peruana de Biología*, 26(2), 275-282. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i2.16383>.
- Tuya Salas J.D. (2014). "Evaluación de la capacidad degradativa de cianuro por bacterias alcalófilas aisladas de los relaves de la planta concentradora de metales MESAPATA CATAC-ANCASH". Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3641>.

Contribución de autoría

Conceptualización: V.A., A.A. y T.L., S.R.; Curación de datos: V.A., A.A.; Análisis formal: V.A., A.A. y T.L., S.R.; Adquisición de fondos: V.A., A.A.; Metodología e investigación: V.A., A.A.; Y., C.A. y R., V.A.; Administración del proyecto: V.A., A.A.; Recursos: Y., C.A. y R., V.A.; Software: Y., C.A. y R., V.A.; Supervisión: V.A., A.A.; Validación: T.L., S.R.; Visualización: V.A., A.A. y T.L., S.R. y Y., C.A.; Redacción - borrador original: V.A., A.A.; Redacción - revisión y edición: V.A., A.A. y T.L., S.R.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses