Aislamiento de consorcio de microorganismos degradadores de cianuro*

Adelaida María Garcés Molina [1]/ Lina Marcela Agudelo Betancur[2]/ Karina Isabel Macías Mazo[2]/ Natalia Andrea Salinas Alzate[2]

Línea de investigación: Bioprocesos. Grupo de Investigación GAMA. Semillero de Investigación sobre Materia Orgánica SISMO

Isolation of a cianide degradator microorganisms consortium

Introducción. El cianuro se emplea en la industria minera para recuperar oro, en forma de solución, a partir de material madre. Este compuesto es altamente tóxico, genera grandes problemas ambientales por lo que se han desarrollado tecnologías físicas y químicas para su remediación**. Materiales y métodos**. Se aislaron tres consorcios de microorganismos de suelos provenientes de minas de oro del municipio de Amalfi, Antioquia, donde el proceso de extracción de oro se lleva a cabo con mercurio. Para seleccionar los microorganismos más eficientes se incubaron los consorcios en caldo nutritivo incrementando la concentración de cianuro de potasio desde $2x10^{-4}$ ppm hasta 2.000 ppm. Todo el proceso se realizó en condiciones aerobias y anaerobias. Posteriormente el caldo nutritivo fue reemplazado paulatinamente por medio mínimo mineral, con 2.000 ppm de cianuro de potasio como fuente de carbono y nitrógeno. Todos los medios de cultivo se prepararon a pH 7. Durante está última fase se cuantificó el cianuro consumido con un electrodo ión-selectivo de cianuro. **Resultados.** Durante el desarrollo del presente trabajo se aislaron consorcios de microorganismos de suelos de regiones mineras y se determinó su eficiencia en la degradación de cianuro de potasio. **Conclusión.** La degradación biológica puede ser una alternativa mejor para la eliminación de este contaminante.

Palabras clave: Cianuro. Biodegradación. Consorcio. Microorganismos.

Introduction. Cyanide is used in the mining industry to recover gold, in the shape of a solution, from mother material. This compound is highly toxic and generates great environmental problems, therefore several physical and chemical technologies have been developed to solve them. **Materials and methods**. Three microogranisms´ consortiums were isolated from soils coming from gold mines in the municiple of Amalfi, Antioquia, where the gold extraction is made with mercuriy. o select the most efficient microorganisms the consortiums were cultivated in nutritive broth, increasing the potasium cyanide concentration from $2x10^{-4}$ ppm to 2000 ppm. All the process was made under aerobic and anaerobic conditions. Later, the nutritive broth was replaced, step by step, with minimum mineral medium, with 2000 ppm of potasium cyanide as a source of carbon and nitrogen. All the cultivation mediums were prepared at a pH value of 7. During this last stage, the consumed cyanide was quantified with a cyanide selective ion electrode. **Results**. During the development of this work consortiums of microorganisms were isolated from soils coming from mining zones, and their efficiency for the degradation of potasium cyanide was determined. **Conclusion**: The biological degradation can be a better alternative to eliminate this contaminant.

Key words: Cyanide. Biodegradation. Consortium. Microorganisms.

---

* Investigación financiada con apoyo del Fondo de Fomento a la Investigación de la Corporación Universitaria Lasallista.

[1] Bióloga. Candidada a Maestría en Biotecnología UPB. Docente Facultad de ciencias Administrativas y Agropecuarias. Corporación Universitaria Lasallista./ [2] Estudiante de Ingeniería Ambiental de la Corporación Universitaria Lasallista.

Correspondencia: Adelaida María Garcés Molina. e-mail: adgarces@lasallista.edu.co

Fecha de recibo: 22/01/2006; fecha de aprobación: 20/06/2006

Introducción

El cianuro se caracteriza por la presencia de la unidad química formada por el enlace carbono-nitrógeno. Es potencialmente letal ya que actúa rápidamente sobre el sistema respiratorio. Se presenta como cianuro de hidrógeno (HCN), cianuro de sodio (NaCN) o cianuro de potasio (KCN). Se utiliza ampliamente en industria química debido a su composición y a la facilidad de reacción con otras sustancias. Alrededor del 80% del cianuro producido en el mundo se emplea en la elaboración de químicos orgánicos, de goma sintética y en fotografía, entre otros. El cianuro de hidrógeno se utiliza ampliamente para exterminar roedores y en la práctica hortícola para controlar las plagas de insectos que han desarrollado resistencia a otros pesticidas. Además, el cianuro se utiliza en algunos productos farmacéuticos empleados para combatir el cáncer, reducir la presión arterial y en vendas quirúrgicas que promueven la cicatrización y reducen cicatrices.[1] Desde del siglo XIX, el cianuro de sodio es empleado en operaciones auríferas para la disolución o lixiviación de oro. El proceso fue patentado en el Reino Unido por J.S. MacArthur y los hermanos W. y R. Forrest, el 19 de octubre de 1887. La lixiviación del oro empleando cianuro consiste en triturar el mineral, colocarlo sobre arcilla o polietileno y bañarlo con una solución de cianuro, la cual, al infiltrarse a través del mineral, solubiliza el oro. En el proceso, el cianuro forma complejos metálicos con el oro, según la reacción:[2]

$$2Au(s) + 2H_2O + 4NaCN + O_2 \rightarrow 2NaAu(CN)_2 (aq) + 2NaOH + H_2O_2$$

La solución final se filtra a través de carbón activado que adsorbe el complejo oro-cianuro, mientras que el mineral y la solución restantes, contaminados con cianuro, se descartan. La concentración de la solución de cianuro empleada en la operación anteriormente descrita está entre 0.01% y 0.05%, relativamente baja. Sin embargo, esta industria consume el 20% de la producción mundial de este químico.[3]

Los métodos convencionales para degradar el cianuro son el tratamiento electrolítico, la conversión química y la adsorción. Los tratamientos químicos y electroquímicos descomponen el cianuro en nitrógeno y dióxido de carbono, pero son corrosivos y costosos. La adsorción consiste en la remoción del químico empleando carbón activado o intercambio iónico, ambos técnicas costosas. La conversión consiste en transformar el cianuro en compuestos menos tóxicos como el tiocianato o el fertrocianato. En la naturaleza el cianuro también es degradado, pero este proceso que puede durar años o décadas.[4-7]

El suelo es uno de los recursos naturales más importantes y cuenta además con un destacado papel en cuanto receptor y amortiguador de la contaminación. Desafortunadamente, en muchas ocasiones, los mecanismos amortiguadores naturales son superados y muchos suelos del mundo se encuentran en un nivel avanzado de degradación, especialmente por contaminación química.[8]

La biorremediación puede definirse como el uso de organismos vivos, componentes celulares o enzimas libres con el fin de realizar una mineralización, transformación parcial o humificación de residuos o agentes contaminantes. También puede alterar el estado redox de metales.[9] El compostaje es una forma primaria de biorremediación en la cual los residuos orgánicos son biodegradados por microorganismos. Los factores que determinan la biorremediación son complejos y varían dependiendo de la aplicación, siendo, en algunos casos, difícil distinguir entre los factores bióticos y abióticos que contribuyen en dicho proceso.

El tratamiento de biorremediación aplicado en suelos varía de acuerdo con las propiedades físico-químicas del contaminante y el tipo de suelo. La biorremediación in situ se establece en el lugar donde ocurrió la contaminación y la ex situ se lleva a cabo retirando el suelo contaminado y trasladándolo hasta una unidad de tratamiento. En la biorremediación in situ existen dos estrategias: la primera es agregar nutrientes para estimular las poblaciones naturales y así aumentar su actividad para que degraden el contaminante. La segunda es introducir microorganismos exógenos para que ellos realicen la degradación. En este último caso se pueden emplear microorganismos genéticamente modificados para hacerlos más eficientes.[10] Ambas estrategias se basan en la absorción de las sustancias orgánicas por los microorganismos, los cuales

las utilizan como fuente de carbono y energía necesaria para sus funciones metabólicas y crecimiento.[11]

El cianuro puede ser metabolizado por organismos tales como, hongos y bacterias, que lo emplean como fuente de carbono y nitrógeno. Por ejemplo *Bacillus ipeeaterium* transforma cianuro de potasio en ácido aspártico, asparagina y el dióxido de carbono libre o unido al cianuro en carbonato y amoníaco,[12] *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT534, bajo condiciones alcalinas, consumen el cianuro y lo transforman en amoníaco[13] y *Fusarium solani* IHEM 8026 degrada el cianuro de potasio a ácido fórmico.[14]

Sin embargo, en mamíferos, el cianuro es un inhibidor enzimático que bloquea la producción de ATP (Adenosín Trifosfato) induciendo a la hipoxia celular. La ingestión de 200 mg de cianuro de potasio o de sodio puede ser letal y su acción es rápida. Los signos y síntomas luego de una exposición e incluyen náuseas, olor a almendras amargas, convulsiones, coma, depresión respiratoria, colapso cardíaco entre otras.[15] En el Decreto 1594 de 1984, Resolución 1074 del 28 de octubre de 1997 de la normatividad colombiana se establecen estándares ambientales en materia de vertimientos y se determina que todo vertimiento de residuos líquidos de la red de alcantarillado público y/o a un cuerpo de agua deberá cumplir con los estándares establecidos. Para el de cianuro, expresado como CN, se establece un valor máximo de 1,0 mg/L.[16]

Ventajas y desventajas de la biorremediación[17]

Ventajas

- Generalmente sólo se originan cambios físicos menores sobre el medio.
- Cuando se usa correctamente no produce cambios adversos significativos.
- Ofrece una solución más simple y completa que las tecnologías mecánicas.
- Menos costosa que otras tecnologías.

Desventajas

- Para muchos tipos de contaminantes su efectividad no ha sido determinada.
- El tiempo necesario para actuación es largo.
- Su implementación es específica para cada lugar contaminado.
- Su optimización requiere información sustancial acerca del lugar contaminado y las características del contaminante.

Materiales y métodos

Se aislaron tres consorcios de microorganismos de suelos provenientes de minas de oro del municipio de Amalfi, Antioquia, donde el proceso de extracción de oro se lleva a cabo con mercurio. Para ello se lavaron las muestras de suelo con caldo nutritivo y se incubaron a temperatura ambiente. Posteriormente los microorganismos fueron conservados en agar nutritivo inclinado con aceite mineral, a 4ºC. Los consorcios se numeraron de acuerdo con la fase del proceso como consorcio uno, muestra antes del proceso; consorcio dos, muestra durante el proceso y consorcio tres, muestra después del proceso.

Para seleccionar los microorganismos más eficientes se incubaron los consorcios en caldo nutritivo incrementando la concentración de cianuro de potasio desde $2x10^{-4}$ ppm hasta 2.000 ppm. Todo el proceso se realizó en condiciones aerobias y anaerobias. Posteriormente el caldo nutritivo fue reemplazado paulatinamente por medio mínimo mineral[18], con 2.000 ppm de cianuro de potasio como fuente de carbono y nitrógeno. Todos los medios de cultivo se prepararon a pH 7. Durante está última fase se cuantificó el cianuro consumido con un electrodo ión-selectivo de cianuro de acuerdo con el método descrito en el Standard Methods.[19]

Resultados

Se encontró crecimiento de los consorcios bacterianos en todas las fases del proceso, tanto en condiciones aerobias como anaerobias, lo cual nos permite afirmar que existen en este consorcio ambos tipos de microorganismos. Sin embargo, el crecimiento fue menor en condiciones anaerobias. Estos resultados concuerdan con los descritos en la literatura, según los cuales el proceso de biodegradación del cianuro es

aerobio, mientras que en condiciones anaerobias se degrada principalmente el tiocianato.[6] El porcentaje de degradación de cianuro se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Proporciones de degradación por cianuro según variables selectas

Consorcio de microorganismos	Concentración inicial de KCN (ppm)	Concentración final de KCN (ppm)		% de remoción	
		Anaerobiosis	Aerobiosis	Anaerobiosis	Aerobiosis
1	2.000	1.339	1.145	33,05	42,75
2	2.000	1.295	937	35,25	53,15
3	2.000	1.314	958	34,30	47,90

Discusión

Los resultados muestran que el proceso de biorremediación con microorganismos autóctonos del suelo, es un tratamiento eficaz y eficiente, y aunque fue realizado solamente a escala de laboratorio, es un paso a la ejecución de alternativas mas limpias y económicas para la descontaminación de los suelos.

Los microorganismos emplean el CN como fuente de carbono y de nitrógeno. Según los resultados los microorganismos aerobios presentan un porcentaje mayor de remoción. El pH del suelo afecta significativamente la actividad microbiana. La literatura reporta que a pH más ácidos la eficiencia es mayor.[1,4-6]

La biorremediación es una alternativa efectiva y de bajo costo que busca solucionar problemas ambientales. En el caso de la minería a cielo abierto para extracción de oro es la generación de subproductos de cianuro, porque ésta sustancia es esencial para separar el oro del resto de minerales en el momento de la extracción, generando con ello daños en el suelo, la atmósfera, el agua, y una problemática de salud pública.

No se debe confundir avance tecnológico con progreso. Muchas veces la historia de nuestra era industrial ha demostrado que algunos «avances» fueron en realidad retrocesos desde el punto de vista de la sustentabilidad del medio ambiente o la seguridad de los seres humanos. Es por esto que el uso del cianuro como extractor de oro es una alternativa poco saludable para las personas, el ambiente y afectará por ende el desarrollo de las generaciones venideras.

Se realizaron siembras microbianas de organismos del Hg y posteriormente se fueron adaptando a concentraciones de KCN entre $2*10^{-4}$ - 2.000 ppm. Se observó crecimiento microbiano en todas las fases del proceso de adaptación, lo cual es un muy buen indicio que este consorcio microbiano es muy resistente al cianuro.

Conclusiones

La eficiencia del proceso anaerobio es mejor que el del anaerobio, sin embargo, dada la alta concentración de cianuro empleada (2.000 ppm) puede concluirse que ambos consorcios podrían emplearse en campo.

Durante la investigación el pH del medio de cultivo se mantuvo en 7,0, si se exploraran pHs más ácidos se podría incrementarse la eficiencia de la degradación

Existen muchas opciones para degradar de contaminantes, por esto es importante elegir una alternativa que este de la mano de las nuevas tendencias de producción más limpia, para que se solucione el problema y sin que la la opción empleada se convierta en un nuevo conflicto por resolver. La biorremediación logra no solo desarrollar tecnologías eficaces, eficientes y al alcance de todos, si no que se permite un desarrollo más sostenible.

Referencias

1. GUERRERO, José J Cianuro: Toxicidad y Destrucción Biológica. [documento electrónico]. En : El Ingeniero de Minas. Vol. 10, No.35 (jun. 2005); p.23-25. [Citado Julio de 2006] URL Disponible en: www.ilustrados.com/documentos/**cianuro**toxdestrucbiologica.pdf

2. HABASHI, Fathi. *Hydrometallurgy*. In : _____. Principles of Extractive Metallurgy. 2 ed. New York : Gordon & Breach Science, 1969. v2.

3. GARCIA, Gregorio; ZANUZZI, Andrea L. and FAZ, Ángel. Evaluation of heavy metal availability prior to an in situ soil Bioremediation program. In: Biodegradation. Vol. 16, No. 2 (Mar. 2005); p.187-94.

4. ADAMS, Jack. Cyanide treatment technology: bacteriological cyanide destruction. [online]. In : _____. Center for bioremediation. Utah : Weber State University Circle, s.f. [Citado en agosto de 2006]. Disponible en: http://programs.weber.edu/bioremediation/

5. SHIVARAMAN, N. and PARHAD, N. (1991). Biological Treatment of Cyanide Wastewaters. In: FREEMAN, Harry and SFERRA, P. R. Biological processes. Lancaster : Technomic Pub., 1991. p.39-45.

6. AKCIL, A. Destruction of cyanide in gold mill effl uents: biological versus chemical treatments. In: Biotechnology Advances. Vol. 21, No. 6 (sep. 2003); p.501-511 .

7. AKCIL, A. et al. (2003). Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria *(Pseudomonas sp.).* In: Minerals Engineering. Vol. 16, No. 7 (jul. 2003); p.643 – 649.

8. VOLKE SEPÚLVEDA, Tania y VELASCO TREJO, Juan Antonio. Tecnologías de remediación. [online]. En : _____. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. México : Instituto Nacional de Ecología, 2002. [Citado 25 de agosto de 2003]. Disponible en: http://www.ine.gob.mx/publicaciones/libros/372/tecnolog.html

9. ADAMS SCHROEDER, Randy H.; DOMÍNGUEZ RODRÍGUEZ, Verónica I. y GARCÍA HERNÁNDEZ, Leonardo. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo. [documento electrónico]. En: Revista Terra. Vol. 17, No. 2 (jun. 1999); p.159. [Citado Diciembre 2004]. URL Disponible en: http://www.chapingo.mx/terra/contenido/17/2/art159-174.pdf

10. SCHMIDT, Wini. Suelos contaminados con hidrocarburos: la biorremediación como una solución ecológicamente compatible. [Documento electrónico]. En: COOPERACION TECNICA ALEMANA (GTZ). GTZ en México. México : GTZ, 2004. [Citado Abril 2005]. URL Disponible en: http://www.gtz.org.mx/sitioscontam/articulos/Bioremed_Mex2.pdf

11. NUTT, S.G. et al. Treatment of coke plant wastewater in the coupled pre-denitrification fluidized bed process. [online]. In : Paper in Proceedings of the 37th Industrial Waste Conference, Purdue University, 1982, p. 527. Citado de ALTRINGER, P.B.; LIEN, R.H. and DINSDALE, B.E. Advances in biological cyanide detoxification. In : Randolph Gold Forum (1992 : Vancouver). Paper presented at the Randolph Gold Forum. Vancouver : Randol Gold Forum, 1992. p.7.[citado en agosto de 2006] Disponible en: http://www.p2pays.org/ref/19/18776.pdf/

12. ADAMS SCHROEDER, Op cit., http://www.chapingo.mx/terra/contenido/17/2/art159-174.pdf

13. LUQUE-ALMAGRO, V. M., et al. Alkaline cyanide biodegradation by Pseudomonaspseudoalcaligenes CECT5344 (abstract). [online]. In : Biochemical Society Transactions. Vol. 33, part 1 (feb. 2005); p.168-169. [Citado en agosto de 2006] Disponible en en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=1 5667296&dopt=Abstract -/

14. DUMESTRE, A. et al. Cyanide Degradation under Alkaline Conditions by a Strain of *Fusarium solani* Isolated from Contaminated Soils. [online]. In: Applied And Environmental Microbiology. Vol. 63, No. 7 (jul. 1997) ; p.2729-2734. [citado en agosto de 2006] Dis-

ponible en: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid =1389202/

15. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Emergency, preparednesand response: Facts About Cyanide. [online]. Atlanta : Department of Healt and Human Services, 2004. [Citado en agosto de 2006] URL disponible en: http://www.bt.cdc.gov/agent/cyanide/basics/facts.asp

16. ADAMA. RESOLUCIÓN No. 1074 28 OCT 1997. Unidad de asistencia técnica ambiental. [online]. Bogotá : ACERCAR, 2003. [Citado en septiembre de 2003]. Disponible en : http://www.acercar.org.co/industria/legislacion/hidrico/vertimientosr1074_1997.pdf

17. SÁNCHEZ YÁÑEZ, Juan Manuel; LEAL-CASTILLO, M. and GUZMÁN, A. Biorremediación de ambientes impactados con hidrocarburos. [online]. México : s.n., s.f. [Citado 8 de junio 2005] URL disponible en: http://www.monografias.com/trabajos14/biorremedacion/biorremedacion.shtml

18. JOBSON, A.; COOK, F. D. and WESTLAKE, D. W. S. Microbial utilization of crude oil. En: Applied Microbiology. Vol. 23, No. 6 (1972); p.1082-1089. Citado de BRACHO, Mariangela; DIAZ, Laugeny y SOTO, Luz Marina. Degradación de hidrocarburos aromáticos por bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo, estado zulia, venezuela. [online]. *En : Bol. Centro de Investigaciones. Biológicas.* vol.38, no.3 (dic. 2004); p.176-185. [citado el 15 de Abril de 2006]. Disponible en la World Wide Web: < http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script =sci_abstract &pid=S0375-538X2004012000002 &lng=es&nrm=iso>.

19. APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination for water and wastewater. 20th ed., Washington; AWWA; WPCF, 1998.