حذف بیولوژیکی سیانید: بررسی مسیرهای آنزیمی، ریزاندامگان‌ها و عامل‌های عملیاتی مؤثر

اعظم خضری[1]، لیلا وفاجو[2*]، محمود جوکار[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی شیمی و پلیمر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران

۲- دانشیار، دانشکده مهندسی شیمی و پلیمر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران

۳- استادیار، موسسه تحقیقات پنبه کشور؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران

پیام‌نگار: vafajoo@azad.ac.ir

چکیده

حضور سیانید در فاضلاب صنایعی مانند واحد کک‌سازی صنایع فولاد، از معضلات زیست‌محیطی و حذف آن از اولویت‌های تصفیه‌خانه‌های فاضلاب صنعتی است. روش‌های فیزیکی و شیمیایی متنوعی برای حذف سیانید وجود دارد اما روش‌های بیولوژیکی به دلیل ارزان‌قیمت بودن و سازگاری با محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است. به تازگی ریزاندامگان‌هایی شناخته شده که می‌توانند با کارایی بالا سیانید را حذف کنند؛ مزیت آن‌ها نیاز به زمان کمتر و وجود مسیرهای متنوع و آنزیم‌های شناخته‌شده است. هدف این پژوهش، بررسی اجمالی مسیرهای حذف بیولوژیکی ترکیبات سیانید و شناخت مهم‌ترین عامل‌های عملیاتی در این فرایندها است. اطلاعات ارائه‌شده در این مطالعه به مهندسان شیمی فعال در حوزه محیط زیست و به‌ویژه تصفیه‌خانه‌های فاضلاب‌های صنعتی آلوده به ترکیبات سیانید، کمک می‌کند تا برای حذف بیولوژیکی ترکیبات سیانید، شرایط عملیاتی مناسب را ایجاد کنند.

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۲۷

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۲۷

شماره صفحات: ۶۶ تا ۸۲

کلیدواژه‌ها: سیانید، حذف بیولوژیکی، ریزاندامگان، آنزیم، مسیرهای حذف

۱. مقدمه

سیانید از ترکیبات شیمیایی است که از دیرباز به عنوان ماده‌ای بسیار سمی و کشنده شناخته شده است. سیانیدها گروهی از ترکیبات آلی و معدنی است که گروه عاملی CN با پیوند سه‌گانه کربن و نیتروژن دارد و به عنوان یک لیگاند بسیار قوی در تشکیل کمپلکس‌های فلزی و غیرفلزی عمل می‌کند. سیانید در بسیاری از صنایع مانند آبکاری، پتروشیمی، داروسازی، تولید مواد شیمیایی آلی و آرایشی، کارخانجات سنتز فیبر، عکاسی، چسب‌سازی، فرایندهای مقاوم‌سازی و افزایش سختی فلزات و فولاد، سنتز مواد رنگی، کوره‌های کک‌ساز و آفت‌کش‌ها استفاده می‌شود. اما از پرسودترین موارد استفاده و شاید مهم‌ترین مصرف آن در صنعت معدن و برای استحصال فلزات گران‌بهایی چون طلا و نقره و همچنین بازیابی مواد با عیار پایین است. نتیجه این فعالیت‌های صنعتی، تولید فاضلاب‌ها

* تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، دانشکده مهندسی شیمی و پلیمر

و زباله‌های سیانیدی است که در صورت رهاسازی در محیط زیست باعث آسیب‌های شدید بر اکوسیستم می‌شود.

منبع تولید سیانید در طبیعت گونه‌هایی از باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و بندپایان است که توانایی سنتز سیانید دارد. گیاهان از مزه تلخ گلوکوزیداز سیانوژنیک[1] برای دفاع برابر علف‌خواران و پاتوژن‌ها بهره می‌گیرد. سیانیدها نقش محوری در گسترش اسیدهای آمینه، پپتیدها، نوکلئوتیدها، چربی و غشاء دارد و بخش جدایی‌ناپذیر طبیعت است.

سیانید به شکل‌های مختلف در محیط‌های آبی و خاک وجود دارد و شکل خاص آن تعیین‌کننده عامل مخرب زیست‌محیطی و همچنین سمیت آن است. سیانیدها از دیدگاه واکنش‌پذیری و سمیت تفاوت‌هایی دارند و ترکیبات سیانیدی آلی و معدنی در فازهای گازی، مایع و جامد وجود دارد. به طور کلی ترکیباتی که توانایی تولید یون سیانید را دارند، عبارت است از:

الف) ترکیبات ساده سیانیدی با فرمول کلی $A(CN)_x$

ب) ترکیبات پیچیده سیانیدی مانند سیانیدهای قلیایی- فلزی که فرمول‌های متفاوتی دارند و معمولا با فرمول $A_yM(CN)_x$ نشان داده می‌شوند که در آن A یک فلز مانند سدیم، پتاسیم، آمونیم و M یک فلز سنگین مانند آهن II، آهن III، کادمیم، نیکل، سرب، جیوه، کبالت، مس، روی و نقره و x ظرفیت فلز (برابر با تعداد گروه‌های سیانید) است که به شکل محلول، سیانید CN^- آزاد نمی‌کنند، بلکه یون MCN^- آزاد می‌کنند:

$$A_yM(CN)_x \rightleftharpoons yA^+ + xMCN^- \quad (۱)$$

کمپلکس‌های مختلف سیانیدی از دیدگاه پایداری متفاوت است. معیار ناپایداری کمپلکس‌های محلول، ثابت تعادل یونیزاسیون (K_d) آن‌ها است که به صورت عمومی برای یونیزاسیون یک ماده شیمیایی این‌گونه تعیین می‌شود[۱]:

$$A_xB_y \rightleftharpoons xA^+ + yB^- \quad (۲)$$

$$K_d = \frac{[A^+]^x \times [B^-]^y}{[A_xB_y]} \quad (۳)$$

1. Cyanogenic Glycoside

جدول ۱. ثابت یونیزاسیون کمپلکس‌های سیانیدی[۲].

واکنش	$Log\ K_d$
$Cd(CN)_4^{-2} \leftrightarrow Cd^{+2} + 4CN^-$	۱۷
$Zn(CN)_4^{-2} \leftrightarrow Zn^{+2} + 4CN^-$	۱۷
$Pb(CN)_4^{-2} \leftrightarrow Pb^{+2} + 4CN^-$	اعلام نشده
$Ag(CN)_2^{-1} \leftrightarrow Ag^{+1} + 2CN^-$	۲۱
$Cu(CN)_3^{-2} \leftrightarrow Cu^{+2} + 3CN^-$	۲۸
$Ni(CN)_4^{-2} \leftrightarrow Ni^{+2} + 4CN^-$	۲۲
$Hg(CN)_4^{-2} \leftrightarrow Hg^{+2} + 4CN^-$	۴۲
$Fe(CN)_6^{-4} \leftrightarrow Fe^{+4} + 6CN^-$	۴۷
$Co(CN)_6^{-3} \leftrightarrow Co^{+3} + 6CN^-$	۶۴

کمپلکس‌های سیانید روی و کادمیم سریع‌تر از کمپلکس‌های مشابه نقره، کبالت، مس و آهن یونیزه می‌شوند و ثابت تعادل یونیزاسیون کمپلکس‌های آهن، جیوه و کبالت بسیار پایین است.

۲. قوانین و محدودیت‌های زیست‌محیطی

کمینه دوز مجاز سیانید در آب به کاربرد آن بستگی دارد و در این رابطه، استانداردهای مرتبط با مصرف یا تماس انسانی به صورت چشم‌گیری متفاوت از استانداردهای مربوط به موجودات آبزی است[۳]. در جدول (۲) دوز مرگبار سیانور برای انسان آمده است.

جدول ۲. غلظت مرگبار سیانور برای انسان[۴].

راه ورود به بدن	مقدار مجاز	واحد
استنشاق	۳۱۴- ۲۰۰	میلی گرم سیانید هیدروژن در متر مکعب هوا
بلع	۱/۵۲- ۰/۵۶	میلی گرم سیانید به ازای هر کیلوگرم وزن انسان
تماس پوستی	۱۰۰	میلی گرم سیانید به ازای هر کیلوگرم وزن انسان

مقامات نظارتی و سازمان حفاظت از محیط زیست کشورهای مختلف، استانداردهای کیفیت آب سختگیرانه‌ای برای دفع فاضلاب حاوی سیانید به آب‌های سطحی اعمال کرده است. جدول (۳) مقادیر مجاز ترکیبات سیانید را در کشورهای مختلف نشان می‌دهد.

جدول ۳. مقادیر مجاز ترکیبات سیانید در محیط[۵و۳].

کشور	مقدار مجاز در آب آشامیدنی (میلی گرم در لیتر)	مقدار مجاز در آب برای آبزیان (میلی گرم در لیتر)
ایران	۰/۰۷	۰/۰۵
آمریکا	۰/۲	۰/۰۵
مکزیک	۰/۲	۰/۰۵
هند	۰/۲	۰/۰۵
آلمان	۰/۰۱	۰/۰۵
سوئیس	۰/۰۱	۰/۰۵

سازمان حفاظت محیط زیست کشور، بیشینه میزان مجاز سیانید در فاضلاب معدنی را مطابق جدول (۴) اعلام کرده است.

جدول ۴. بیشینه میزان مجاز سیانید در فاضلاب معدنی[۶].

تخلیه به آب‌های سطحی (میلی گرم در لیتر)	برای مصارف کشاورزی و آبیاری (میلی گرم در لیتر)	تخلیه به آب‌های زیرزمینی (میلی گرم در لیتر)
۰/۵	۰/۱	۰/۱

۳. روش‌های حذف سیانید

برای حفظ محیط زیست و به‌ویژه منابع آبی، فاضلاب‌های حاوی سیانید باید پیش از رهاسازی تصفیه شوند. فرایندهای مختلفی برای حذف سیانید وجود دارد که شامل چندین روش فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی است؛ انتخاب مناسب‌ترین روش حذف بر اساس ماهیت و حجم فاضلاب و بر اساس قوانین موجود برای تخلیه به محیط زیست است. از مزایای قابل توجه روش‌های فیزیکی و شیمیایی، بازدهی مناسب این روش‌ها است. عملیات این روش‌ها نسبتا ساده است و در محدوده وسیعی از pH استفاده می‌شود. این روش‌ها بیشتر شامل فرایندهای جداسازی و یا تجزیه سیانید است. فرایندهای تجزیه در حقیقت گسستن پیوند کربن و نیتروژن و ساختن ماده‌ای با سمیت کمتر است. در جدول (۵) این روش‌ها به‌طور خلاصه ارزیابی شده است[۵].

جدول ۵. مزایا و محدودیت‌های روش‌های حذف سیانید از فاضلاب[۵].

روش	مزایا	محدودیت‌ها
فیزیکی	• کاربرد آسان • بازدهی زیاد • بدون هیچگونه محصول جانبی نامطلوب • بازدهی خوب برای محلول‌های با غلظت بالای سیانید • امکان حذف کامل آلاینده‌ها	• دما و فشار بالا و شرایط کاری سخت • تولید سیانید هیدروژن (آلاینده) • هزینه عملیاتی بسیار بالا • بازدهی کم برای محلول‌های رقیق
شیمیایی	• فناوری بسیار توسعه‌یافته • سیانات تولیدشده سمیت کمتری دارد و در pH پایین‌تر به دی اکسید کربن و نیتروژن اکسید می‌شود. • عملیات نسبتا ساده • قابل اجرا در محدوده وسیعی از pH • در برخی موارد می‌توان با این روش سیانید را احیا کرد. • توانایی حذف سیانید در غلظت‌های بالا	• فلزات حاوی سیانید را در pH بالا باید حذف کرد. • نیاز به افزودن کاتیون‌ها و آنیون‌های مناسب به محیط • نیاز به اندازه‌گیری دقیق دوز شیمیایی • هزینه زیاد تجهیزات و مواد شیمیایی مصرفی
بیولوژیکی	• به علت مصرف آلاینده به وسیله ریزاندامگان، به عنوان مواد مغذی، در تصفیه بیولوژیکی آب و خاک کاربرد دارد. • محصولات جانبی شامل آب و دی اکسید کربن و زیست‌توده باکتریایی غنی از پروتئین است. • پسماندهای حاصل از فرایند بیولوژیکی می‌تواند به مواد غذایی برای ماهی و بی‌مهرگان تبدیل شود و قابل رهاسازی در طبیعت است. • ارزان‌تر است و بازدهی بیشتری نسبت به بقیه روش‌ها دارد.	• نمی‌توان این روش را برای حذف همه مواد آلی و غیرآلی خطرناک به کار برد. • برای حذف یا کاهش آلاینده‌هایی که ریزاندامگان‌ها قادر به تجزیه آن‌ها نیست مناسب نیست. • میزان تصفیه بستگی به سمیت و سطح اولیه آلودگی دارد.

بـه دلیـل محـدودیت‌هـای روش‌هـای فیزیکـی و شـیمیایی، روش بیولوژیکی می‌تواند انتخاب مناسبی برای حذف سـیانید از فاضـلاب باشد. اما با وجود مزایایی مانند ارزان‌قیمت بودن، عدم تولید فاضلاب ثانویه و فناوری با آلودگی بسیار کم، روش‌های بیولوژیکی هنـوز بـه عنوان روش کارامد پذیرفته نشده است. یکی از دلایل ایـن موضـوع، هزینه زیاد آزمایش‌های اولیه و نیـاز بـه آزمایشـگاه تخصصـی بـرای انجام آن‌ها است.

۴. مسیرهای حذف بیولوژیکی سیانید

تجزیه بیولوژیکی سیانید به وسـیله ریزانـدامگان‌هـا و در مسـیرهای متفاوت امکان‌پذیر است. تحقیقات نشان می‌دهنـد کـه گـاهی یـک ریزاندامگان، مسیرهای متنوعی برای تجزیه سیانید برمـی‌گزینـد. در ایـن جـا پـنج مسـیر عمـومی حـذف باکتریـایی سـیانید شـامل ۱- مسیر تجزیه[۱]، ۲- مسیر اکسایش[۲]، ۳- مسـیر احیـا[۳]، ۴- مسـیر جایگزینی/ انتقال[۴] و ۵- مسیر سنتز[۵] بررسی می‌شود[۸].

در سه مسیر اولیه، تبدیل سیانیدها بـه مولکـول‌هـای سـاده آلـی و معدنی به وسیله آنزیم‌ها (به عنـوان کاتالیسـت) تسـریع مـی‌شـود و سپس این مولکول‌های ساده به آمونیاک، متـان، دی اکسـید کـربن، اسید فرمیک و اسید کربوکسیلیک تبدیل می‌شود اما در مسـیرهای ۴ و ۵، سیانید به عنوان منبع نیتروژن و کربن به وسیله ریزاندامگان استفاده می‌شود.

۴-۱ مسیر تجزیه

مسیر تجزیه (هیدرولیتیک) بـه کمـک آنـزیم‌هـای متفـاوتی کـه در سـامانه میکروبـی وجـود دارد، ماننـد سـیانید هیـدراتاز[۶] و نیتریـل هیدراتاز[۷] انجـام مـی‌شـود. آنـزیم‌هـای سـیانید هیـدراتاز و نیتریـل هیدراتاز، سوبسترای مشخصی دارند. آن‌ها مستقیما باعث هیـدرولیز می‌شوند و پیوند سه‌گانه کربن و نیتروژن را بـرای تشـکیل فرمامیـد تخریب می‌کنند. در حالی که نیتریلاز[۸] و سیانیداز[۹] آن را به آمونیاک و کربوکسیلیک اسید تبدیل می‌کند که در فعالیت‌های متابولیکی به کار برده می‌شود. آنزیم‌هایی که تجزیه ترکیبات سیانیدی را کاتـالیز می‌کنند به شرح زیر است:

۴-۱-۱ آنزیم سیانید هیدراتاز

سیانید هیدراتاز یک آنزیم قارچی[۱۰] است و معمولا تبدیل سیانید به کمک این آنزیم انجام می‌شود؛ اما تبدیل فرمامید که نتیجـه تجزیـه دی اکسید کربن و آمونیاک است به کمک آنزیم فرمامید هیدراتاز[۱۱] روی می‌دهد:

$$HCN + H_2O \rightarrow HCONH_2 \qquad (۴)$$

این آنزیم متعلق به گروه لیـاز[۱۲] اسـت و بـه علـت شکسـتن پیونـد کربن- نیتروژن منحصرا در دسته هیدرولیاز[۱۳] قرار گرفتـه اسـت. در دسته‌بندی آنزیمی، نام سیسـتماتیکی آن هیـدولیاز فرمامیـد و نـام رایج آن دهیدراتاز فرمامیـد اسـت. ایـن آنـزیم در متابولیسـم اسـید سیانونینو[۱۴] نیز می‌تواند شرکت داشته باشد. آنزیم سـیانید هیـدراتاز که یکی از گونه‌های پرتعداد میان بقیه آنزیم‌ها است برای اولین بـار به کمک *استمفیلیوملوتی*[۱۵] به صورت جزئی خالص‌سازی شـد[۷،۸]. در جـدول (۶)ریزانـدامگان‌هـای آنـزیم سـیانید هیـدراتاز همـراه غلظت، دمای بهینه، pH و سوبسترا آمده است.

۴-۱-۲ آنزیم سیانیداز

آنزیم سیانیداز با نام سیانید دی هیدراتاز[۱۶] نیز شناخته می‌شود. این آنزیم متعلق بـه یـک گـروه از آنـزیم‌هـای باکتریـایی اسـت کـه در *آلکـالیجز اکسولوکسـیان*[۱۷]، *پسـیدوماناس اسـتوتزی* ای ک۶۱[۱۸]، *باسیلوز پامیلاس* سی۱ *دنیتریفیکنز* دی اف۳[۱۹] یافت مـی‌شـوند. در جدول (۷) ریزانـدامگان‌هـای فعـال در حـذف ترکیبـات سـیانید در حضـور آنـزیم سـیانیداز همـراه دمـا و pH بهینـه آمـده اسـت.

1. Hydrolytic Pathway
2. Oxidative Pathway
3. Reductive Pathway
4. Substitution/Transfer Pathway
5. Synthases Pathways
6. Cyanide Hydratase
7. Nitrile Hydratase
8. Nitrilase
9. Cyanidase
10. Fungal
11. Formamide Hydratase
۱۲. Lyases: لیاز آنزیمی اسـت کـه شکسـتن بسـیاری از پیونـدهای شـیمیایی را تسهیل می‌کند و بیشتر باعث تشـکیل پیونـدهای جدیـد دوگانـه یـا حلقـه‌ای می‌شود
13. Hydro Lyases
14. Cyanoamino Acid
15. *Stemphyliumloti*
16. Cyanide Dihydratases
17. *Alcaligenes Xylosoxidans*
18. *Pseudomonas Stutzeri* AK61
19. *Bacillus pumilus* C1. *Denitrificans* DF3

جدول ۶. ریزاندامگان‌های فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم سیانید هیدراتاز[۷].

ریزاندامگان	pH	T, °C	غلظت (میلی مول)	سوبسترا
استمفیلیوملوتی	۷-۹	۲۵	۲	سیانید سدیم
استمفیلیوملوتی (در فاز ثابت شده)	۷/۵-۶/۵	۲۲-۲۴	۱۰۰	سیانید سدیم
فوساریم سولانی آی اچ ا ام ۸۰۲۶[1]	۹-۱۰/۷	۳۰	۰/۸	اعلام نشده
فوساریم اکسیسپوروم[2]	۴-۷	۲۵	۲۰	سیانید پتاسیم
گلوسرکسپورا سوراغی[3]	۵/۳-۵/۷	۳۵	اعلام نشده	سیانید پتاسیم

آنزیم سیانید دی هیدراتاز می‌تواند طبق واکنش زیر سیانید را به ترکیبات غیرسمی تبدیل کند:

$$RCN + 2H_2O \leftrightarrow HCOOH + NH_3 \quad (۵)$$

جدول ۷. ریزاندامگان‌های فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم سیانیداز[۷].

ریزاندامگان	pH	T, °C	سوبسترا
باسیلوز پامیلاس سی ۱	۷/۸-۸	۳۷	سیانید سدیم
پسیدوماناس استوتزی ای ک ۶۱	۶-۱۰	۳۰	سیانید پتاسیم

۴-۱-۳ آنزیم نیتریل هیدراتاز

نیتریل‌های آلیفاتیک می‌تواند به‌طور مؤثر به وسیله هیدراته‌های نیترول تجزیه شود. با توجه به واکنش زیر نیتریل هیدراتاز، سیانیدها را به آمیدها کاتالیز می‌کند:

$$R - CN + H_2O \rightarrow R - CONH_2 \quad (۶)$$

نیتریل هیدراتاز که از *پسیدوناکاردینا ترموفیلا*[4] گرفته شده است بالاترین فعالیت را در مقایسه با دیگر آنزیم‌ها مانند *کلابسیلا*[5]، *کورینه باکتریوم*[6]، *پسیدوماناس*[7]، *ریزوبیوم*[8]، *رودوکوس رودوکلو*[9] دارد. برخی از گونه‌های باکتری مانند *پسودوماناس پوتیدا* ام ای ۱۱۳[10] و *پسودوماناس مارجینالس* ام ای ۳۲[11] که در کنار نیتریل هیدراتاز است به روش غنی‌سازی از خاک تهیه می‌شوند[۸]. این گونه باکتری‌ها توانایی جذب سیانید تا حداکثر ۵۰ میلی مولار را دارد. به علاوه این گونه باکتری‌ها زیربنای وسیعی از بسترهای کوچک مانند آکریلونیتریل، نیتریل‌ها با زنجیره‌های جانبی طولانی و نیتریل‌ها با اتم‌های کربن آلفا دارد. *پسودوماناس پوتیدا* ام ای ۱۱۳و *پسودوماناس مارجینالس* ام ای ۳۲ که پیش‌ماده متاکریل آمید است به عنوان بیوکاتالیست‌های کامل سلولی برای هیدراسیون استن سیانوهیدرین به هیدروکسی اسید بوتیریمید استفاده می‌شوند. در جدول (۸) ریزاندامگان‌هایی که آنزیم سیانیداز فعالیت آن‌ها را کاتالیز می‌کند همراه دمای بهینه، pH و سوبسترا بیان شده است[۷].

1. *Fusarium Solani* IHEM 8026
2. *Fusarium Oxysporum*
3. *Gloeocercospora Sorghi*

4. *Pseudonocardia Thermophila*
5. *Klebsiella*
6. *Corynebacterium*
7. *Pseudomonas*
8. *Rhizobium*
9. *Rhodococcus Rhohoclou*
10. *Pseudomonas Putida* MA113
11. *Pseudomonas Marginales* MA32

جدول ۸. ریزاندامگان‌های فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم نیتریل هیدراتاز[۷].

ریزاندامگان	pH	T , °C	سوبسترا
میروتکیوم[1]	۷/۷	۵۵	سیانامید
باسیلوس اس پی[2]	۷/۰	۵۰	آلکیل نیتریل
کورنباکتریوم اس پی . سی۵[3]	۸/۵	۵۵	دی نیتریل آلیفاتیک
بروی باکتریوم امپرالیس سی بی اس ۴۸۹-۷۴[4]	۷/۵	اعلام نشده	آکریلونیتریل
پسیدوماناس پوتیدا[5]	۱۱/۴-۹/۲	۳۰	نیتریل‌های آلیفاتیک
پسیدوماناس کلرورافیز ب ۲۳[6]	۷/۵	۲۰	نیتریل‌های آلیفاتیک
آرتروباکتر اس پی .جی ۱[7]	۷/۲	۳۵	نیتریل‌های آلیفاتیک
پسودوناکاردیا ترموفیلا جی سی ام ۳۰۹۵[8]	۹	۵۵	آکریلو نیتریل‌ها، استونیتریل‌ها، بنزونیتریل‌ها
رودوکوکوس اس پی ان ۷۷۴[9]	۸/۵	۳۵	نیتریل‌های آلیفاتیک

۴-۱-۴ نیتریلاز

آنزیم‌های نیتریلاز بدون تشکیل سیانیدهای "آزاد" آمیدهای اولیه هیدرولیزهای نیتریل‌ها را به اسید کربوکسیلیک و آمونیاک تبدیل می‌کنند:

$$R - CN + 2H_2O \rightarrow R - COOH + NH_3 \qquad (۷)$$

نیتریلاز در سنتز بیولوژیکی پروتئین‌ها و تغییرات در گیاهان، حیوانات و قارچ‌ها دخیل است. ساختار نیتریلازها متشکل از آنزیم‌های القاشده از انواع مختلف است که برای فعال کردن آنزیم لازم است.

در جدول (۹) ریزاندامگان‌هایی که آنزیم نیتریلاز آن‌ها را کاتالیز می‌کند همراه دمای بهینه، pH و سوبسترا آمده است[۸].

جدول ۹. ریزاندامگان‌های فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم نیتریلاز[۷].

ریزاندامگان	pH	T, °C	سوبسترا
نوکاردینا اس پی[10]	۸	۵۰	نیتریل‌های آروماتیک
رودوکوس رودوکلو جی ۱[11]	۷/۵	۴۵	بنزونیتریل، ۲-فورانوکربونیتریل
رودوکوس رودوکلو ک ۲۲[12]	۵/۵	۵۰	کروتونونیتریل، آکریلونیتریل
رودوکوس رودوکلو پی ای-۳۴[13]	۷/۵	۳۵	بنزونیتریل، کروتونونیتریل، آکریلونیتریل
آرتروباکتر اس پی .جی ۱	۸/۵	۴۰	نیتریل‌های آروماتیک
الکالیجنس فائکالیز جی ام۳[14]	۷/۵	۴۵	مندلونیتریل ، پ-امینوبنزیل سیانید
آسینوتوباکتر اس پی ای ک۲۲۶[15]	۸	۵۰	نیتریل‌های آروماتیک و آلیفاتیک
پسیدوماناس ترموفیلا جی سی ام ۳۰۹۵[16]	۹	۵۵	بنزونیتریل، کروتونونیتریل، آکریلونیتریل
کلبسیلا اوزانایی[17]	۹/۲	۳۵	بروموکسینیل
فوساریوم سولانی	۹/۱-۷/۸	اعلام نشده	نیتریل‌های آروماتیک
فوساریوم اکسیپوروم[18]	۱۱-۶	۴۰	نیتریل‌های آروماتیک و آلیفاتیک

1. *Myrothecium*
2. *Bacillus* Sp
3. *Corynebacterium* Sp. C5
4. *Brevibacterium Imperalis* CBS489–74
5. *Pseudomonas Putida*
6. *Pseudomonas Chlororaphis* B 23
7. *Arthrobacter* سp. J1
8. *Pseudonocardia Thermophila* JCM3095
9. *Rhodococcus* Sp. N 774

10. *Nocardia* Sp.
11. *Rhodococcus Rhodochrous* J1
12. *Rhodococcus Rhodochrous* K22
13. *Rhodococcus Rhodochrous* PA-34
14. *Alcaligenes Faecalis* JM3
15. *Acinetobacter* Sp. AK226
16. *Pseudomonas Thermophila* JCM3095
17. *Klebsiella Ozaenae*
18. *Fusarium Oxysporum*

۴-۲ مسیر اکسایش[1]

در مسیر اکسایش، تبدیل سیانید شامل تبدیل اکسیژنولیک[2] به دی اکسیدکربن و آمونیاک است. NADPH به عنوان کاتالیزور در این مسیر عمل می‌کند. برای عملکرد بهینه در این مسیر باید منابع بیشتر از کربن به محیط افزوده شود. سه آنزیم و دو سازوکار برای این مسیر وجود دارد:

۴-۲-۱ سیانید مونوکسیناز[3] و سیاناز[4]

سیانید مونوکسیناز ابتدا سیانید را به سیانات تبدیل می‌کند که به وسیله سیاناز کاتالیز می‌شود و با توجه به واکنش زیر سیانات به آمونیاک و دی اکسید کربن تبدیل می‌شود:

$$HCN^- + O_2 + 2H^+ + NADPH \rightarrow CNO^- + \underset{CNO^- + 3H^+ + HCO_3^- \rightarrow NH_4^+ + 2CO_2}{\overset{NADP + 2H_2O}{\downarrow}} \quad (۸)$$

در جدول (۱۰) ریزاندامگان‌های آنزیم سیانیدمونوکسیناز و سیاناز همراه دمای بهینه، pH و ترکیب سیانید مورد نظر آمده است.

جدول ۱۰. ریزاندامگان‌های فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم سیانید مونوکسیناز و سیاناز.

ریزاندامگان	pH	T, °C	ترکیب سیانید	مرجع
پسیدوماناس پسیدوآلکالیجناس سی ای سی تی ۵۳۴۴[5]	۹/۵	۳۰	سیانید پتاسیم	[۸]
پسیدوماناس پسیدوآلکالیجناس[6]	۱۰-۹/۵	۳۰	سیانید سدیم	[۷]

۴-۲-۲ سیانید دی اکسیناز[7]

این مسیر اکسایش مستقیما از سیانید دی اکسیناز برای تشکل آمونیاک و دی اکسید کربن استفاده می‌کند:

$$HCN + O_2 + 2H^+ + NADPH \rightarrow NADH + CO_2 + NH_3 \quad (۹)$$

سلول *پسودوماناس پوتیدا* به طور مؤثری برای تولید آمونیاک و دی اکسیدکربن از مسیر اکسایش می‌تواند استفاده کند. مثالی از این گروه، تجزیه سیانید در سه قارچ سفید ترامتس ورسیکالر ای تی سی سی ۲۰۰۸۰۱[8]، فانروکیت کریسوسپوریوم ام ای۴۹۶[9] و *پلیوروتس ساجور-کاجو*[10] با یک واکنش اکسایش است که محصولات آن آمونیاک و دی اکسید کربن است. در جدول (۱۱) ریزاندامگان‌های آنزیم سیانید دی اکسیناز همراه دمای بهینه، pH و ترکیب سیانید مورد نظر مشاهده می‌شود [۸،۹،۱۰].

جدول ۱۱. ریزاندامگان‌های فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم سیانید دی اکسیناز.

ریزاندامگان	pH	T, °C	ترکیب سیانید	مرجع
پسیدوماناس فلورنس ان سی آی ام ب ۱۱۷۶۴[11]	۷	۳۰	سیانید پتاسیم	[۱۰]
اشرشیا کولی[12]	۸-۶	۳۰	سیانید پتاسیم	[۹]

۴-۳ مسیر احیا

به‌طور کلی مسیر احیا برای سیانید، آزاد و تحت شرایط بی‌هوازی طی می‌شود. در این واکنش‌ها که شامل دو مرحله و نتیجه آن تشکیل متان و آمونیاک است، نیتروژناز می‌تواند هیدروژن سیانید را به عنوان سوبسترا مصرف کرده و در شرایط کاملا بی‌هوازی، آمونیاک و متان تولید کند. در جدول (۱۲) ریزاندامگان آنزیم نیتروژناز همراه دمای بهینه، pH و ترکیب سیانید مورد نظر آمده است[۷،۱۱].

$$\mathrm{HCN} + 2\mathrm{H}^+ + 2\mathrm{e}^- \rightarrow \mathrm{CH_2 = NH} + H_2\mathrm{O} \rightarrow CH_2 = O \quad (۱۰)$$

$$\mathrm{CH_2 = NH} + 2\mathrm{H}^+ + 2\mathrm{e}^- \rightarrow \mathrm{CH_3 - NH} + 2\mathrm{H}^+ + 2\mathrm{e}^- \rightarrow \mathrm{CH_4 + NH_3} \quad (۱۱)$$

1. Oxidative Pathway
2. Oxygenolytic
3. Cyanide Monooxygenase
4. Cyanase
5. *Pseudomonas Pseudoalcaligenas* CECT5344
6. *Pseudomonas Pseudoalcaligenes*
7. Cyanide Dioxygenase
8. *Trametes Versicolor* ATCC 200801
9. *Phanerochaete ChrysOsporium* ME 496
10. *Pleurotus Sajor-Caju*
11. *Pseudomonas Fluorescens* NCIMB 11764
12. *Escherichia Coli*

جدول ۱۲. ریزاندامگان فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم نیتروژناز[۱۱].

ریزاندامگان	pH	T, °C	ترکیب سیانید
کلابسیلا اکسیتوکا[1]	۷	۳۰	سیانید پتاسیم

۴-۴ مسیر جایگزینی/ انتقال[2]

در این مسیر با فراهم کردن منابع اضافی نیتروژن، ریزاندامگان‌ها می‌توانند علاوه بر جذب سیانید سمیت سیانید را نیز کاهش داده و به حداقل میزان ممکن برسانند. جذب سیانید با دو آنزیم رودانزه[3] و مرکاپتوپراویت سولفورترنسفرایز[4] رخ می‌دهد. هر دو آنزیم به مقدار زیاد در بدن موجودات زنده وجود دارد. آنزیم رودانزه به شدت نیازمند مراقبت است. رودانزه از آنزیم‌های عمومی است که در حال حاضر برای جذب سیانید بسیار کاربرد دارد. در شرایط آزمایشگاهی، رودانزه (به عنوان کاتالیزور)، اتم گوگرد را از یک دهنده مناسب (تیوسولفات[5]) به سیانید انتقال می‌دهد و سولفیت[6] و تیوسیانات[7] (با سمیت کمتر) تولید می‌کند:

$$Thiosulfate + cyanide \rightarrow sulphite + thiocyanate \quad (۱۲)$$

فعالیت این آنزیم تحت تاثیر حضور یون‌های فسفات و آنیون‌های دوظرفیتی که روی سایت‌های فعال، مؤثر است قرار می‌گیرد[۸].

رودانزه در انواع گونه‌های باکتریایی از جمله *اشرشیا کولی* و *آزوتوباکتر وینلندی*[8] و چندین گونه *تیوباسیلوس*[9] مشاهده شده است. در جدول (۱۳) ریزاندامگان‌های آنزیم رودانزه همراه دمای بهینه، pH و ترکیب سیانید مورد نظر آمده است[۸،۱۲].

1. *Klebsiella Oxytoca*
2. Substitution/Transfer Pathway
3. rhodanese
4. Mercaptopyruvate Sulfurtransferase
5. Thiosulfate
6. Sulphite
7. Thiocyanate
8. *Azotobacter Vinelandii*
9. *Thiobacillus*

جدول ۱۳. ریزاندامگان‌های فعال در حذف ترکیبات سیانید در حضور آنزیم رودانزه.

ریزاندامگان	pH	T, °C	ترکیب سیانید	مرجع
آزوتوباکتر وینلندی	۷/۴	۳۰	سیانید پتاسیم	[۱۲]
اشرشیا کولی	۹	۳۰	سیانید پتاسیم	[۷]
فروباسیلوس فروکسیدانس[10]	۹	۲۵		
ترموباسیلوس دنیتریفیکانز[11]	۹	اعلام نشده		
دسولفوروماکیولیوم نیتریفیکانس[12]	۸/۶	اعلام نشده		

آنزیم دیگر، مرکاپتوپراویت سولفورترنسفرایز است که مسیر جایگزینی/ انتقال را کاتالیز می‌کند و به‌طور ویژه انتقال‌دهنده گوگرد در گروه‌های گوگرددار است. این آنزیم در متابولیسم سیستئین می‌تواند شرکت کند. نام سیستماتیکی این گروه آنزیم، ۳- *مرکاپتوپیرویت:سیانید سولفورترانفرایز*[13] است. واکنش شیمیایی آن به صورت زیر است:

$$HSCH_2COCOO^- + E \leftrightarrow CH_2COCOO^- + ES(step1) \quad (۱۳)$$

$$ES + CN^- \leftrightarrow E + SCN^- \ (step2) \quad (۱۴)$$

E آنزیم و ES سولفور-آنزیم است. با توجه به واکنش‌های گفته‌شده، ۳-*مرکاپتوپیرویت*[14]

در دو مرحله به تئوسولفات تبدیل شده است. در مرحله اول سولفور- آنزیم تشکیل شده که این آنزیم در مرحله دوم با سیانید واکنش داده است[۷،۸].

10. *Ferrobacillus Ferroxidanse*
11. *Thermobacillus Denitrificans*
12. *Desulforomaculum Nitrificans*
13. *3-Mercaptopyruvate: Cyanide Sulphurtransferase*
14. 3-Mercaptopyruvate

۴-۵ مسیر سنتز[1]

در این مسیر با استفاده از آنزیم‌های *بتا- سیانوآلانین*[2] و *گاما- سیانو- آلفا- آمینوبوتیریک اسید*[3]، جذب سیانید انجام می‌شود. این مسیر شامل سنتز اسید آمینه *بتا- سیانوآلانین* و *گاما- سیانو- آلفا-آمینوبوتیریک اسید* است که با استفاده از باقی‌مانده‌های اسید آمینه که به عنوان زیربنا وجود دارد واکنش نشان می‌دهند.

بتا- سیانوآلانین نقش بسیار مهم و حیاتی در حذف سیانید دارد. این آنزیم متعلق به گروه لیاز و بخش گوگرد-کربن لیاز است. نام سیستماتیکی گروه این آنزیم *ال- سیستئین هیدروژن- سولفید- لیاز*[4] است.

باسیلوس ماگاتریوم[5] با تبدیل سیانید به *بتا- سیانوآلانین* و سپس به آسپارژین رشد می‌کند.

بتا- سیانوآلانین به وسیله اسید آمینه‌های مختلفی مانند سیستئین و سرئین و آسپاراژین برانگیخته می‌شود و شروع به رشد می‌کند. سیانید تولیدشده از *سی.ویولاسیوم*[6]، ابتدا به *بتا-سیانوآلانین* و سپس مطابق واکنش (۱۵) به آسپاراژین تبدیل می‌شود[۸،۱۳].

$$\begin{array}{l} HS-CH_2CH(NH_2)COOH \rightarrow H_2S + NC-CH_2CH(NH_2)COOH \\ (Cystein) \qquad\qquad\qquad\qquad \downarrow \ (\beta-Cyanoalanine) \\ HCN + H_2NCO-CH_2CH(NH_2)COOH\ (Asparagine) \end{array}$$

(۱۵)

در جدول (۱۴) ریزاندامگان فعال در حذف ترکیبات سیانید در مسیر سنتز آمده است.

جدول ۱۴. ریزاندامگان فعال در حذف ترکیبات سیانید در مسیر سنتز[۱۴].

ریزاندامگان	pH	T, ℃	ترکیب سیانید
باسیلوس ماگاتریوم	۷	۳۵	سیانید پتاسیم

1. Syntheses Pathway
2. *β-Cyanoalanine*
3. *γ-Cyano-α-Aminobutyric Acid*
4. *L-Cysteine Hydrogen-Sulphide-Lyase*
5. *Bacillus Magaterium*
6. *C. Violaceum*

گاما- سیانو- آلفا- آمینوبوتیریک اسید مسیر دیگری برای جذب سیانید است. زمانی که *گاما- سیانو-آلفا- آمینوبوتیریک اسید* سنتز می‌شود به آهستگی به گلوتامات تبدیل می‌شود. یک باکتری یون سیانید و ترموفیلا به نام *باسیلوس استیروترموفیلاس* سی ان۳[7] از یک چشمه آبگرم در ژاپن یافت شده که می‌تواند *گاما- سیانو- آلفا- آمینوبوتیریک اسید* مقاوم برابر حرارت تولید کند[۷].

۵. عامل‌های فرایندی مؤثر در حذف بیولوژیکی سیانید

تصفیه بیولوژیکی فاضلاب به قابلیت زیست‌تجزیه‌پذیری آلاینده‌ها و عوامل مهمی همچون حضور آنزیم‌های مناسب، غلظت اولیه آلاینده، در دسترس بودن منبع کربن و نیتروژن، حضور ماده الکترون‌دهنده و الکترون‌گیرنده، وجود مواد مغذی ضروری، عدم حضور ترکیبات بازدارنده، غلظت مناسب اکسیژن در فاضلاب و شرایط محیطی مانند pH، دما، زمان تماس ریزاندامگان و آلاینده بستگی دارد[۷،۵]. اکنون به مهم‌ترین عامل‌های مؤثر در حذف بیولوژیکی سیانید از فاضلاب اشاره می‌شود:

۵-۱ در دسترس بودن مواد مغذی

ریزاندامگان‌ها معمولاً از محیط غنی از مواد آلی به عنوان منبع کربن و از سیانید به عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌کنند و به همین دلیل، وجود منابع دیگر نیتروژن در محیط در روند حذف سیانید مداخله می‌کند.

۵-۲ شرایط محیطی

معمولاً آنزیم‌های تجزیه‌کننده سیانید به وسیله ریزاندامگان‌های مزوفیل تکثیر می‌شوند که بهترین محدوده عملیاتی آن‌ها ۲۰-۴۰ درجه سلسیوس است؛ ولی در سامانه‌های تصفیه صنعتی، بهتر است که شرایط کار در دمای محیط باشد (دما در معادن طلا معمولاً ۱۰-۳۰ °C است).

یکی دیگر از عامل‌های مهم در حذف بیولوژیکی ترکیبات سیانیدی، pH محیط است. pH بهینه برای آنزیم‌های مؤثر در محدوده ۹-۶ قرار دارد و برای باکتری‌ها و قارچ‌ها به ترتیب در محدوده ۶-۸ و ۴-۵ اعلام شده است. از این جنبه بالا بودن pH

7. *Bacillus Stearothermophilus* CN3

مـی‌توانـد در تجزیـه سـیانید تـاثیر چشـم‌گیـری داشـته باشـد. در جدول (۱۵) محدوده pH هر ریزاندامگان همـراه بـازدهی حـذف سیانید آمده است.

۵-۳ زمان تماس

در طراحی سامانه‌های بیولوژیکی باید به زمـان کـافی بـرای تمـاس ریزاندامگان‌ها و ترکیبات مورد نظر نیز توجه داشت. زمان تمـاس بـا انتخاب یکـی از زمـان‌هـای مانـد جامـدات (SRT)[1] یـا زمـان مانـد هیـدرولیکی (HRT)[2] و زمـان متوسـط مانـد سـلول (MCRT)[3] اعمال می‌شود.

زمان ماند متوسط سلولی و زمـان مانـد جامـدات بـرای اطمینـان از حفظ دانسیته مطلوب میکروب در محیط و زمان مانـد هیـدرولیکی، زمان واقعی تماس میان آلاینده و میکـروب‌هـا اسـت. بـرای تصـفیه فاضلاب‌های صنعتی مثل واحدهای تولید کک، زمان مانـد جامـدات ۴۰-۱۰۰ روز و برای سامانه‌های شهری، زمان ماند جامدات ۱۲-۱۵ روز است.

۵-۴ حضور ترکیبات بازدارنده

حضـور آلاینـده‌هـا بـا تـأثیر روی جمعیـت میکروبـی و مهـار رشـد ریزانـدامگان‌هـای خـاص، تـأثیر قابـل تـوجهی در تجزیـه ترکیبـات سیانیدی دارد. برای نمونه در صـورت نبـود بـاکتری‌هـای نیتریفـایر، آمونیاک در محیط تجمع می‌یابد (آمونیاک به عنـوان یـک بازدارنـده برای فرایندهای میکروبی شناخته شده است).

از آن جا که سیانید با فلزات زیادی تشکیل کمپلکس می‌دهد، یکی از نتایج تجزیه آن آزادسازی فلزات درون محلـول اسـت. ایـن در حـالی است که بسیاری از فلزات سنگین مانند کادمیم، کروم، مـس، نیکـل، روی، جیوه و نقره می‌تواند آثار سمی روی فعالیت میکروب‌ها داشـته باشد. فلزات مس و روی در غلظت‌های بسـیار پـایین نیـز تاثیرگـذار است.

در جدول (۱۵) خلاصه‌ای از تحقیقاتی که درباره حـذف بیولـوژیکی سیانید انجام شده ولی مسیر بیولوژیکی حذف دقیقاً مشخص نشـده، آمده است[۱،۷،۸،۱۵،۱۶].

جدول ۱۵. ریزاندامگان‌های مؤثر در فرایندهای بیولوژیکی حذف ترکیبات سیانید.

ریزاندامگان	ترکیب سیانید	غلظت (میلی گرم بر لیتر)	pH	T, °C	میزان حذف	مراجع
باسیلوس پومیلاس[4]	سیانید پتاسیم	۱۶۰	۸/۵-۹	۴۰	اعلام نشده	[۱۷]
استمفیلیوملوتی	سیانید پتاسیم	۶۳	۶/۵-۷/۵	۲۵	خیلی کم	[۱۸]
باسیلوس استیروترموفیلوس ان ای سی ۱۵۰۳[5]	سیانید سدیم	۳۰-۳۰۰	۷/۸	۲۷	۵-۸ گرم بر لیتر ساعت	[۱۹]
گرانول سیانیداز	سیانید سدیم	۳۰۰	۷/۴	۲۶	۰/۱-۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر CN^-	[۲۰]
پسودوماناس پوتیدا	سیانید سدیم	۱۰۰-۴۰۰	۶/۷	۲۵	اعلام نشده	[۲۱]
پسیدوماناس فلورنس	تترا سیانو نیکل ۲	۲۶	اعلام نشده	۳۰	٪۱۰۰	[۲۲]
پسیدوماناس اسیدورانس[6]	سیانید پتاسیم	۱۲-۷۵	۷/۱-۹/۱	۳۰	اعلام نشده	[۲۳]

1. Solids Retention Time
2. Hydraulic Retention Time
3. Mean Cell Residence Time
4. *Bacillus Pumilus*
5. *Bacillus Stearothermophilus* NAC 1503
6. *Pseudomonas Acidovorans*

(ادامه) جدول ۱۵. ریزاندامگان‌های مؤثر در فرایندهای بیولوژیکی حذف ترکیبات سیانید.

ریزاندامگان	ترکیب سیانید	غلظت (میلی گرم بر لیتر)	pH	T, °C	میزان حذف	مراجع
اشرشیاکولی بی سی ان۶ [1]	سیانید پتاسیم	۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰	۹/۲	۳۰	اعلام نشده	[۲۴]
فوساریوم سولانی	سیانید پتاسیم	۵۰-۳۰	۱۰/۷-۹/۲	۳۰	اعلام نشده	[۲۵]
ترکیبی از باکتریهای: *فوساریوم سولانی*، *تی. پولیسپوروم* [2]، *اف.اوکسیسپوم* [3]، *اکسیتالیدیوم ترموفیلا* [4] و پنسیلیوم میسزینسکی [5]	$(K_2Ni(CN)_4$ $K_4Fe(CN)_6)$	$K_4Fe(CN)_6^-$ ۱-۰/۲۵ میلی مولار	۷-۴/۵	۲۵	٪۵۶-٪۵۰	[۲۶]
		$0/75K_2Ni(CN)_4^-$ میلی مولار				
تعدادی باکتری مختلف	سیانید	۲۰	۷	۲۲	بیش از ٪۲۵	[۲۷]
پسودوماناس پوتیدا	فنول و سیانید	۴ میلی مولار	اعلام نشده	۲۷	٪۳۰ - ٪۲۰	[۲۸]
پسودوماناس پوتیدا	سیانید سدیم، تیوسیانات و سیانات	۱۰۰	۷/۵	۲۵	٪۹۸-٪۷۹	[۲۹]
پسیدوماناس فلورنس	سیانید آهن	۱۰۰	۷-۴	۳۵-۲۵	٪۷۸/۹	[۳۰]
	کمپلکس سیانید آهن	۱۰۰	۵	۲۵	٪۳۱	
آزوتوباکتر وینلندی تی آی اس تی آر ۱۰۹۴ [6]	سیانید	۸۶	۷/۴	۳۰	٪۹۰	[۳۱]
باکتریهای بیهوازی فاضلاب	سیانید	۱۲۵	۷	۳۳	٪۹۳ - ٪۹۱	[۳۲]
باکتریال کنسورتیوم ویز [7]: *سیتروباکتر* اس پی. ام سی ام بی-۱۸۱ [8]، *پسیدوماناس* اس پی. ام سی ام بی-۱۸۲ [9]، *پسیدوماناس* اس پی. ام سی ام بی-۱۸۳ [10]، *پسیدوماناس* اس پی. ام سی ام بی-۱۸۴ [11]	سیانید پتاسیم	۵۲	۷/۵	۳۵	٪۱۰۰	[۳۳]

1. *Escherichia Coli* BCN6
2. *T.Polysporum*
3. *F.Oxyspoum*
4. *Scytalidium Thermophilum*
5. *Pencillium Miczynski*
6. *Azotobacter Vinelandii* TISTR 1094
7. Bacterial consortium Viz
8. *Citrobacter* Sp.MCMB-181
9. *Pseudomonas* Sp. MCM B-182
10. *Pseudomonas* Sp. MCM B-183
11. *Pseudomonas* Sp. MCM B-184

(ادامه) جدول ۱۵. ریزاندامگان‌های مؤثر در فرایندهای بیولوژیکی حذف ترکیبات سیانید.

ریزاندامگان	ترکیب سیانید	غلظت (میلی گرم بر لیتر)	pH	T, °C	میزان حذف	مراجع
پسیدوماناس اس پی[1].	سیانید مس و سیانید روی	۵۲	۷/۵	۳۵	٪۶۸ - ٪۹۳	
سیتروباکتر اس پی[2].					٪۸۸- ٪۹۳	
باکتری‌های تخمیر و باکتری‌های متان ساز	سیانید	۱۱۰۰۰,۹۰۰۰ ,۷۵۰۰ ۱۴۰۰۰,	اعلام نشده	۲۵	٪۹۶ - ٪۹۸	[۳۴]
گرانول بیولوژیکی	سیانید	۱۰۰	اعلام نشده	۳۰	٪۳۵ -٪۴۰	[۳۵]
پروتباکتریا[3]، *تیوالکالیمیکروبیوم* اس پی[4]. و *تیوالکاویبیرو* اس پی.[5]	تیوسیانات	۲۰۰-۵۰۰	۱۰	۲۸	۱۶ میلیگرم بر گرم ساعت	[۳۶]
رالستونیا اتروفا[6]، *بوسیا تیوکسیدانت*[7]، *اسفینومانوس پانکیموبیلیس*[8]	تیوسیانات	۴۰ میلی مولار	۷/۲	اعلام نشده	۴ میلی مولار	[۳۷]
آکرمونیوم استریکتوم[9]	تیوسیانات	۷۴۰۰	۶	۲۵	۷/۴ گرم بر لیتر	[۳۸]
تیوباسیلوس تیوپاروس تی اچ آی ۱۱۵[10]	تیوسیانات پتاسیم	۱۰۰	۷	۳۰	اعلام نشده	[۳۹]
پسیدوماناس اس پی پی سی ام ۵ ، سی ام ان ۲[11]	سیانید (WAD)[12]	۱۰۰-۴۰۰	۹/۲ – ۱۱/۴	۳۰	اعلام نشده	[۴۰]
تریکودرما اس پی[13]. و *فوساریوم اس پی*[14].	سیانید	۲۰۰۰	۶/۵	۲۵	۲۰۰۰ میلیگرم بر لیتر سیانید	[۴۱]
فوساریوم اوکسیپوروم[15]	سیانید و فرمامید	۴۵۰-۶۵	۸	۲۵-۳۰	٪۹۶	[۴۲]
کلابسیلا اکسیتوکا	سیانید پتاسیم	۳۲۵	۷	۳۰	۰/۲۲۴-۰/۱۹۲ نانومول بر ساعت	[۴۳]

1. *Pseudomonas* Sp.
2. *Citrobacter* Sp.
3. Proteobacteria
4. *Thioalkalimicrobium Sp.*
5. *Thioalkaivibrio Sp.*
6. *Ralstonia Eutropha*
7. *Bosea Thioxidant*
8. *Sphinomonas Pancimobilis*
9. *Acremonium Strictum*
10. *Thiobacillus Thioparus* THI115
11. *Pseudomonas* Spp CM5, CMN2

۱۲. Weak Acid Dissociable: سیانیدی که با اسید ضعیف تجزیه می‌شود و سیانید آزاد تولید می‌کند.

13. *Trichoderma* Sp.
14. *Fusarium Sp.*
15. *Fusarium Oxysporum*

(ادامه) جدول ۱۵. ریزاندامگان‌های مؤثر در فرایندهای بیولوژیکی حذف ترکیبات سیانید.

ریزاندامگان	ترکیب سیانید	غلظت (میلی گرم بر لیتر)	pH	T, °C	میزان حذف	مراجع
اسندماس آبلیکاس[1]	WAD	۷۷/۹	۱۰/۳	۲۰>	۹۲/۳٪	[۴۴]
پسیدوماناس پسیدوآلکالیجناز سی ای سی تی۵۳۴۴ [2]	سیانید پتاسیم	۱۳۰	۹/۵	۳۰	۲/۳۱ میلیگرم سیانید بر ساعت	[۴۵]
آگروباکتریوم تامفسینز اس یو تی اس ۱ [3]	سیانید پتاسیم	۲۵ و ۵۰ و ۱۵۰	۷/۲	۳۰	٪۹۸ - ٪۸۷/۵	[۴۶]
رودوکوکوس یوکی ام پی-۵ام[4]	سیانید پتاسیم	۱۰۰-۲۰	۷	۳۰	٪۶۴ - ٪۴۸	[۴۷]
رودوکوکس یوکی ام پی-۵ام	سیانید پتاسیم	اعلام نشده	تنظیم نشده	۳۰	٪۹۶ - ٪۶۴	[۴۸]
سرراتیا مارکسنس[5]	سیانید پتاسیم	۲۵	۷	۳۰	٪۹۷	[۴۹]
پولیپروس آرکولاریوس[6]	سیانید پتاسیم	۱۰۰	۱۰/۵	۳۰	٪۷۲	[۵۰]
پسیدوماناس پسیدوآلکالیجنس[7]	سیانید سدیم	۴۵	۱۰-۹/۵	۳۰	٪۶۰	[۵۱]
سندسماس آبلیکاس[8]	سیانید سدیم	۷۷/۹	۱۰/۳	اعلام نشده	۹۱	[۵۲]
باسیلوس اس پی. (کنسورتیوم)[9]	سیانید پتاسیم	۲۰۰	۹/۵	۳۷	۶۵	[۱۳]
پسیدوماناس فلورنس	سیانید آهن	۱۰۰	۵	۲۵	۷۸/۹	[۵۳]
اشرشیا کولی	سیانید پتاسیم	۵۰	۸-۶	۴۰-۲۰	۹۰	[۵۴]
پسیدوماناس فلورنس ان سی آی ام بی ۱۱۷۶۴[10]	سیانید پتاسیم	۵۰ میلی مولار	۷	۳۰	۸۰	[۵۵]
کلابسیلا اکسیتوکا	سیانید پتاسیم	۰/۵۸ میلی مولار	۷	۳۰	۹۱/۴	[۵۶]
موجودات رودوکوس[11]	سیانید پتاسیم	۱۲ میلی مولار	۷	۳۰	۵۰	[۵۷]
پسیدوماناس فلورنس	سیانید آهن	۵۰	۶	۲۶	۹۹/۹	[۵۸]
پسودوماناس پوتیدا	سیانید آهن	۱۰۰	۷	۳۰	۷۸/۲	[۵۹]
مخلوطی از فوساریوم سولانی و تی. پولیسپوروم[12]	$K_2Ni(CN)_4$	۰/۷۵ میلی مولار	۷	اعلام نشده	٪۹۰	[۶۰]

1. *Scenedesmus Obliquus*
2. *Pseudomonas Pseudoalcaligenas* CECT5344
3. *Agrobacterium Tumefaciens* SUTS 1
4. *Rhodococcus* UKMP-5M
5. *Serratia Marcescens*
6. *Polyporus Arcularius*
7. *Pseudomonas Pseudoalcaligenes*
8. *Scenedesmus Obliquus*
9. *Bacillus* Sp. (Consortium)
10. *Pseudomonas Fluorescens* NCIMB 11764
11. *Rhodococcus*
12. T. *Polysporum*

(ادامه) جدول ۱۵. ریزاندامگان‌های مؤثر در فرایندهای بیولوژیکی حذف ترکیبات سیانید.

ریزاندامگان	ترکیب سیانید	غلظت (میلی گرم بر لیتر)	pH	T, °C	میزان حذف	مراجع
رحیزوپوس اوریازایی[1]	یون سیانید	۱۵۰	۵/۶	۲۵	٪۸۳	[۶۱]
استمفیلیوملوتی	یون سیانید	۱۵۰	۷/۲		٪۹۰	
رحیزوپوس اوریازایی	یون سیانید	۱۵۰	۵/۶	۲۵	٪۹۵/۳	
استمفیلیوملوتی		اعلام نشده	۷/۲	اعلام نشده	٪۹۸/۶	
مخلوطی از باکتری‌های بی‌هوازی	یون سیانید	بیش از ۱۰۰	۷/۵	اعلام نشده	بیش از ٪۷۰	[۶۲]
فوساریوم سولانی	سیانید پتاسیم	اعلام نشده	۷/۵	اعلام نشده	۵۰	[۶۳]

۶. نتیجه‌گیری

سیانید ترکیبی سمی است که از راه فاضلاب صنایع مختلف وارد محیط زیست می‌شود و به دلیل سمیت زیاد، کنترل و حذف آلودگی‌های آن، همیشه در دستور کار تصفیه‌خانه‌های صنعتی قرار دارد. در این مقاله مسیرهای بیوژیکی حذف سیانید و ترکیبات آن از آب‌های آلوده بررسی شد. گرچه تحقیقات نشان می‌دهد که حذف بیولوژیکی سیانید با مسیر سینتاز از کارامدترین و مؤثرترین روش‌ها است اما بهترین مسیر بستگی به نوع ترکیب سیانید موجود در فاضلاب صنعتی دارد و شرایط عملیاتی بهینه می‌تواند تغییر کند. با این وجود می‌توان با بررسی آنزیم‌ها پیش از انجام هرگونه آزمایش، ریزاندامگان و مسیر حذف مناسب را شناسایی و شرایط دستیابی به بهترین بازدهی را انتخاب کرد. همچنین با توجه به مسیرهای آنزیمی معرفی‌شده و تعیین سازوکار تقریبی حذف، می‌توان به کمک شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی، اثر عامل‌های مهم را به‌طور تئوری پیش‌بینی کرد. این مهم در حوزه فعالیت مهندسان شیمی است که با شبیه‌سازی سامانه‌های آنزیمی به کمک نرم‌افزارهایی مانند MOE[2]، NAMD[3] و Materials Studio بهترین شرایط عملیاتی در این فرایندها را پیش‌بینی کنند[۱۶].

بررسی‌ها نشان می‌دهد گرچه در دهه اخیر تحقیقات زیادی درباره حذف بیولوژیکی آلاینده‌های زیست‌محیطی انجام شده، اما هنوز ناشناخته‌هایی در تعیین سازوکار حذف ترکیبات آلاینده وجود دارد. تعیین سازوکار واکنش‌های بیولوژیکی نیز یکی از شاخه‌هایی است که مهندسان شیمی می‌توانند در آن فعالیت تخصصی داشته باشند.

1. *Rhizopus Oryzae*
2. Molecular Operating Environment
3. Nanoscale Molecular Dynamics

مراجع

[1] Mirizadeh, S., Yaghmaei, S., Ghobadi Nejad, Z., "Biodegradation of cyanide by a new isolated strain under alkaline conditions and optimization by response surface methodology (RSM)". Journal of Environmental Health Science & Engineering 12, 85 (2014).

[2] Petros, J., Lacy, L., Conway, R., "Hazardous and Industrial Solid Waste Testing: Fourth Symposium". West Conshohocken, PA: ASTM International (1985).

[۳] استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۵۳، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب آشامیدنی (۱۳۸۸).

[4] Razanamahandry, L. C., Karoui, H., Andrianisa, H., Yacouba, H., "Bioremediation of soil and water polluted by cyanide: a review". African journal of Environmental Science and Technology (vol. 11) (2017).

[5] Vedula, R. K., Aalal, S., Majumder, C. B., "Bioremoval of cyanide and phenol from industrial wastewater: an update". Bioremediation Journal 17(4), 278–293 (2013).

[6] http://www.environment-lab.ir/environmental-standards, Table-13 (2017).

[7] Gupta, N., Balomajumder, C., Agarwal, V. K., “Enzymatic mechanism and biochemistry for cyanide degradation: a review”. Journal of Hazardous Materials 176(1–3), 1–1 (2010).

[8] Dwivedi, N., Balomajumder, C., Mondal, P., “Application of microorganisms in biodegradation of cyanide from wastewater” (p. 301) (2018).

[9] Figueira, M. M., Ciminelli, V. S. T., Andrade, M. C. De, Linardi, V. R., “Cyanide degradation by an Escherichia coli strain”. Canadian Journal of Microbiology 42(5), 519–523 (1996).

[10] Kunz, D. A., Nagappan, O., Silva-Avalos, J., Delong, G. T., “Utilization of cyanide as nitrogenous substrate by Pseudomonas fluorescens NCIMB 11764: evidence for multiple pathways of metabolic conversion”. Applied and Environmental Microbiology 58(6), 2022–2029 (1992).

[11] Kao, C. M., Liu, J. K., lou, H. R., Lin, C. S., Chen, S. C., “Biotransformation of cyanide to methane and ammonia by Klebsiella oxytoca”. Chemosphere 50(8), 1055–1061 (2003).

[12] Kaewkannetra, P., Imai, T., Garcia-garcia, F. J., Chiu, T. Y., “Cyanide removal from cassava mill wastewater using Azotobactor vinelandii TISTR 1094 with mixed microorganisms in activated sludge treatment system”. Journal of Hazardous Materials 172(1), 224–228 (2009).

[13] Mekuto, L., Ntwampe, S. K. O., Jackson, V., “Biodegradation of free cyanide using Bacillus Sp. Consortium dominated by Bacillus Safensis, Lichenformis & Tequilensis strains: a bioprocess supported solely with whey”. Bioremediation & Biodegradation S:18-004, 1-7 (2013).

[14] Castric, P. A., Strobel, G. A., “Cyanide metabolism by Bacillus megaterium”. The Journal of Biological Chemistry 244: 4089–94 (1969).

[15] Ibrahim, K. K., Syed, M. A., Shukor, M. Y., Ahmad, S. A., “Biological remediation of cyanide: a review”. Biotropia-the Southeast Asian Journal of Tropical Biology 22(2), 151–163 (2016).

[16] Khezri, A., Karimi, A., Yazdian, F., Jokar, M., “Molecular dynamic of curcumin/chitosan interaction using a computational molecular approach: emphasis on biofilm reduction”. International Journal of Biological Macromolecules 114, 972–978 (2018).

[17] Skowronski, B., Strobel, G. A., “Cyanide resistance and cyanide utilisation by a strain of Bacillus pumilus”. Canadian Journal of Microbiology 15: 93–8 (1969).

[18] Frywe, Mills Rl., “Cyanide degradation by an enzyme from Stemphylum loti”. Archives of Biochemistry and Biophysics 161: 468–74 (1972).

[19] Atkinson, A. “Bacterial cyanide detoxification”. Biotechnology and Bioengineering 17: 457–60 (1975).

[20] Basheer, S., Kut, Om., Prenosil, Je., Bourne, Jr., “Kinetics of enzymatic degradation of cyanide”. Biotechnology and Bioengineering 39: 629–34 (1992).

[21] Babu, G., Wolfram, Jh., Chapatwala, Kd., “Conversion of sodium cyanide to carbon dioxide and ammonia by immobilised cells of Pseudomonas putida”. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 9: 235–38 (1992).

[22] Suh, Y., Park, Jm., Yang, J., “Biodegradation of cyanide compounds by Pseudomonas fluorescens immobilised on zeolite”. Journal of Enzyme and Microbial Technology 16: 529–33 (1994).

[23] Shivaraman, N., Parhad, N. M., “Biodegradation of cyanide by Pseudomonas acidovarans and influence of pH and phenol”. Indian Journal of Environmental Health 27: 1–8 (1985).

[24] Figueira, M. M., Ciminelli, V., Andrade, De, Mc, Linardi, Vr., “Cyanide degradation by an Eschericia coli strain”. Canadian Journal of Microbiology 42: 519–23 (1996).

[25] Dumestre, A., Chone, T., Portal, J., Berthelin, J., “Cyanide degradation under alkaline conditions by a strain of Fusarium solani isolated from contaminated soils”. Applied and Environmental Microbiology 63: 2729–34 (1997).

[26] Barclay, M., Hart, A., Knowles, C. J., Meeussen, J. C. L., Tett, V. A., “Biodegradation of metal cyanides by mixed and pure cultures of fungi”. Journal of Enzyme and Microbial Technology 22: 223–31 (1998)

[27] White, D. M., Schnabel, W., “Treatment of cyanide waste in a sequencing batch biofilm reactor”. Water Research 32: 254–7 (1998).

[28] Kowalski, M., Bodzek, M., Bohdziewicz, J., “Biodegradation of phenols and cyanides using membranes with immobilised organisms”. Process Biochemistry 33: 189–97 (1998).

[29] Chapatwala, K. D., Babu, G. R. V., Vijaya, O. K., Kumar, K. P., Wolfram, J. H., “Biodegradation of cyanides, cyanates and thiocyanates to ammonia and carbon dioxide by immobilised cells of Pseudomonas putida”. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 20: 28–33 (1998).

[30] Dursun, A. Y, Alik, A. C., Aksu, Z., “Degradation of ferrous (ii) cyanide complex ion by Pseudomonas fluorescens”. Process Biochemistry 34: 901–8 (1999).

[31] Kaewkannetra, P., Imai, T., Garcia, GFI., Chiu, T. Y., “Cyanide removal from cassava mill wastewater using Azotobacter vinelandii TISTR 1094 with mixed microorganisms in activated sludge treatment

system". Journal of Hazardous Materials 172: 224–8 (2009).

[32] Huub, J. G., Elisabeth, B., Henry, F., "Cyanide toxicity and cyanide degradation in anaerobic wastewater treatment". Water Research 34: 2447–54 (1999).

[33] Patil, Y. B, Paknikar, K. M., "Development of a process for bio detoxification of metal cyanides from wastewaters". Process Biochemistry 35: 1139–51 (2000).

[34] Paixao, M. A, Tavares, C. R. G, Bergamasco, R., Bonifacio, A. L. E., Costa, R. T., "Anaerobic digestion from residue of industrial cassava industrialisation with acidogenic and methanogenic physical separation phases". Applied Biochemistry and Microbiology 84-86: 809–19 (2000).

[35] Annachhatre, A. P., Amornkaew, A., "Toxicity and degradation of cyanide in batch methanogenesis". Environmental Technology 21: 135–45 (2000).

[36] Sorokin, D. Y., Tourova, T. P., Lysenko, A. M., Kuenen, J. G., "Microbial thiocyanate utilisation under highly alkaline conditions". Applied Biochemistry and Microbiology 67: 528–38 (2001).

[37] Plessis, D. U., Barnard, P., Muhlbauer, R. M., Naldrett, K., "Empirical model for the autotrophic biodegradation of thiocyanate in an activated sludge reactor". Letters in Applied Microbiology 32: 103–7 (2001).

[38] Kwon, H., Woo, S., Park, J., "Thiocyanate degradation by Acremonium strictum and inhibition by secondary toxicants". Biotechnology Letters 24: 1347–51 (2002).

[39] Yamasaki, M., Matsushita, Y., Namura, M., Nyunoya, H., Katayama, Y., "Genetic and immunochemical characterization of thiocyanate-degrading bacteria in lakewater", Applied Biochemistry and Microbiology 68: 942–6 (2002).

[40] Akcil, A., Karahan, A. G., Ciftci, H., Sagdic, O., "Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (Pseudomonas sp.)". Minerals Engineering 16: 643–9 (2003).

[41] Ezzi-mufaddal, I., Lynch, J. M., "Biodegradation of cyanide by trichoderma spp. And fusarium spp.". Enzyme and Microbial Technology 36: 849–54 (2005).

[42] Campos, M. G., Pereira, P., Roseiro, J. C., "Packed-bed reactor for the integrated biodegradation of cyanide and formamide by immobilised Fusarium oxysporum CCMI 876 and methylobacterium sp. RXM CCMI 908". Enzyme and Microbial Technology 38: 848–54 (2006).

[43] Kao, C. M., Liu, Jk., Lou, Hr., Lin, Cs., Chen, Sc., "Biotransformation of cynide to methane and ammonia by Klebsiella oxytoca". Chemosphere 50: 1055–61 (2003).

[44] Fatma, G., Hasan, C., Ata, A., "Biodegradation of cyanide containing effluents by Scenedesmus obliquus". Journal of Hazardous Materials 162: 74–9 (2000).

[45] Luque-almagro, Y. M., Blasco, R., Huertas, M. J., Martinezluquem., Moreno-viviac., Castillo,F., Rolda, MD., "Alkaline cyanide biodegradation by Pseudomonas pseudoalcaligenes CECT 5344". Biochemical Society Transactions 33: 168–9 (2005).

[46] Potivichayanon, S., Kitleartpornpairoat, R., "Biodegradation of cyanide by novel cyanide degrading bacterium". World Academy of Science, Engineering and Technology 42: 1362-5 (2010).

[47] Maegala, N. M., Fridelina, S., Abdullatif, I., "Biodegradation of cyanide by Rhodococcus strains isolated in Malaysia". International Conference for Food Engineering and Biotechnology 9: 21–5 (2011).

[48] Maegala, N. M., Fridelina, S., Abdullatif, I., Anthony, E. G., "Cyanide degradation by immobilised cells of Rhodococcus UKMP-5M". Biologia 67(5): 837–44 (2012).

[49] Karamba, K. I., Shukor, M. Y., Syed, M. A., Zulkharnain, A., Yasid, N. A., Khalil, K. A., Ahmad, S. A., "Isolation, screening and characterisation of cyanide degrading Serratia marcescens strain aq07". Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences 8: 401–6 (2015).

[50] Ozel, Y. K., Gedikli, S., Aytar, P., Unal, A., Yamaç, M., Ahmet, C., Kolankaya, N., "New fungal biomasses for cyanide biodegradation". Journal of Bioscience and Bioengineering 110(4), 431–435 (2010).

[51] Huertas, M. J., Sáez, L. P., Roldán, M. D., Luque-almagro, Y. M., Martínez-luque, M., Blascoc, R., Castillo, F., Moreno-vivián, C., Garcia-garcia, I., "Alkaline cyanide degradation by Pseudomonas pseudoalcaligenes CECT5344 in a batch reactor, influence of pH". Journal of Hazardous Materials 179, 72–78 (2010).

[52] Gurbuza, F., Ciftci, H., Akcil, A., Karahan, A. G., "Microbial detoxification of cyanide solutions: a new biotechnological approach using algae". Hydrometallurgy 72, 167–176 (2004).

[53] Environmental and health effects of cyanide, International cyanide management code for the gold mining industry, 888 16th Street, NW, Suite 303, Washington, DC 20006, USA.

[54] Ciminellei, F. M. M., Deandrade, M. C., Linardi, V. R., "Cyanide degradation by an Escherichia coli strain". Canadian Journal of Microbiology 42, 519–523 (1996).

[55] Kunz, D. A., Nagappan, O., Silva-avalos, J., Delong, G. T., "Utilization of cyanide as a nitrogenous substrate by Pseudomonas fluorescens NCIMB

11764: Evidence for Multiple Pathways of Metabolic Conversion". Journal of Applied and Environmental Microbiology 58, 2022–2029 (1992).

[56] Kao, C. M., Liu, J. K., Lou, H. R., Lin, C. S., Chen, S. C., "Biotransformation of cyanide to methane and ammonia by Klebsiella oxytoca". Chemosphere Journal 50, 1055–1061 (2003).

[57] Maniyam, M. N., Sjahrir, F., Latif, I. A. "Biodegradation of Cyanide by Rhodococcus strains Isolated in Malaysia", International Conference on Food Engineering and Biotechnology IPCBEE vol. 9; IACSTI Press: Singapore (2011).

[58] Dash, R. R., Majumder, C. B., kumar, A., "Treatment of Metal Cyanide Bearing Wastewater by Simultaneous Adsorption and Biodegradation (SAB)". Journal of Hazardous Materials 152, 387–396 (2008).

[59] Dash, R. R., Gaur, A., Majumder, C. B., "Removal of Cyanide from Water and Wastewater using Granular Activated Carbon". Chemical Engineering Journal 146, 408–413 (2009).

[60] Barclay, M., Tett, V. A., Knowles, C. J., "Metabolism and Enzymology of Cyanide/Metallo cyanide Biodegradation by Fusarium solani under Neutral and Acidic Condition". Journal of Enzyme and Microbial Technology 23, 321–330 (1998).

[61] Dash, R. R., Balomajumder, C., Kumar, A., "Cyanide Removal by Combined Adsorption and Biodegradation Process". Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering 3, 91–96 (2006).

[62] Fallon, R. D., Cooper, D. A., Speece, R., Henson, M., "Anaerobic biodegradation of Cyanide under Methogenic Conditions". Journal of Applied and Environmental Microbiology 57, 1656–1662 (1991).

[63] Barclay, M., Tett, V. A., Knowles, C. J., "Metabolism and Enzymology of Cyanide/Metallocyanide Biodegradation by Fusarium solani under Neutral and Acidic Condition". Journal of Enzyme and Microbial Technology 23, 321-330 (1998).