

MICROBIOLOGÍA ANAEROBIA

Curso “Diseño y Operación de Sistemas Anaerobios”

Elena Castelló

elenacas@fing.edu.uy

Objetivos de aprendizaje

- Conocer las 4 etapas fundamentales de la cadena de degradación anaerobia de compuestos orgánicos
- Tener la capacidad de incorporar ese conocimiento en el diseño y operación de un reactor anaerobio

INTRODUCCIÓN

1. Ciclo del carbono
2. Reacciones redox y potenciales de óxido reducción
3. Metabolismo microbiano

1. CICLO DEL CARBONO

Estados de oxidación del C de importancia fundamental

CH_4 (metano), forma más reducida (EO: -4)

$(\text{CH}_2\text{O})_n$, fórmula general para el protoplasma (EO: 0)

CO_2 , la forma más oxidada (EO: $+4$)

CICLO DEL CARBONO

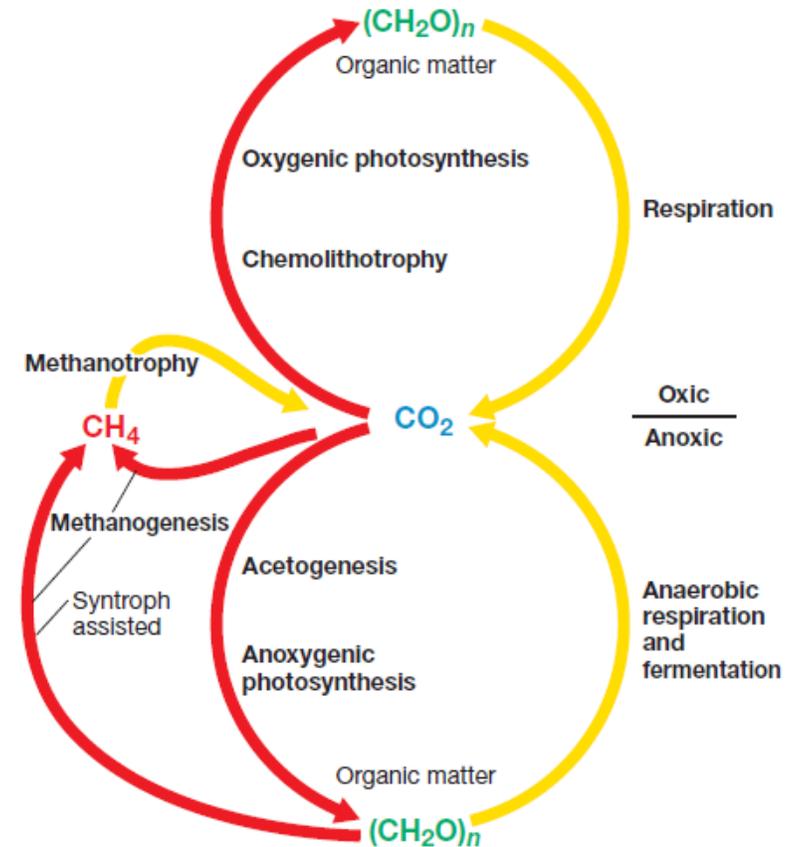
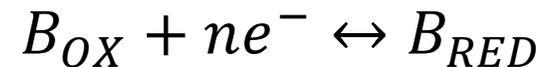


Figure 24.2 Redox cycle for carbon. The diagram contrasts autotrophic processes (CO₂ → organic compounds) and heterotrophic processes (organic compounds → CO₂). Yellow arrows indicate oxidations; red arrows indicate reductions.

Tomada de: Brock *Biology of microorganisms*. 13th edition

2. REACCIONES Y POTENCIALES DE ÓXIDO REDUCCIÓN

Una reacción típica de oxidación-reducción involucra un dador de electrones A_{RED} y un aceptor de electrones B_{OX} .



Las dos reacciones están acopladas a través de la transferencia de e-



2. REACCIONES Y POTENCIALES DE ÓXIDO REDUCCIÓN

El cambio de energía libre de las reacciones redox en general se expresa por medio de parámetros electroquímicos.

$$\Delta G = -nF\Delta E$$

$$\Delta E = \Delta E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[A_{OX}][B_{RED}]}{[B_{OX}][A_{RED}]}$$

$$\Delta E^0 = -\frac{\Delta G^0}{nF}$$

- n= número de electrones transferidos
- F= constante de Faraday (96649 kJ V⁻¹mol⁻¹)
- ΔE⁰ = expresado en V.

2. REACCIONES Y POTENCIALES DE ÓXIDO REDUCCIÓN

Par redox	E°'(V)
CO ₂ /gluc	-0.43
2H ⁺ /H ₂	-0.42
CO ₂ /Metanol	-0.38
CO ₂ /Acetato	-0.28
SO ₄ ²⁻ /H ₂ S	-0.22
Fumarato/Succinato	+0.02
NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻	+0.42
Fe ⁺³ /Fe ⁺²	+0.76
1/2O ₂ /H ₂ O	+0.82

- La sustancia oxidada de la pareja en la parte superior de la torre tiene la tendencia más baja para aceptar electrones.
- La sustancia oxidada de la pareja en la parte inferior tiene la mayor tendencia a aceptarlos.

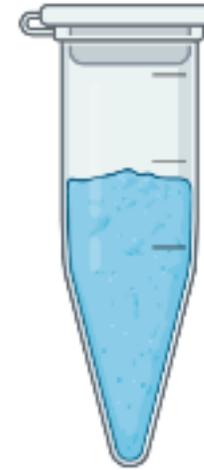
El oxígeno en la parte inferior es el aceptor de electrones más favorable (oxidante poderoso).

2. REACCIONES Y POTENCIALES DE ÓXIDO REDUCCIÓN

DIGESTIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS

Sistema cerrado en la oscuridad

Medio: agua, materia orgánica, nutrientes



Medio

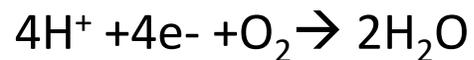
2. REACCIONES Y POTENCIALES DE ÓXIDO REDUCCIÓN

DIGESTIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS

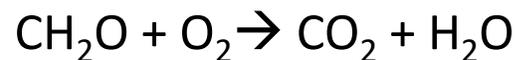
Las bacterias empiezan a degradar la materia orgánica de acuerdo con la siguiente ecuación:



Como la botella contiene oxígeno este será utilizado como aceptor de electrones hasta que se acabe.



La combinación de ambas reacciones da:



2. REACCIONES Y POTENCIALES DE ÓXIDO REDUCCIÓN

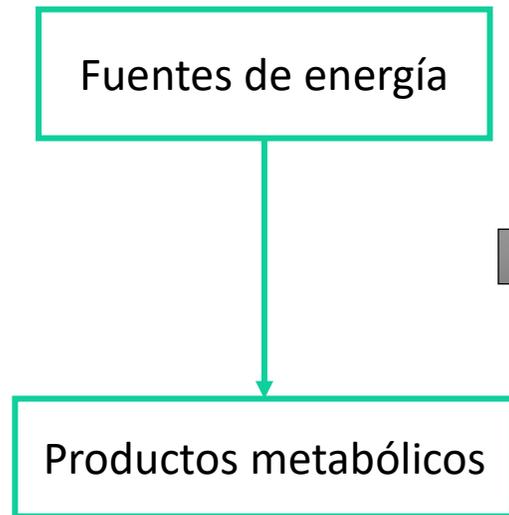
DISTINTOS ACEPTORES FINALES DE ELECTRONES

Reacción	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)
$CH_2O + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$	-117,5
$CH_2O + \frac{4}{5}NO_3^- + \frac{4}{5}H^+ \rightarrow O_2 + \frac{2}{5}N_2 + \frac{7}{5}H_2O$	-112,0
$CH_2O + \frac{1}{2}SO_4^{2-} + \frac{1}{2}H^+ \rightarrow CO_2 + \frac{1}{2}HS^- + H_2O$	-18
$CH_2O \rightarrow CO_2 + \frac{1}{2}CH_4$ ¿?	-16

3. METABOLISMO

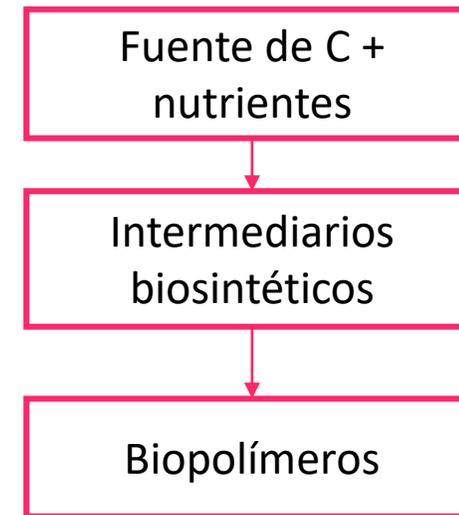
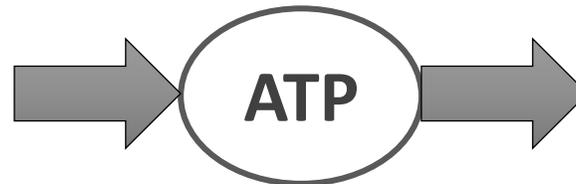
Catabolismo

Generación de energía



Anabolismo

Generación de biomasa



3. METABOLISMO

PROCESOS DE GENERACIÓN DE ENERGÍA

RESPIRACIÓN

Oxidación de un sustrato orgánico o inorgánico

Reducción de otro sustrato en general inorgánico (oxígeno, nitrato, etc.) que es el aceptor de e-

FERMENTACIÓN

Reacciones de OXIDO_REDUCCION de un sustrato orgánico

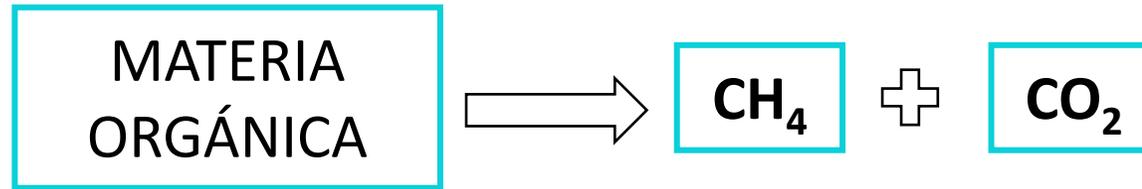
MICROBIOLOGÍA ANAEROBIA



**BIOTECNOLOGÍA
DE PROCESOS
PARA EL AMBIENTE**

INSTITUTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
FACULTAD DE INGENIERÍA
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
MONTEVIDEO - URUGUAY

DIGESTIÓN ANAEROBIA

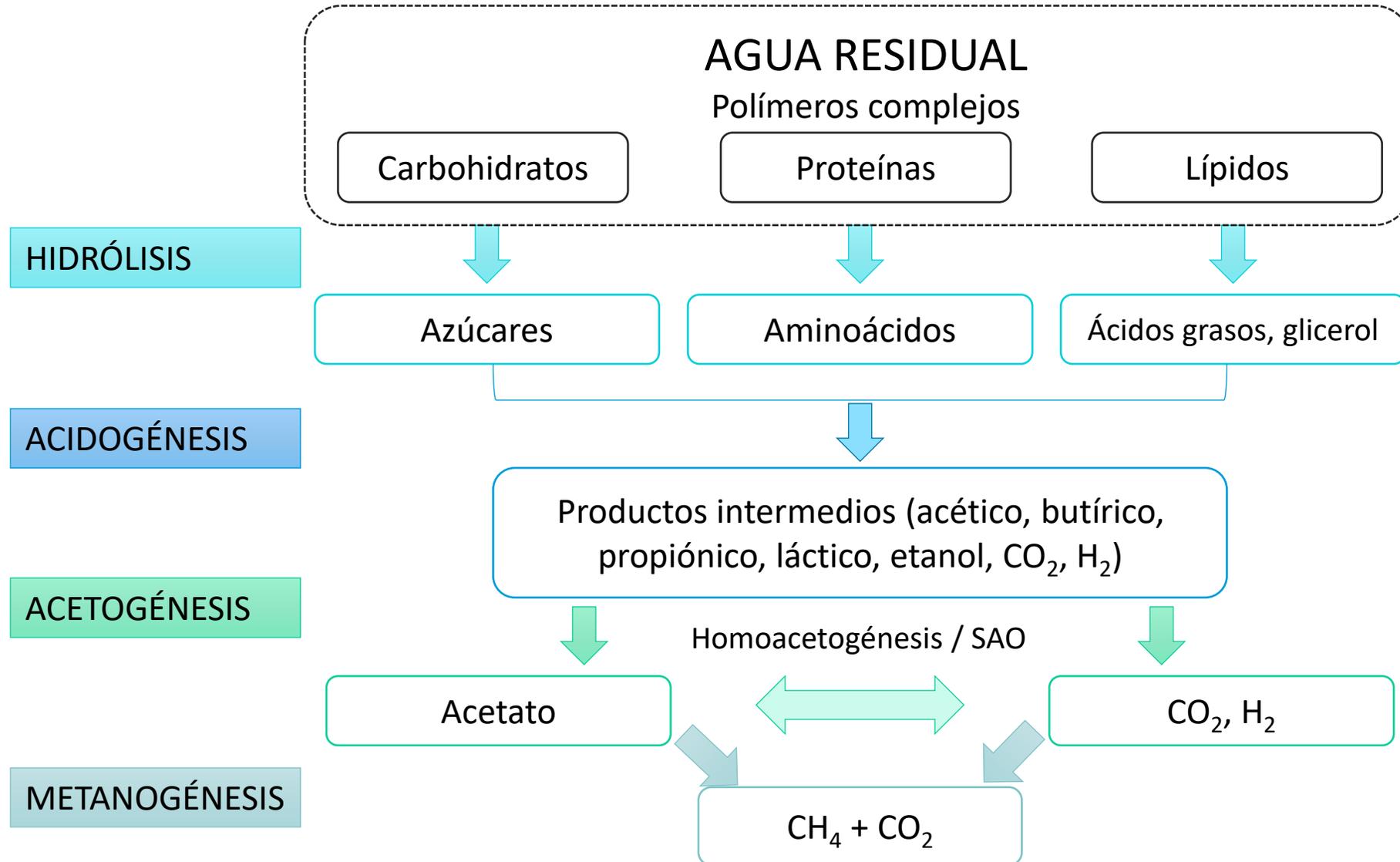


Secuencia de reacciones – Diferentes microorganismos

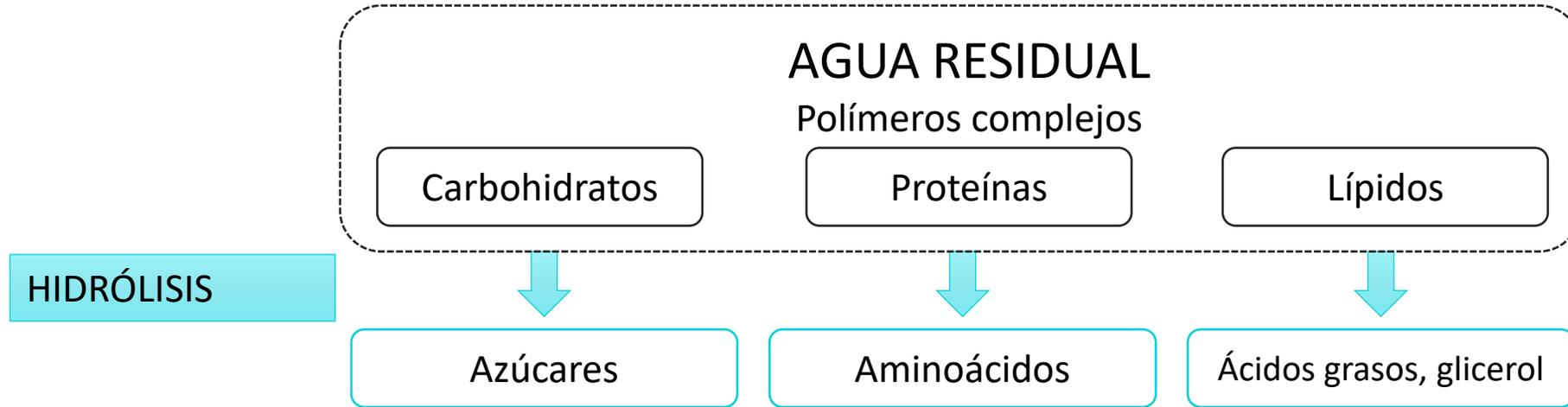
DIGESTIÓN AEROBIA



Cadena de degradación anaerobia

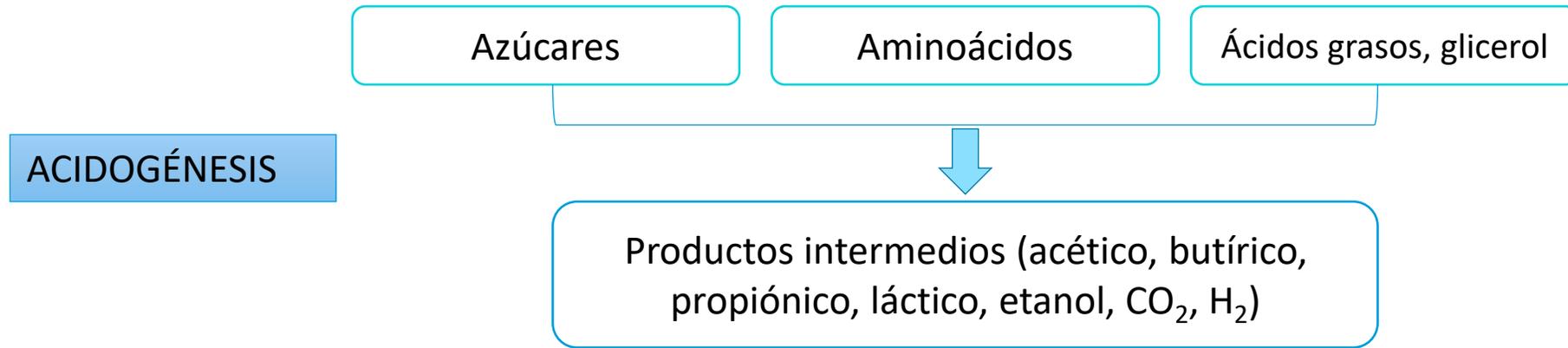


Cadena de degradación anaerobia

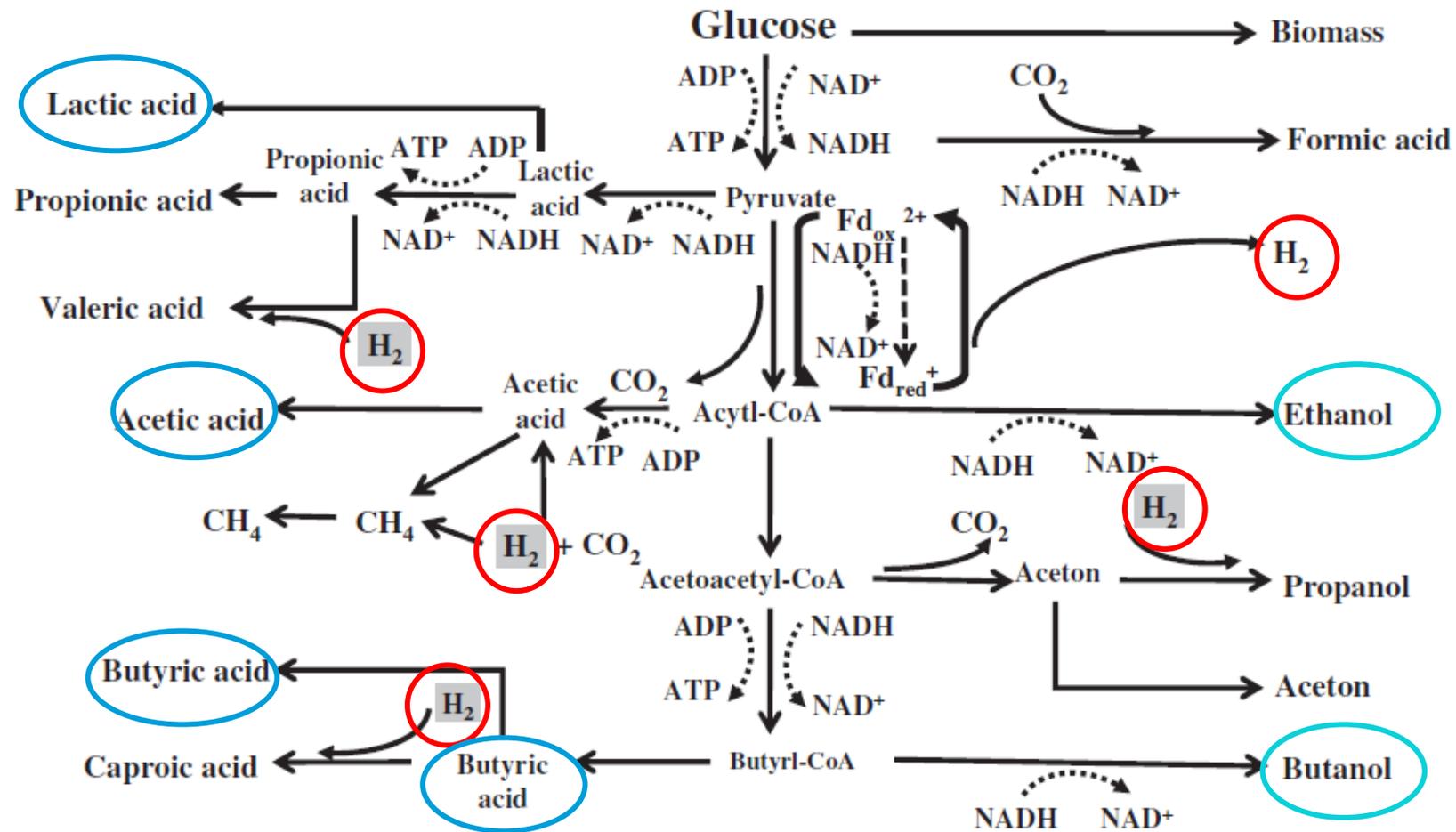


- ❑ Proceso muy dependiente de la temperatura.
- ❑ Dependiendo del sustrato puede ser el paso limitante de todo el proceso y en base al cual se realice el diseño del reactor.

Cadena de degradación anaerobia



- ❑ Es el paso más rápido y termodinámicamente más favorable en la cadena de degradación anaerobia
- ❑ Puede ser llevado a cabo por un gran número de bacterias, en general facultativas



Saady N. (2013) Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation:

REACCIONES ACIDOGÉNICAS

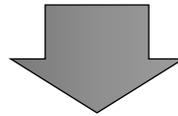
REACCIONES	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)
$C_{12}H_{22}O_{11} + 9H_2O \rightarrow 4CH_3COO^- + 4HCO_3^- + 8H^+ + 8H_2$	-477
$C_{12}H_{22}O_{11} + 5H_2O \rightarrow 4CH_3CH_2CH_2COO^- + 4HCO_3^- + 6H^+ + 4H_2$	-554
$C_{12}H_{22}O_{11} + 3H_2O \rightarrow 2CH_3CH_2COO^- + 2CH_3COO^- + 2HCO_3^- + 6H^+ + 2H_2$	-610

El producto obtenido depende de las condiciones de operación (pH, TRC) y los organismos fermentadores presentes (relevante en reactores exclusivamente fermentadores).

Si el hidrógeno es eficientemente removido del medio por los organismos consumidores de hidrógeno, el acetato será el principal producto obtenido.

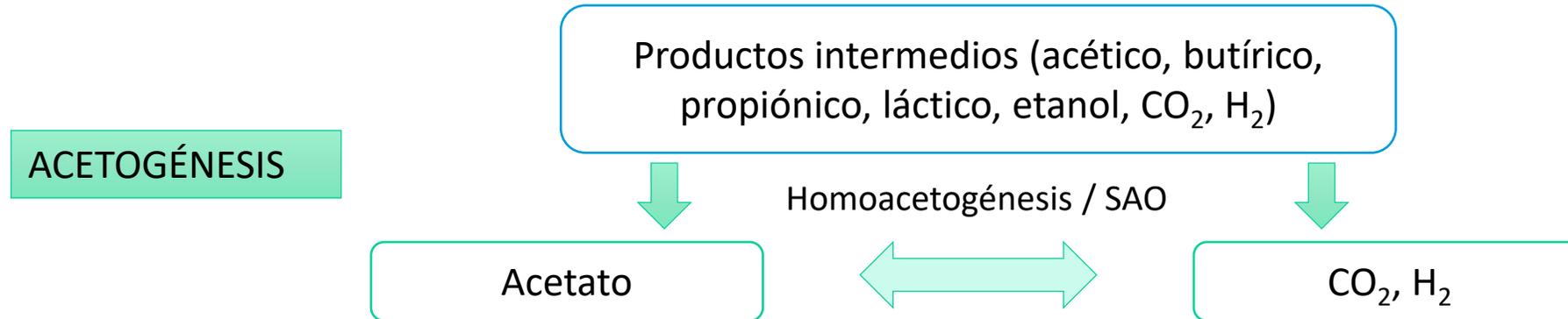
ACIDOGÉNESIS

Si el hidrógeno comienza a acumularse, se producirán productos más reducidos como propionato y butirato y posiblemente lactato y etanol (aún más reducidos)



Por lo tanto los efluente de reactores sobrecargados o reactores únicamente acidogénicos tienden a presentar productos más reducidos.

Cadena de degradación anaerobia



Los sustratos más importantes de las bacterias acetogénicas son el butirato y el propionato y en menor medida el lactato y el etanol.

REACCIONES ACETOGENICAS

Compuesto	Reacción	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)
Lactato	$CH_3CHOHCOO^- + 2H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$	-4,2
Etanol	$CH_3CH_2OH + H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+9,6
Butirato	$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+48,1
Propionato	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76,1
Palmitato	$CH_3(CH_2)_{14}COO^- + 14H_2O \rightarrow 8CH_3COO^- + 7H^+ + 14H_2$	+345,6

REACCIONES ACETOGENICAS

Compuesto	Reacción	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)
Lactato	$CH_3CHOHCOO^- + 2H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$	-4,2
Etanol	$CH_3CH_2OH + H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+9,6
Butirato	$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+48,1
Propionato	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76,1
Palmitato	$CH_3(CH_2)_{14}COO^- + 14H_2O \rightarrow 8CH_3COO^- + 7H^+ + 14H_2$	+345,6

ACETOGÉNESIS_ASPECTOS TERMODINÁMICOS

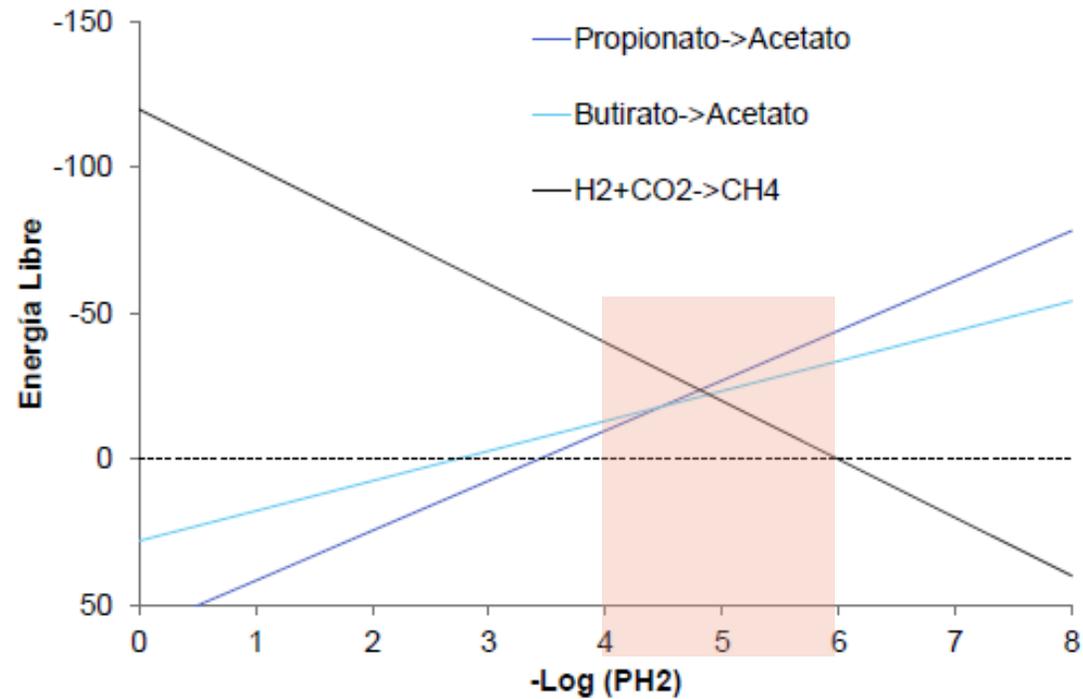
- Las reacciones para el etanol, butirato, propionato, palmitato no ocurrirán en condiciones estándar dado que su energía libre es positiva
- Su metabolismo es inhibido por el hidrógeno como se ve en la siguiente ecuación para el propionato

$$\Delta G' = \Delta G^{0'} + RT \left[\ln \left(\frac{[Acetato][CO_2][H_2]^3}{[Propionato]} \right) \right]$$

ACETOGÉNESIS_ASPECTOS TERMODINÁMICOS

- Si el proceso de digestión anaerobia está estabilizado la presión de hidrógeno se mantiene muy baja
- Las archeas metanogénicas utilizan el hidrógeno molecular y mantienen la presión parcial en el ambiente en niveles suficientemente bajos como para que ocurran las reacciones acetogénicas.

ACETOGENICAS



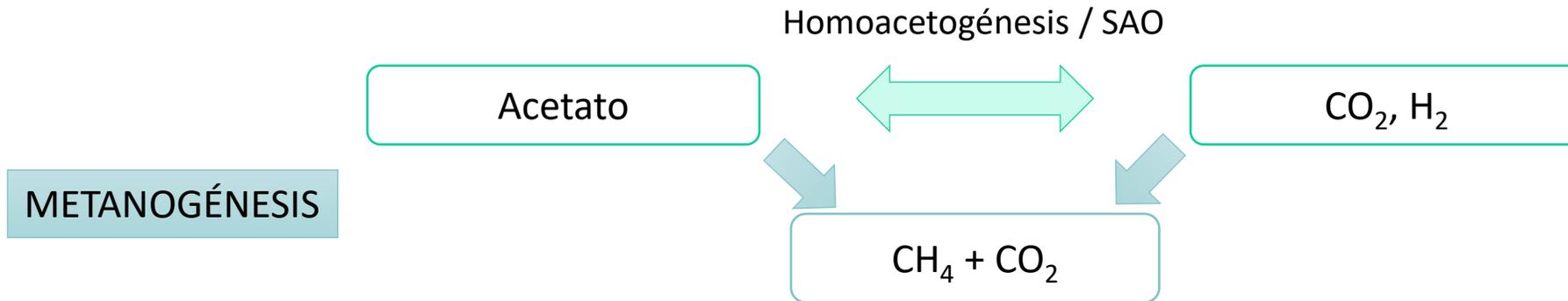
Henze M., van Loosdrecht MCM, Ekama G., Brdjanovic D. (2008) Biological Wastewater Treatment.
IWA Publication

ACETOGÉNESIS

En un reactor funcionando correctamente la presión de hidrógeno se encontrará entre 10^{-4} y 10^{-6} atm. A esa presión las reacciones acetogénicas se vuelven termodinámicamente favorables.

Las asociaciones microbianas en las que la actividad de un grupo de microorganismos depende de la actividad de otro distinto se llaman **asociaciones sintróficas**.

Cadena de degradación anaerobia



Metanogénicas

- Acetotróficas Consumidoras de acetato
- Hidrogenotróficas Consumidoras de hidrógeno

ARQUEAS METANOGENICAS

- ❑ Anaerobias estrictas y crecen solamente a bajos potenciales redox, por debajo de -400mV.
- ❑ Únicas capaces de producir metano
- ❑ Consumen un número limitado de sustratos (H₂, acetato)
- ❑ Utilizan amonio como fuente de nitrógeno, muy pocas especies conocidas fijan el nitrógeno molecular

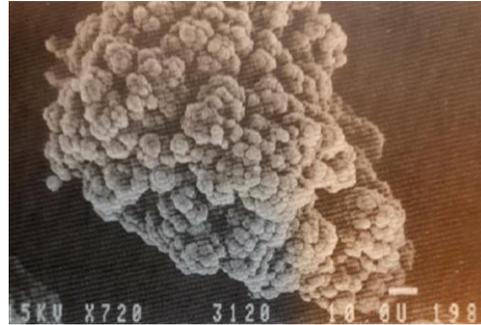
ARQUEAS METANOGENICAS

- ❑ Sensibles a sustancias tóxicas presentes en el sistema (metales pesados, detergentes, etc.)
- ❑ Generadas en el proceso (amoníaco, sulfuro y ácidos grasos volátiles)
- ❑ Presencia de otros aceptores de electrones (NO_3^-) inhiben reversiblemente el proceso de la metanogénesis

ARQUEAS METANOGENICAS

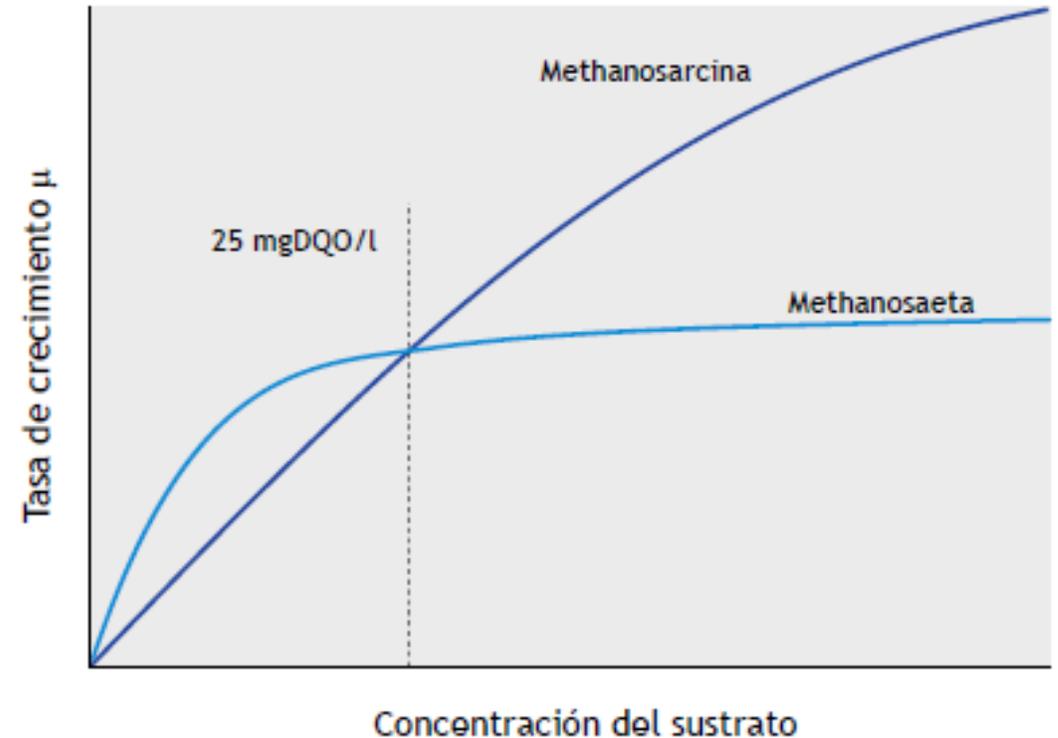
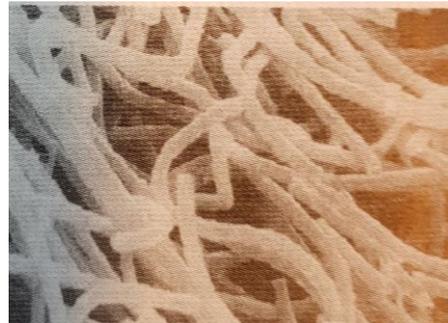
Metanosarcina

Crece en racimos.



Metanosaeta

Filamentos que aparecen en conglomerados tipo "spaghetti".



ASPECTOS CINÉTICOS EN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

Dado que la digestión anaerobia de materia orgánica es un proceso compuesto por muchos pasos que involucran la acción sucesiva de distintas poblaciones microbianas, la velocidad global de conversión del sustrato está determinada por las características cinéticas del paso más lento.

ASPECTOS CINÉTICOS – PASO LIMITANTE

Sustratos difícilmente biodegradables

- El paso de hidrólisis ha sido reportado como el que gobierna la velocidad global de degradación.

Sustratos fácilmente biodegradables

- El paso de acetogénesis y la metanogénesis han sido reportados como los que gobiernan la velocidad global de degradación.

PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN LA FORMACIÓN DE METANO

Temperatura del proceso

Composición del sustrato

pH del líquido

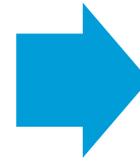
PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN LA FORMACIÓN DE METANO

Composición del sustrato

- Si el sustrato contiene concentraciones altas de otros aceptores de e- (NO_3^- , SO_4^{-2}) estos serán reducidos primero
- El estado de oxidación medio del carbono en la alimentación

pH en el reactor

Una pequeña acidez (6,3-6,6) reduce la actividad de los organismos metanogénicos



Menos ácidos grasos son oxidados y eso provoca una nueva bajada de pH



Probablemente las metanogénicas han sido irreversiblemente dañadas



Al llegar el pH a 4,5 (máx capacidad buffer de los ácidos orgánicos) no se produce más metano.

Objetivos de aprendizaje

- Conocer las 4 etapas fundamentales de la cadena de degradación anaerobia de compuestos orgánicos
- Tener la capacidad de incorporar ese conocimiento en el diseño y operación de un reactor anaerobio

BIBLIOGRAFÍA

- Tratamiento biológico de aguas residuales: Principios, modelación y diseño. By: Carlos M. López Vázquez; Germán Buitrón Méndez; Héctor A. García; Francisco J. Cervantes Carrillo.

Disponible en:

<https://iwaponline.com/ebooks/book/707/Tratamiento-biologico-de-aguas-residuales>

- Brock. Biología de los microorganismos. Michael Madigan et al.

Disponible en: <https://biblo.timbo.org.uy/opac/#fichaResultados>