

REVISION BIBLIOGRAFICA

MICROBIOLOGIA DE LA DIGESTION ANAEROBIA DE AGUAS RESIDUALES.

PARTE II. POBLACIONES MICROBIANAS EN DIGESTORES ANAEROBIOS

C. López y M. del C. Novoa

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de la Habana, Cuba

Recibido: 24 de noviembre de 1988

ABSTRACT. The principal organisms that carried out the anaerobic degradation of organic matter in sediments, muds, soil marsh, rumen etc., are the bacteria. The waste treatment process is a technological improvement of these natural systems and it is essential in the environmental pollution control. So, the aim of the present study was to review the different papers reported in the literature concerned to the trophic levels established in anaerobic digestion process, the physiology of these bacterial groups and the principal aspects in the formation of bacterial aggregates, which is a quite important factor to obtain a high biomass retention in the reactor and therefore a high efficiency in the process.

RESUMEN. Los principales organismos responsables de la degradación anaerobia de materia orgánica en sedimentos, lodos, ciénagas, rumen etc., son las bacterias. Los procesos de tratamiento de aguas residuales son una intensificación tecnológica de estos sistemas naturales y resultan esenciales en el control de la contaminación ambiental. Por tanto, el objetivo del presente estudio consistió en ofrecer una revisión de la literatura existente acerca de los niveles tróficos presentes en los sistemas de digestión anaerobia, la fisiología de estos grupos bacterianos, así como, de los aspectos fundamentales de la formación de agregados bacterianos, siendo éste un factor importante para lograr una mayor retención de biomasa en el reactor y por tanto, una mayor eficiencia en el proceso.

INTRODUCCION

Los agentes biológicos responsables de las transformaciones del material orgánico en los procesos de digestión anaerobia de residuales son las bacterias, aún cuando en ocasiones han sido encontrados diferentes tipos de protozoos anaerobios en digestores. En otros ecosistemas anóxicos como en el rumen, los protozoos pueden llegar a alcanzar hasta un 50 % de la biomasa total¹.

No obstante, se conoce que los organismos eucarióticos no son significativos en los procesos de digestión anaerobia de residuales. En general, tanto en digestores anaerobios de residuales como en procesos naturales (tracto gastrointestinal de animales herbívoros, sedimentos, etc.) existen determinadas propiedades de la población microbiana responsable de la descomposición de la materia orgánica que se mantienen constantes, independientemente del tipo de sistema anaerobio de que se trate. Dichas propiedades se refieren a los niveles tróficos de las poblaciones, al efecto de ciertas propiedades físicas y condiciones químicas en la composición en especies y a sus características fisiológicas.

Teniendo en cuenta que la efectiva digestión de la materia orgánica a metano requiere del metabolismo combinado y coordinado de diferentes tipos de bacterias anaerobias se propuso como objetivo central de este trabajo, ofrecer una revisión de lo reportado en la literatura relacionado con los diferentes niveles tróficos que intervienen en la cadena alimentaria establecida en los procesos de digestión anaerobia, la fisiología de estos grupos, así como, aspectos fundamentales de la formación de agregados bacterianos, fenómenos éste de gran importancia para lograr una mayor retención de biomasa en el reactor y por tanto, una mayor efectividad en el proceso.

Etapas de la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es considerada como un sistema difásico en los cuales intervienen diferentes poblaciones de bacterias. La fase no metanogénica donde una variedad de bacterias anaerobias transforman los sustratos complejos a diferentes productos solubles y gaseosos incluyendo acetatos, CO₂, H₂, etc. y la fase metanogénica donde las bacterias formadoras de CH₄ utilizan el acetato, mezclas de H₂ y CO₂ entre otros sustratos para su metabolismo. Los términos con que se han conocido estas grandes fases (acidificación y gasificación) no son del todo correctos por

cuanto, en la primera etapa no todos los productos que se forman son ácidos así como, que no todos los productos gaseosos son derivados de la llamada etapa de gasificación. Es por esto que más correctamente se deben utilizar los términos de fase no metanogénica y fase metanogénica, considerando en la primera etapa todas las reacciones que tienen lugar desde que comienza la degradación hasta la formación de los compuestos verdaderos precursores del CH₄ y en la segunda, la formación de CH₄ propiamente.²

Los organismos claves en estos procesos son las bacterias anaerobias estrictas que requieren potenciales de oxidación-reducción menores de -150 mV, sin embargo, una pequeña fracción de la población fermentativa es también capaz de utilizar O₂. Se plantea que en general, aproximadamente el 1 % de la población no metanogénica en un digestor está compuesta por bacterias anaerobias facultativas.^{3,4}

A continuación se presentan los géneros fundamentales de bacterias que intervienen en las fases no metanogénicas y metanogénicas respectivamente de acuerdo a lo planteado por diferentes autores.^{2,5,6}

Géneros bacterianos aislados de procesos de digestión anaerobia

Fase no metanogénica:

Aerobios facultativos, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Spirillum*, *Micrococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Sarcina*, *Corynebacterium* y *Aerobacter*.

Anaerobios estrictos, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Veillonella*, *Bifidobacterium*, *Peptococcus*, *Sphaeophorus* y *Desulfovibrio*

Fase metanogénica:

Anaerobios estrictos, *Methanobacterium*, *Metanosarcina*, *Methanococcus*, *Methanospirillum*, *Methanobrevibacter* y *Methanomicrobium*

La determinación de bacterias viables no metanogénicas varía en un rango 10⁸ a 10¹⁰ células/cm³ y dentro de éstas, las anaerobias estrictas tienen un número considerablemente mayor que las anaerobias facultativas. Estas últimas se considera que se encuentran más de tránsito que como componentes biológicos esenciales en el proceso.¹

La determinación de bacterias viables metanogénicas generalmente, varía entre 10⁵ a 10⁸ células/cm³. Dichas bacterias son las

anaerobias más estrictas conocidas y debido a la dificultad que presenta su cultivo algunas de sus características quedan aún por definir.

Al menos cuatro grupos tróficos diferentes de bacterias han sido aislados en digestores anaerobios, pudiendo ser diferenciados sobre la base de los sustratos fermentados y los productos finales formados.⁷⁻¹⁰

Los cuatro grupos tróficos diferenciados son:

Bacterias hidrolíticas. Estas bacterias fermentan una variedad de sustratos que constituyen moléculas orgánicas complejas como polisacáridos, lípidos y proteínas, convirtiéndolos en una amplia gama de productos finales tales como ácidos orgánicos de más de dos átomos de carbono, ácido acético, mezclas de H_2 y CO_2 , compuestos unicarbonados y compuestos neutrales como propanol, butanol, entre otros.

Bacterias acidogénicas. Este grupo está constituido por bacterias que pueden fermentar sales de ácidos orgánicos tales como propionato, butirato y diferentes alcoholes produciendo H_2 y acetatos. Son también conocidas como bacterias acidogénicas productoras de H_2 .

Bacterias acetogénicas. Fermentan una gran variedad de compuestos multicarbonados a ácidos acético consumiendo H_2 . Son también llamadas bacterias homoacetogénicas o reductoras obligadas de protones.

Bacterias metanogénicas. Forman propiamente CH_4 a partir de compuestos unicarbonados como fórmico, metanol o a partir de acetatos y de mezclas de H_2 y CO_2 .

Bacterias hidrolíticas. Su fisiología

Las bacterias hidrolíticas conforman una mezcla muy compleja de muchas bacterias, la mayoría de las cuales son anaerobias estrictas,^{2,11} no obstante, pueden resultar numerosas algunas bacterias anaerobias facultativas tales como *Streptococos* y otros gémenes entericos.

Han sido reportadas poblaciones de 10^8 a 10^9 bacterias hidrolíticas/cm³ de lodo en fango mesófilo^{12,13} y también hay autores que plantean 10^{10} a 10^{11} bacterias hidrolíticas/g de sólidos volátiles.^{12,14,15}

Especies mesófilas anaerobias de los géneros: *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y muchas otras han sido reportadas como organismos predominantes en este nivel trófico.

En ambiente termófilos no se han reportado estudios de enumeración de grupos tróficos específicos, pero en estudios de aislamiento, McBee,¹⁶ reportó como especies predominantes las termófilas anaerobias formadoras de esporas pertenecientes al género *Clostridium*. Ya en 1967, Leedle,¹⁷ tratando residuales vacunos en digestores termófilos encontró como predominantes a bacterias Gram negativas anaerobias no esporuladas, fundamentalmente del género *Thermoanaerobium*.

Las características nutricionales más generales de las bacterias de este grupo trófico en la digestión anaerobia se pueden inferir por las semejanzas que existen con las de otros sistemas ecológicos como el rumen, del cual se tiene una basta información.^{18,19} Esta etapa metabólica es semejante a la que ocurre en el rumen.²⁰

El pH óptimo para la hidrólisis varía de acuerdo al sustrato. Para carbohidratos fácilmente degradables, la hidrólisis procede con una velocidad máxima a pH^{21,22} entre 5,5 y 6,5.

Con determinados sustratos la etapa de hidrólisis puede convertirse en el paso limitante en la degradación del material orgánico, como es el caso de los lípidos, los cuales son hidrolizados muy lentamente y puede resultar limitante en el caso de la digestión de aguas residuales que contiene cantidades considerables de lípidos.²³

Bacterias acidogénicas. Su fisiología

Este grupo trófico de bacterias interviene en los procesos de fermentación de aminoácidos y azúcares y en la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga,¹⁰ estas reacciones de fermentación pueden ser definidas como procesos biológicos que ocurren en los cuales no se incluye la cadena respiratoria con el O_2 o nitratos como receptores de electrones. La propia ausencia de la

cadena respiratoria causa un bajo rendimiento en ATP, consecuentemente la cantidad de biomasa, obtenida por mol de sustrato es mucho más pequeña que con aerobios y además de material celular, se forma una gran cantidad de productos finales.²⁴

La mayoría de las bacterias que conforman este grupo trófico son anaerobias, no obstante una pequeña fracción de este nivel es capaz de utilizar O_2 .

Los productos metabólicos de esta población acidogénica varían en dependencia de las condiciones aplicadas. Por ejemplo, en el caso de la fermentación de la glucosa en un reactor donde se producen ácidos (digestión en dos etapas) los principales productos que se forman son ácido acético, H_2 y CO_2 . Una interrupción en la alimentación por período de 1 a 24 h cambia la formación de productos hacia un incremento en la producción de ácidos propiónico, acético y otros.²⁵

En un reactor similar, los productos de este grupo de bacterias ácido formadoras se ven influidos por el pH. A pH 6, el principal producto de la fermentación de la glucosa es el ácido butírico, pero con incrementos en él los productos que se obtienen cambian, primero hacia la formación de ácido láctico y subsecuentemente, hacia la formación de ácidos acético y fórmico y etanol.²¹

Por otra parte, Breure y Van Andel²⁶ estudiando la hidrólisis de la gelatina en un reactor donde se producían ácidos a valores de pH superiores a 6, observaron la producción de ácidos acético, propiónico, valérico y cantidades similares de otros ácidos grasos volátiles. Sin embargo, valores de pH inferiores a 6, la cantidad relativa de ácido acético decrece e incrementa la cantidad de ácido propiónico.

Los productos metabólicos en esta etapa, también se ven influido por el tiempo de resistencia celular. Se ha comprobado por Pipyn y Verstrete²⁷ que con sacarosa como sustrato, con tiempos de residencia cortos (hasta de 1 d) los principales productos que se forman son el etanol y el ácido láctico, mientras que a mayores tiempos de residencia (entre 3 y 5 d) se produce una mezcla de ácidos grasos volátiles. También se ha planteado por estos autores que la obtención de un determinado producto en mayor cantidad, depende del tipo de sustrato o lo que es lo mismo, del tipo de agua residual que sea tratada.

Otro aspecto que influye en el metabolismo de este nivel trófico, es la eliminación de H_2 del medio. Cuando éste se elimina a través de la acción de bacterias hidrogenotróficas (ya sean metanogénicas, sulforreductoras o denitrificantes) los tipos de productos formados por las bacterias acidogénicas pueden verse influidos significativamente.²⁸

Cuando el H_2 es consumido continuamente por las bacterias hidrogenotróficas, las fermentativas (acidogénicas) son capaces de producir además, compuestos oxidados que no serían capaces de producir a niveles de H_2 mayores. Dichos compuestos suministran más energía por unidad de sustrato a las bacterias de acuerdo con los planteamientos de Wollin^{29,30} y Mah.³¹

El efecto de la eliminación de H_2 por bacterias metanogénicas en los productos formados por otras bacterias, fue primero demostrado durante los estudios con la bacteria no metanogénica aislada de *Methanobacillus omelianskil*. En cultivo puro llamado organismo S, fermenta el piruvato a etanol, ácido acético, CO_2 y solamente trazas de H_2 . En cocultivo con un metanógeno o hidrogenotrófico se forma ácido acético, CO_2 y CH_4 pero no etanol. Este cocultivo³² hace que se mantengan bajas presiones parciales de H_2 .

El ion NH_4^+ es otro producto final en el metabolismo de este nivel trófico y constituye la fuente de nitrógeno para las bacterias metanogénicas.³³

Sin embargo, se ha planteado por Koster y Lettinga^{34,35} que concentraciones de nitrógeno en forma de NH_4^+ por encima de los 700 mg/L inhibe la metanogénesis. Pero por otra parte, en la digestión anaerobia la alcalinidad es principalmente proporcionada por iones NH_4^+ y HCO_3^- . Una reducción en el contenido de NH_4^+ de un digestor, provoca una disminución en la alcalinidad y quizás en el pH, es decir, que el ion NH_4^+ además de ser esencial como nutriente, es importante también por su capacidad amortiguadora.³⁶

Otra de las reacciones que efectúan las bacterias acidogénicas es la oxidación anaerobia de ácidos grasos volátiles de cadena larga, degradación que se efectúa por un mecanismo de β -oxidación.^{37,38}

La única bacteria anaerobia que realiza la β -oxidación de ácidos grasos de cadena larga y que ha podido ser aislada es *Syntrophomonas wolfei*.³⁹

Este mecanismo resulta termodinámicamente desfavorable a menos que la presión parcial de H_2 sea mantenida a muy bajo nivel,⁴⁰ por esta razón, *Syntrophomonas wolfei* no puede ser aislada en cultivos puros sino en cocultivos sintróficos con organismos hidrogenotróficos tales como *Desulfovibrio* sp. o alguna bacteria metanogénica.

Poblaciones de $4,2 \cdot 10^6$ bacterias acidogénicas/cm³ de lodo han sido reportadas por McInerney y colaboradores.⁴¹ Este grupo de bacterias no ha sido identificado de forma general, ni tampoco caracterizado fisiológicamente de forma completa.

En general, no han podido aislarse de forma pura sino en cocultivos con especies que utilizan H_2 . El organismo S aislado de un cultivo mixto de *Methanobacillus omelianskii* es el ejemplo clásico de las bacterias de este nivel trófico. El estudio de dicha asociación sinérgica mostró la necesidad del mantenimiento de bajas presiones parciales de H_2 por la vía de las bacterias hidrogenotróficas.

Bacterias acetogénicas. Su fisiología

Los productos metabólicos de las bacterias acidogénicas son convertidos en sustratos para las bacterias metanogénicas por la actividad de las bacterias acetogénicas constituyentes del tercer nivel o grupo trófico en la secuencia poblacional que ocurre en la digestión anaerobia, siendo el resultado metabólico de este grupo, la formación de acetato y CO_2 .

Participan tanto en las reacciones de oxidación anaerobia de productos intermediarios como en las de conversiones no metanogénicas de ácido acético, metanol e H_2 .

No obstante, el papel exacto de las bacterias acetogénicas no está del todo esclarecido, aún cuando poblaciones de 10^5 a 10^6 /cm³ han sido reportadas.^{42,43} En ambientes termófilos este grupo no ha sido taxonómicamente descrito. Estas bacterias desarrollan un metabolismo mixotrófico catabolizando tanto mezcla de H_2 y CO_2 como compuestos multicarbonados.

En un reactor bien balanceado donde se produce CH_4 la presión parcial de H_2 no debe exceder 10^{-4} atm,⁴⁵ habiéndose detectado en la mayoría de los casos un valor aproximado de 10^{-6} atm.⁴⁶ Tan baja presión parcial de H_2 solamente puede ser mantenida si todo este gas producido es instantánea y efectivamente removido por bacterias consumidoras de él, tan es así que en un reactor efectivo en la producción de metano, una molécula de H_2 sería consumida a los 0,5 s de ser producida, significando esto que dicha molécula pudiera tener una difusión máxima en su desplazamiento menor de 0,1 mm,⁴⁷ lo cual ilustra que la relación simbiótica existente entre las bacterias productoras de H_2 y las consumidoras no es solamente una relación bioquímica sino espacial.^{39,44,48}

En los digestores anaerobios se ha detectado por Braun y col.⁴³ que las bacterias acetogénicas constituyen aproximadamente un 1 % de la población de bacterias metanogénicas hidrogenotróficas. Las bacterias de este nivel trófico tienen una relación competitiva con respecto al H_2 con las bacterias metanogénicas que utilizan este gas.

Hasta el presente han sido descritas las especies de bacterias acetogénicas como cultivo puro siguientes:

Clostridium aceticum,⁴⁹⁻⁵² *Acetobacterium woodii*,⁵³ *Acetogenium kivui*⁵⁴ y *Acetoanaerobium noterae*.⁵⁵

Se ha estudiado otra bacteria morfológicamente diferente, pero con fisiología similar a *Clostridium aceticum*.⁴²

Como se conoce, las bacterias metanogénicas pueden utilizar solamente formato, acetato, metanol y mezclas de H_2 y CO_2 como sustrato⁶ y por tanto, la acción de las bacterias acetogénicas es esencial en la degradación de ácidos orgánicos de más larga cadena a acetatos.⁵⁶ Este autor, ha estimado que el 54 % del acetato e H_2 es formado por la acción de estas bacterias.

Bacterias metanogénicas. Su fisiología

Las bacterias metanogénicas constituyen un grupo especial de bacterias de diferentes formas celulares que obtienen energía para el crecimiento y para la formación de CH_4 , a través de mecanismos aún parcialmente desconocidos.

Morfológicamente constituyen un grupo diverso. Todas son estrictamente anaerobias y tienen la capacidad metabólica común de producir CH_4 .

Estas bacterias están incluidas en el Reino de las *Archaeobacteria*. Este constituye un grupo de bacterias que no tienen muchas de las características básicas celulares que poseen las bacterias normales o eubacterias.⁵⁷

Large⁵⁸ ha señalado algunas diferencias básicas entre las bacterias metanogénicas y las eubacterias. Las diferencias radican principalmente en la constitución de la pared celular (las bacterias metanogénicas no tienen mureína), en la composición lipídica de la membrana así como en las enzimas y portadores de electrones que poseen.

Durante la formación de CH_4 ocurren reacciones bioquímicas en las que se involucra la actividad de factores específicos, éstos son:

La coenzima M (CoM), coenzima específica de las bacterias metanogénicas relacionada con el paso final de la reducción de CO_2 a CH_4 .⁵⁹

El factor F420, coenzima que actúa como portador de electrones incluida en las reacciones del H_2 que ocurren en el sistema de reducción de la CoM.⁶⁰ Este emite fluorescencia en su forma oxidada bajo la luz ultravioleta de acuerdo con lo planteado por Cheesman y colaboradores.⁶¹ Esta propiedad puede ser utilizada tanto para identificar colonias como en el método de determinación de la concentración de la coenzima F420 y estimar indirectamente la biomasa metanogénica en sistemas anaerobios, aunque se ha encontrado que la mejor correlación entre la concentración de la F420 y la producción de gas se obtiene con formato como sustrato, no existiendo casi correlación en experimentos con acetato como sustratos.

El factor F430, compuesto amarillo no fluorescente el cual tiene una estructura tetrapirrólica y contiene níquel,⁶² siendo probablemente el grupo prostético de la CoM.

El factor 432 es una coenzima fluorescente, sin embargo es más bien desconocida.

Las bacterias metanogénicas son filogenéticamente asociadas al grupo de microorganismos más primitivos presentes en el origen de la vida, cuando el ambiente se encontraba en condiciones extremadamente reducidas.

Estas bacterias son capaces de utilizar solamente determinados sustratos. Fueron inicialmente clasificadas por Barker⁶³ como una sola familia, *Methanobacteriaceae*, constituida por 4 géneros: *Methanosarcina* (cocos aislados) y *Methanospirillum* (bacilos en espiral).

Más recientemente, Balch y col.⁶ propusieron una nueva clasificación taxonómica basada en la estructura del RNA ribosomal (16 S). Sin embargo, la metodología taxonómica aún requiere del desarrollo de nuevos criterios. En este sentido, los trabajos de Macario y col.⁶⁴ y Macario y Macario⁶⁵ muestran que puede ser utilizado el método inmunológico para la identificación de bacterias metanogénicas.

En la actualidad, las bacterias metanogénicas aisladas e identificadas suman ya 14 géneros y más de 47 especies.

Entre las especies fundamentales aisladas de procesos de digestión anaerobia de aguas residuales están las siguientes:

Género *Methanobacterium*. Mb. bryantii,⁶ Mb. formicicum,⁶ Mb. thermoautotrophicum,⁶ Mb. wolfei,⁶⁶ Mb. thermocaliphilum,⁶⁷ Mb. thermoggregans⁶⁸ y Mb. alcaliphilum.⁶⁹

Género *Methanobrevibacter*. Mbr. rumantium⁶ y Mbr. smithii.⁶

Género *Methanosphaera*. Msph. stadmaniae.⁷⁰

Género *Methanomicrobium*. Mm. mobile.⁶

Género *Methanospirillum*. Msp. hungatei.⁶

Género *Methanosarcina*. Ms. barkeri,⁷¹ Ms. mazei,⁷² Ms. vacuolata,⁷³ Ms. thermophila⁷⁴ y Ms. acetivorans.⁷⁵

Género *Methanobolus*. Mib. tindarius.⁷⁶

Género *Methanotrix*. Mthr. soehngenii,⁷⁷ Mthr. concilii⁷⁸ y Mthr. thermoacetophila.⁷⁹

Género *Methanoplanus*. Mpl. *limicola*.⁸⁰

Género *Methanocorpusculum*. Mtp. *parvum*.⁸¹

En general, las bacterias metanogénicas se desarrollan en un ambiente en el cual el potencial redox esté alrededor de -300 mV , de acuerdo con McInerney y Bryant.⁴⁸ Sin embargo, la confirmación de que la exposición al aire es letal para las bacterias metanogénicas ha sido cuestionada.

Huser y col.⁷⁷ aislaron un cultivo puro, ***Methanotrix***, el cual después de algunas horas de exposición al O_2 puro creció y produjo CH_4 .

Jarrel⁸² mostró que algunas bacterias metanogénicas no pierden su viabilidad después de algún tiempo de exposición al aire. No obstante, este aspecto varía entre las diferentes especies.

En cuanto a la temperatura, se han descrito dos rangos: de 15 a 40°C para bacterias mesofílicas y de 55 a 65°C para bacterias termofílicas.

De igual forma el rango de pH inicial para el crecimiento y la producción de CH_4 está entre $6,8$ y $7,2$ aunque puede existir variación entre las especies. Los requerimientos nutricionales son simples, el crecimiento bacteriano ocurre en medios que contengan NH_4^+ y S^{2-} o cisteína como fuentes de nitrógeno y azufre respectivamente, ellos pueden utilizar sustratos orgánicos o fuentes de carbono específicas tales como, acetatos, H_2 , CO_2 y formiato. Algunas cepas son autotróficas utilizando solamente CO_2 o CO como fuente de carbono y el crecimiento puede ser estimulado por ciertos compuestos orgánicos que actúan como factores de crecimiento como por ejemplo vitaminas del complejo B, cisteína o inclusive acetatos.

La mayoría de las especies utilizan H_2 y CO_2 . Solamente han sido descritas tres tipos de bacterias metanogénicas que utilizan acetatos, éstas son: ***Methanosarcina* sp.**, ***Methanotrix soehngenii*** y ***Methanosarcina mazel***.

Methanosarcina es el género que puede utilizar acetatos, H_2 , CO_2 metanol y metilaminas.

Methanotrix soehngenii, bacilo descrito por Huser y col.⁷⁷ utiliza solamente acetatos.

En cuanto al formato éste es utilizado por algunos géneros ya sea luego de su conversión a H_2 y CO_2 o directamente.

Las especies que utilizan formato son encontradas en los géneros: ***Methanobacterium***, ***Methanobrevibacter***, ***Methanococcus***, ***Methanomicrobium***, ***Methanogenium*** y ***Methanospirillum***.

Además de los diferentes grupos tróficos descritos anteriormente han sido reportadas poblaciones de 10^4 bacterias reductoras de sulfato por cm^3 de lodo,⁸³ aislándose fundamentalmente especies de los géneros ***Desulfovibrio*** y ***Desulfotomaculum***, observándose que en cultivo de laboratorio estas bacterias tienen un metabolismo competitivo con respecto al H_2 con las bacterias metanogénicas y en exceso de sulfatos tienden a desviar el metabolismo hacia la formación de H_2S principalmente en vez de producirse CH_4 .⁸⁴

Como se puede apreciar, las interacciones metabólicas entre las especies metanogénicas y no metanogénicas resultan aspectos de gran importancia en los procesos de digestión anaerobia de aguas residuales. Dentro de todos los grupos bacterianos que intervienen, las bacterias metanogénicas son consideradas esencialmente las biorreguladoras del proceso,⁷ dicha regulación está dada por las funciones siguientes:

Regulación de protones. Representada por la vía del catabolismo del ácido acético, eliminándose protones tóxicos y asegurando un pH adecuado para el crecimiento de las especies representativas de todos los grupos tróficos que intervienen.

Regulación de electrones. Representada por la vía de la utilización del H_2 lo cual resulta significativo desde el punto de vista de la obtención de condiciones termodinámicamente favorable para el catabolismo de compuestos multicarbonados.

Regulación por los nutrientes. Representada por la síntesis y excreción de factores de crecimiento orgánicos por ciertas bacterias metanogénicas, los cuales son necesarios

para el crecimiento de las especies representativas de los niveles tróficos. Se ha podido comprobar la excreción de vitaminas^{85,86} y aminoácidos^{86,87} durante el crecimiento de algunas bacterias metanogénicas.

Formación de agregados bacterianos en sistemas anaerobios

En los sistemas de aguas residuales por digestión anaerobia resulta muy conveniente tratar de lograr una mayor retención de la biomasa en el reactor a fin de obtener una mayor efectividad en la producción de CH_4 . Se ha planteado, que esto es posible lograrlo con la introducción en la práctica del fenómeno de la granulación del lodo.

El fenómeno de formación de agregados bacterianos ha sido nombrado de diferentes formas: floculación microbiana, peletización y granulación.

La floculación microbiana ha sido investigada debido a su importancia en la optimización de proceso bioquímicos, tales como la floculación de levaduras en la formación alcohólica, la floculación bacteriana en sistemas de lodos activados y otros. Los mecanismos que la originan pueden estar relacionados con las disponibilidades de nutrientes en el medio para el crecimiento de microorganismos como es el caso de la formación de flóculos de lodo activado al encontrarse las bacterias en fase de metabolismo endógeno.

De acuerdo con Atkinson y Daouch,⁸⁸ los mecanismos de agregación celular no están completamente establecidos. No obstante, resulta importante la realización de estudios relacionados con la composición y estructura de la pared celular, factores genéticos, condiciones nutricionales y velocidad de crecimiento a fin de dar explicación a las causas de floculación o formación de agregados. La presencia de partículas inertes como granos de arena o compuestos como el carbono y el Fe son considerados como factores físicos y químicos respectivamente que están involucrados en la agregación microbiana.

Estudios recientes con reactores anaerobios que forman lodo granulado ha promovido muchas investigaciones a fin de establecer el mecanismo responsable de este fenómeno, el cual es de gran importancia para la retención de la biomasa en el reactor. Por otra parte, esta granulación o agregación bacteriana manifiesta no estar relacionada con la floculación biológica o con algún otro fenómeno similar.

Los resultados presentados por Hutshoff Pol y col.⁸⁹ muestran la granulación en reactores de flujo ascendente. Básicamente, fueron obtenidos dos tipos de gránulos, uno consistente de bacterias tipo bacilar y otros de bacterias en forma de cocos.

Hutshoff Pol y col.⁹⁰ también describen la formación de cuatro tipos diferentes de gránulos cuyas formas y tipos de bacterias varían con el sustrato utilizado y las condiciones del proceso utilizado.

Methanotrix soehngenii y ***Methanosarcina barkeri*** fueron los dos géneros presentes en estos gránulos.

Brummeler y col.⁹¹ encontraron gránulos con diferentes sustratos en reactores anaerobios de flujo ascendente, que estaban formados por bacterias similares a las antes mencionadas.

Además, la cantidad de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el lodo granular fue considerable. La actividad específica fue de $2,2\text{ g CH}_4\text{ DQO/g SSV/d}$ y el tamaño de los gránulos estaba en el rango de 1 a 5 mm .

Novaes y col.⁹² aislaron muestras de lodo granular originadas de residuales de cervecera, encontrando una bacteria acetoclástica cuyas características morfológicas recuerdan a ***Methanotrix***. En ese mismo trabajo, ellos observaron que los gránulos formados estaban constituidos casi solamente por bacterias metanogénicas.

Analizando la formación de lodo granular en un biodigestor tratando residual doméstico Vieira⁹³ y Novaes y Rech⁹⁴ establecieron que los gránulos formados en un período de cuatro meses alcanzaron un tamaño máximo de 4 mm . Aislamiento de bacterias presentes en estos gránulos resultaron de un solo género, siendo éste el género ***Methanobacterium*** que utiliza formato y mezclas de H_2 y CO_2 como fuente de carbono.

Los análisis químicos de estos gránulos mostraron cantidades de Fe con valores considerados elevados si se comparan con la cantidad de Fe presente en lodos anaerobios.

La participación de otros grupos de bacterias en los gránulos tales como bacterias no metanogénicas no ha sido establecido como tal.

El desarrollo de estas investigaciones explicaría el fenómeno de la granulación de bacterias metanogénicas en reactores de flujo ascendente y resultan importante por la necesidad de optimizar la arrancada de estos procesos.

CONCLUSIONES

La digestión anaerobia de la materia orgánica a CH_4 es un proceso estable cuando se efectúa bajo condiciones ambientales definidas debido a las actividades catabólicas de una amplia población de bacterias anaerobias.

La diversidad poblacional está reflejada en los requerimientos fisiológicos para su crecimiento adecuado en varias fuentes de energía.

La estabilidad poblacional está reflejada en las interacciones entre las especies que proporcionan condiciones óptimas para el metabolismo anaerobio incluyendo el suministro de nutrientes esenciales y la eliminación de metabolitos inhibitorios.

El CH_4 , producto final reducido en los procesos de digestión anaerobia de aguas residuales es el resultado final de la fermentación bacteriana que resulta catabólicamente inerte en ausencia de O_2 .

BIBLIOGRAFIA

- Grant W.D. and Long P.E. Environmental Microbiology. Chapter 9: The biological treatment of waste. Blackie & Son Limited, Scotland, 1981.
- Toerien D.F. and Hattingh W.H. *Water Research*, **3**, 385, 1969.
- Toerien D.F. *Water Research*, **1**, 55, 1967.
- Toerien D.F. *Water Research*, **3**, 385, 1967.
- Curds C.R. and Hawkes H.A. (ed) Ecological Aspects of used water treatment. Vol. 1: The organisms and their ecology. Academic Press, New York, 1975.
- Balch E., Fox G.E., Magrum L., Woese C.R. and Wolfe R.S. *Microbiological Review* **43**, 260, 1979.
- Zeikus J.G. Microbiological Population in Digesters in: First Int. Symp. on Anaerobic Digestion. Stafford D.A. (ed.), A.D. Scientific Press, Gardiff 75, 1980.
- McInerney M.J., Bryant M.P. and Stafford D.A. Metabolic stages and energetics of microbial anaerobic digestion in: Anaerobic Digestion. Applied Science Publishers LTD, London, 1980.
- Bull M.A., Sterritt R.M. and Lester J.N. *Chem. Eng. Res. Des.*, **62**, 203, 1984.
- Koster I.W. Microbiological, Chemical and Technological aspects of organic pollutants in: Biotechnology Appl. to Environm. Problems, D.L. Wise (ed), CRS Press, Inc., Boca Raton, USA, 1985.
- Hobson P.N., Bousfield S. and Summers S. *CRS Crit. Rev. Environm. Control*, **4**, 131, 1974.
- Toerien D.F. and Siebert M.F. *Water Research*, **1**, 397, 1967.
- Mah R.A. and Sussman L. *Appl. Microbiol.*, **16**, 358, 1967.
- Kotze J.P., Thiel P.G., Toerien D.F., Hattingh W.H. and Siebert M.L. *Water Research*, **2**, 198, 1968.
- Kirsch E.J. *Dev. Ind. Microbiol.*, **10**, 170, 1969.
- McBee R.H. *Bacteriol. Rev.*, **14**, 51, 1951.
- Leedle R.A. M.S. Thesis, University of Illinois, 1967.
- Bryant M.P. *Federation Proc.*, **32**, 1 809, 1973.
- Bryant M.P. *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**, 1 313, 1974.
- Hungate R.E. The rumen and its microbes. London-New York. Academic Press, New York, 1966.
- Zoetemeyer R.J. Ph.D. Thesis, University of Amsterdam, Amsterdam, 1982.
- Zoetemeyer R.J. and Van Den Heuvel J.C. *Water Research*, **16**, 303, 1982.
- Henze M. and Harremoës P. *Water Science and Technology*, **15**, 1, 1983.
- Gottschalk G. Bacterial Metabolism, Springer-Verlag, New York, 1979.
- Cohen A. Ph.D. Thesis, University of Amsterdam, 1982.
- Breure A.M. and Van Andel J.G. *Appl. Microbiol. and Biotechnology*, **20**, 40, 1984.
- Pipyn P. and Verstrete W. *Biotechnol. and Bioengineering*, **23**, 1 145, 1981.
- Wolin M.J. and Miller T.L. *ASM News*, **48**, 561, 1982.
- Wolin M.J. Interactions between H_2 -producing and CH_4 producing species in: Microbial formation and utilization of gases. Schlegel H.G., Gottschalk G. and Pfennig N., (ed), E. Galtze, K.G. Gottingen, W. Germany, 141, 1976.
- Wolin M.J. *Advances in Microbial Ecology*, **3**, 49, 1979.
- Mah R.A. Interactions of methanogens and non-methanogens in microbial ecosystems in: Proceedings Third International Sym. on Anaerobic Digestion, Wentworth R.L. (ed), Cambridge, Massachusetts, 13, 1983.
- Reddy C.A., Bryant M.P. and Wolin M.J. *J. of Bacteriol.* **109**, 539, 1972.
- Kenealy W.R., Thompson T.E., Schubert K.R. and Zeikus J.G. *Journal of Bacteriol.*, **150**, 1 357, 1982.
- Koster I.W. and Lettinga G. Ammonium-toxicity in anaerobic digestion in: Proceedings of the European Sym. Anaerobic Waste Water Treatment., Van der Brink W.J. (ed), TNO Corporate Communication Dept. The Hague, 553, 1983.
- Koster I.W. and Lettinga G. *Agricultural Wastes*, **9**, 205, 1984.
- Kotze J.P., Thiel P.G. and Hattingh W.H. *Water Research*, **3**, 459, 1969.
- Jerris J.S. and McCarty P.L. *J. of the Water Poll. Control Fed.*, **37**, 178, 1965.
- Weng C.N. and Jerris J.S. *Water Research*, **10**, 9, 1976.
- McInerney M.J., Bryant M.P., Hespell R.B. and Costerton J.W. *Appl. Environm. Microbiol.*, **41**, 1 029, 1981.
- Hanaki K., Matsuo T. and Nagase M. *Biotechnol. and Bioengineering*, **23**, 1 591, 1981.
- McInerney M.J., Bryant M.P. and Pfennig H. *Abstract Proc. Amer. Soc. Microbiol.*, **182**, 94, 1978.
- Ohwake K. and Hungate R.E. *Appl. Environm. Microbiol.*, **33**, 1 270, 1977.
- Braun M., Choberth S. and Gottschalk G. *Arc. Microbiol.*, **120**, 201, 1979.
- McInerney M.J., Bryant M.P. and Pfennig H. *Arch. of Microbiol.*, **122**, 129, 1979.
- Zehnder A.J.B. Ecology of methane formation in: Water Pollution Microbiology, Vol. 2, Mitchell R., (ed), Wiley & Sons, New York, 1978.
- Zehnder A.J.B., Inguorsen K. and Marti T. Microbiology of CH_4 bacteria in: Anaerobic Digestion., Hughes D.E., Stafford D.A., Wheatley B.L., Baader W., Lettinga G., Nyns E.J., Verstraete W., Wentworth R.L. (ed), 45, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1982.
- Gujer W. and Zehnder A.J.B. *Water Sci. and Technology*, **15**, 127, 1983.
- McInerney M.J. and Bryant M.P. Review of CH_4 fermentation fundamentals. Fuel Gas Production from Biomass, ed: Donald L. Wise Ph.D. 1, 19, 1981.
- Wieringa K.T. Antonie van Leeuwenhoek. *Journal of Microbiology & Serology*, **6**, 251, 1940.
- Karlsson J.L., Volcani B.E. and Barker H.A. *Journal of Bacteriol.* **56**, 781, 1948.
- Adamse A.D., Antonie van Leeuwenhoek. *Journal of Microbiol. & Serology*, **46**, 523, 1980.
- Braun M., Mayer F. and Gottschalk G. *Archives of Microbiol.*, **128**, 288, 1981.
- Balch W.E., Schoberth S., Tanner R.E. and Wolfe R.S. *Int. J. of Systematic Bacteriol.*, **27**, 355, 1977.
- Leigh J.A., Mayer F. and Wolfe R.S. *Archives of Microbiol.*, **129**, 275, 1981.
- Sleat R., Mah R.A. and Robinson R. *Int. J. Systematic Bacteriol.*, **35**, 10, 1985.
- Kaspar H.F. and Wuhrmann K. *Appl. Environm. Microbiol.*, **36**, 1, 1978.
- Woese C.R. *Scientific American*, **244**, 94, 1981.
- Large P.J. Tehyllotrophy and Methanogenesis, Aspects of Microbiology, Cole J.A., Knowles C.J., Schlessinger D., (ed), 8, 89, 1982.
- Taylor C.D. and Wolfe R.S. *J. Biol. Chem.*, **249**, 4 879, 1974.

60. Wolfe R.S. Microbial formation of methane in: *Advances in Microbiological Physiology*, Rose A.H., Wilkinson J.F., (ed), Vol. 6, 107, Academic Press Inc., New York, 1971.
61. Cheeseman P., Toms-Wood A. and Wolfe R.S. *J. Bacteriol.*, **112**, 527, 1972.
62. Thaver R.K. Nickel tetrapyrroles in methanogenic bacteria: Structure, function and biosynthesis in: *Anaerobic Digestion, Proceedings of the Second International Sym.*, Hughes R. (ed), 37, Travemunde, RFA, 1981.
63. Barker H.A. *Arch. Microbiol.*, **7**, 420, 1936.
64. Macario E.C., Wollin M.J. and Macario A.J.L. *J. Bacteriol.*, **149**, 316, 1982.
65. Macario E.C. and Macario A.J.L. Immunologic probes for identification of methanogenic bacteria in anaerobic digestors in: *Proceedings of Sym. Anaerobic Digestion, China*, 1985.
66. Winter J., Lerp C., Zabel H.P., Wildemaver F.X., Koning H. and Schindler F. *System Appl. Microbiol.*, **5**, 457, 1984.
67. Blotevogel K.H., Fisher V., Mocha M. and Jammsem S. *Arch. of Microbiol.*, **142**, 211, 1985.
68. Blotevogels K.H. and Fisher V. *Arch. Microbiol.*, **142**, 218, 1985.
69. Worakit S., Boone D.R., Mah R.A., Abdel S.M. and Halwagi M. *International J. of Systematic Bacteriol.*, **36**, 380, 1986.
70. Miller T.L. and Wolin M.J. *Arch. Microbiology*, **141**, 116, 1985.
71. Bryant M.P. Part 13. Methane-producing bacteria, 472, in: *Bergey's Manual of Determinative bacteriol.*, Buchanan R.E. and Gibbons N.E. (ed), 8th. ed. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1974.
72. Mah R.A. and Kihhn D.A. *Int. J. Systematic Bacteriol.*, **34**, 263, 1984.
73. Zhilina T.N. and Zavarzin G.A. *Mikrobiologiya*, **48**, 279, 1979.
74. Zinder S.H., Sowers K.R. and Ferry J.G. *Int. J. Systematic Bacteriol.*, **35**, 522, 1985.
75. Sowers K.R., Baron S.F. and Ferry J.G. *Appl. Environm. Microbiol.*, **47**, 971, 1984.
76. Koning H. and Stetter K.O. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. C3*, 478, 1982.
77. Huser B.A., Wuhrmann K. and Zehnder A.J.B. *Arch. Microbiol.*, **132**, 1, 1982.
78. Patel G.B. *Can. J. Microbiol.*, **30**, 1 383, 1984.
79. Nozhevnikona A.N. and Chudina V.I. *Mikrobiologiya*, **53**, 5, 756, 1983.
80. Wildgruber G., Thomm M., Koning H., Ober K., Richiuto T., Stetter K.O. *Arch. Microbiol.*, **132**, 31, 1982.
81. Zeliner G., Alten C., Stackedbrandt E., Conway E. and Winter J. *Arch. Microbiol.*, **147**, 13, 1987.
82. Jarrel K.F. *Bioscience* **35**, 298, 1985.
83. Toerien D.F., Thiel P. and Hattingh W.H. *Water Research*, **2**, 505, 1968.
84. Bryant M.P., Campbell L.C., Reddy C. and Crabill M. *Appl. Environm. Microbiol.*, **33**, 1 162, 1972.
85. Mah R.A., Smith M.R. and Baresi L. *Appl. Environm. Microbiol.*, **35**, 1 174, 1978.
86. Baresi L., Mah R.A. Ward D. and Kaplan I.R. *Appl. Environm. Microbiol.*, **36**, 186, 1978.
87. Zehnder A.J.B. and Wuhrmann K. *Arch. Microbiol.*, **111**, 119, 1977.
88. Atkinson B. and Daouch I.S. *Adv. Biochem. Eng.*, **4**, 41, 1976.
89. Hutshoff Pol., Zeeuw W.J., Dolfig J. and Lettinga G. Start-up and sludge granulation in UASb reactors. *Proceedings of the European Sym. Netherlands Biotechnological Society-NBV/ Netherlands, Organization for Applied Scientific Research. TNO Noordwijkerhout, Netherlands*, 40, 1983.
90. Hutshoff Pol, L.W., Zeeuw W.J., Velzeboer C.T. and Lettinga G. *Water Science Technology*, **15**, 291, 1983.
91. Brummeler E.T., Hulshoff Pol., L.W., Dolfig J., Lettinga G. and Zehnder A.J.B. *Appl. Environm. Microbiol.*, **49**, 1472, 1985.
92. Novaes R.F.V., Machado S.P. and Souza M. Estudos sobre o granulacao bacteriana em biodigestores de fluxo ascendente. *Resumo de trabalho Sociedade Brasileira de Microbiologia. In: Simposio Nacional de Fermentacao SWAFERM 6, Ceara, Brasil*, 1984.
93. Vieira S.M.M. *Revista DAE*, **44**, 322, 1984.
94. Novaes R.F.V. y Rech C.M. Estudos sobreagranulacao bacteriana em biodigestores de fluxo ascendente. *Resumo de trabalho Sociedades Brasileira de Microbiologia. In: Simposio Nacional de Fermentacao SWAFERM 6, Ceara, Brasil*, 1986.

■■■■ MACROAISLADOR ■■■■

Este equipo ha sido diseñado para crear una zona de trabajo, de ambiente controlado, por medio de filtros bacteriológicos. Puede ser utilizado en el desarrollo de animales apropiados para la investigación en la esfera biológica, en el tratamiento y atención de humanos recién nacidos con inmunodeficiencias congénitas, en procesos quirúrgicos, durante el transporte y cuidado de enfermos con diferentes patologías, así como para aislar pacientes que sufren de enfermedades infecto-contagiosas, etcétera.

DATOS TECNICOS

- Dimensiones: (2,4 X 1,4 X 1) m
- Voltaje del inyector: 110 / 220 V (CA)
- Frecuencia: 60 Hz
- Consumo: 200 W

Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Avenida 25 y calle 158, Cubanacán, Playa
Ciudad de La Habana, Cuba
Apartados Postales 6880 y 6990
Teléfono: 21 8066 Télex: 51 1582 CNIC CU

PRODUCIDO Y EXPORTADO POR:
PRODUCED AND EXPORTED BY:

