

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



TITULO

**DESARROLLO DE UNA BIOPELÍCULA ANAEROBIA ENRIQUECIDA CON
BACTERIAS METILAMINOGENICAS**

**Tesis de Magister presentada a la Escuela de Graduados de la Universidad de Concepción,
para optar al grado de Magister en Ciencias, mención Microbiología.**

Por

PAZ ALEJANDRA JOPIA CONTRERAS

2007

RESUMEN

Los residuos industriales líquidos (RILES) pesqueros se caracterizan por presentar una alta carga proteica y de sulfatos, condición que estimula la actividad de bacterias proteolíticas y reductoras de sulfatos, durante el proceso de digestión anaerobia. La actividad de ambos grupos bacterianos disminuye la eficiencia del proceso, debido a que estos productos metabólicos, NH_3 y H_2S , respectivamente, tienen un reconocido efecto inhibitorio sobre el proceso metanogénico. Se han desarrollado biopelículas anaerobias sobre cerámica, que limitan la retención de bacterias reductoras de sulfato (BRS) y favorecen la adherencia de arqueas metanogénicas metilaminotróficas (APMm). La metilamina es una fuente de carbono ampliamente usada por APMm pero no por BRS, entonces se postula que para aumentar la eficiencia de un reactor anaerobio en biopelícula, mejorando la producción de metano y la capacidad degradativa, se deben producir aminas metiladas en la biopelícula, usando betaína como precursor. Esta condición puede ser asegurada si junto a la comunidad metanogénica, se inoculan bacterias metilaminogénicas betainotróficas (BMg(b)).

En este trabajo se aisló e identificó (DGGE, clonamiento y secuenciación) una cepa BMg(b) anaerobia. En sistema discontinuo, se estudió la estructura de la biopelícula BMg(b) (sobre soportes de cerámica) y los parámetros cinéticos de crecimiento según el Modelo de Gompertz (velocidad específica máxima de crecimiento μ_{\max} ; máxima biomasa adherida A) y la producción de monometilamina. Se diseñaron biopelículas en cocultivos microbianos (en discontinuo), mezclando la cepa BMg(b) aislada y una cepa metanogénica (APMm), como biopelículas mixtas (ambas cepas inoculadas al mismo tiempo, $BMg(b) + APMm$), y biopelículas desarrolladas de forma secuencial o

acopladas (inoculando una cepa y luego la otra; *BMg(b)/APMm*, *APMm/BMg(b)*), evaluándose el efecto de las biopelículas desarrolladas en la producción de monometilaminas y metano en el tiempo. Como resultado, se obtuvo el aislamiento de una cepa metilaminogénica *BMg(b)*, que produjo monometilamina al formar biopelículas sobre cerámica. Esta cepa es un bacilo gram negativo, no fermentador de glucosa, catalasa y oxidasa positivo, perteneciente al Phylum *Proteobacteria* (API 20NE). El análisis molecular (hibridación por Dot-blott) determinó que la cepa pertenece a la Clase *Alphaproteobacteria*, y según secuenciación del ADNr 16S fue identificada como *Stappia aggregata*. El modelo de crecimiento de Gompertz se ajustó significativamente a los datos experimentales ($p \leq 0.05$, $r^2 = 0.96$), y los parámetros cinéticos de crecimiento en biopelícula mostraron un recuento máximo de bacterias adheridas sobre cerámica (A) de 6.25×10^8 UFC/cm², una tasa de crecimiento específica máxima (μ_{\max}) de 0.024 h⁻¹ y una duración de fase lag o latencia (λ) de 71.29 h. La biopelícula mixta *BMg(b) + APMm* mostró diferencias significativas, expresadas como una disminución en la producción neta de monometilamina. La tendencia de los cocultivos ensayados presentaron diferencias significativas en la producción neta de monometilamina, que fue mayor en la biopelícula acoplada *APMm + BMg(b)* y no significativa en la biopelícula *Control BMg(b)*. Todos los cocultivos ensayados presentaron mayor producción neta de monometilamina que lo detectado en la biopelícula *Control BMg(b)*. Todos los cocultivos ensayados presentaron mayor producción bruta de metano que lo detectado en la biopelícula *Control APMm*. No hubo diferencias significativas en la producción bruta de metano entre los cocultivos ensayados y el *Control APMm*. Fue detectada una diferencia significativa en la producción bruta de metano entre el día 60 y 75 en el *Control APMm*. La relación de conversión de monometilamina a metano fue inversa en todos los cocultivos ensayados, por lo que, la producción neta de monometilamina genera la producción bruta de metano. La presencia de ambas cepas, *BMg(b)* y *APMm*, en todos los cocultivos, favorece la formación de biopelículas. Se

detectaron diferentes proporciones de la cepa *BMg(b)* y *APMm* en los cocultivos ensayados, que no se relacionan con los niveles de producción respectiva, cuya proporción, en la biopelícula mixta *BMg(b) + APMm*, cambia con el tiempo de incubación. Estos resultados pueden ser aplicados al diseño de reactores de filtro anaerobio, para depurar residuos industriales líquidos ricos en proteínas y sulfato, como los producidos en la industria pesquera y en la industria productora de carne.

