

Microbiología y cambio global

EMMA BARAHONA MARTÍN, NATALIA GONZÁLEZ-BENÍTEZ

Universidad Rey Juan Carlos. Instituto de Investigación en Cambio Global (IICG-URJC). Departamento de Biología y Geología, Física y Química Inorgánica. Calle Tulipán s/n, 28933, Madrid.

✉ emma.barahona@urjc.es | natalia.gonzalez@urjc.es



Figura 1. Grupo de Microbiología y Cambio Climático de la URJC. De izquierda a derecha y de arriba abajo. Luis Merino Martín, Silvia Pajares, Natalia González-Benítez, Emma Barahona, Mercedes Uscola, Mari Carmen Molina y Pilar Martínez Hidalgo.

Las líneas de investigación que actualmente desarrolla el grupo de Microbiología y Cambio Global, enfocadas en biodegradación, biodeterioro y biorremediación, se centran en la búsqueda de estrategias que promuevan una agricultura sostenible, con especial énfasis en el papel del microbioma de suelos y plantas.

El grupo está investigando cómo los microorganismos que establecen interacciones con las plantas (rizosfera-endófitos) pueden ser aplicados a los suelos como biofertilizantes, con el objetivo de reducir el uso de fitoquímicos, los cuales

son considerados una de las principales fuentes de contaminación ambiental en suelos y aguas. Además, estamos analizando el papel de las semillas como reservorios microbianos, fundamentales para la modificación fenotípica de las plantas y su adaptación a los actuales escenarios de Cambio Global como el estrés ambiental, estrés hídrico, térmico y la contaminación ambiental (González-Benítez *et al.*, 2021).

Otra de nuestras líneas de trabajo se centra en cómo los ecosistemas pueden mitigar las altas concentraciones de CO₂ atmosférico secuestrando carbono en el suelo.

Nuestro grupo está estudiando cuáles son los factores fisicoquímicos y biológicos que influyen en las funciones metabólicas de los microorganismos del suelo, especialmente hongos y bacterias, que favorecen la formación de agregados y materia orgánica asociada a los minerales, aumentando el almacenamiento de carbono en los suelos.

Por último, una de las líneas más recientes que estamos desarrollando es la fotoproducción biológica de hidrógeno (H₂) a partir de la valorización de residuos y que es la que vamos a desarrollar en este número: Bioproducción de H₂ a partir de residuos

alimentarios mediante fotofermentación utilizando mutantes superproductores de *Rhodobacter capsulatus*.

La mayor parte de la demanda energética mundial se satisface actualmente a partir de combustibles fósiles, como el petróleo, gas y carbón (Jacquet & Jamieson, 2016). Se estima que para el año 2050, el aumento de la población y la demanda de energía, agua y alimentos crecerán en un 50% (Kumar & Lim, 2022). Esta dependencia de los combustibles fósiles llevará al previsible agotamiento de sus recursos limitados en las próximas décadas (Al-Ghussain, 2019), lo que generaría un problema insostenible por varias razones, entre ellas el incremento del calentamiento global debido a las emisiones desmedidas de gases de efecto invernadero (Zhang *et al.*, 2023).

El H₂ representa una alternativa prometedora frente a estos desafíos ambientales, con un rendimiento energético de 143 kJ g⁻¹, casi tres veces superior al de los hidrocarburos (Ni *et al.*, 2006). Aunque actualmente más del 90% del H₂ se produce mediante reformado catalítico de gas natural o combustibles fósiles, investigaciones recientes se han centrado en la producción biológica de H₂, una tecnología verde emergente. Entre estas tecnologías, la **fotoproducción biológica de H₂** se destaca como una de las más recientes y posiblemente una de las más respetuosas con el medio ambiente (Hallenbeck & Ghosh, 2009).

Rhodobacter capsulatus es una bacteria púrpura no del azufre (BPNS), anaerobia facultativa y fijadora de nitrógeno, que puede producir H₂ mediante la actividad de sus enzimas nitrogenasas. Además, *R. capsulatus* posee una hidrogenasa de captación unida a la membrana (codificada por los genes *hupA* y *hupB*) (Vignais *et al.*, 2005). Aunque la nitrogenasa es la principal responsable de la producción de H₂, una parte considerable de este gas es reoxidado por la hidrogenasa de captación. La delección de los genes *hupAB* en *R. capsulatus* elimina completamente su capacidad de consumir H₂, permitiendo que el mutante $\Delta hupAB$ acumule 10 veces más H₂ que la cepa silvestre en condiciones de crecimiento diazotrófico, pese a mantener niveles similares de actividad nitrogenasa (Barahona *et al.*, 2016).

Las BPNS son los microorganismos más utilizados para producir H₂ a través de la nitrogenasa, ya que la fotofermentación

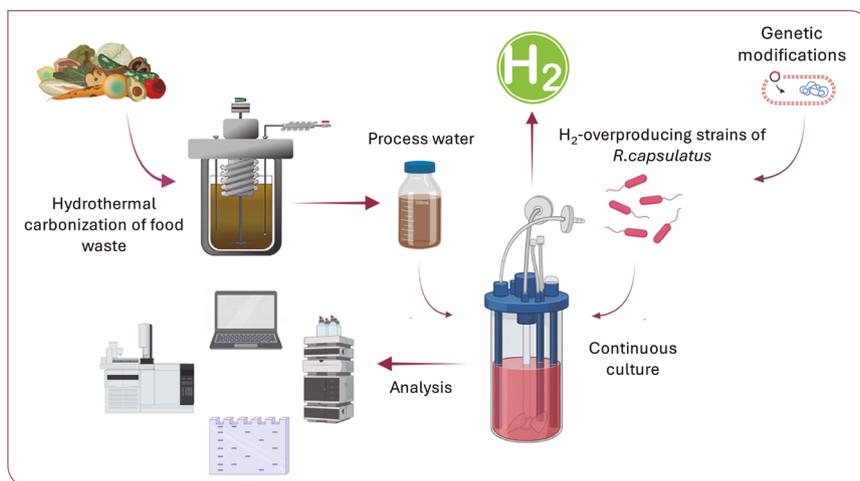


Figura 2. Optimización de la producción de H₂ a partir de agua de proceso en un sistema continuo: Las mejores cepas superproductoras de H₂ serán ensayadas bajo diferentes condiciones en un sistema continuo alimentado con agua de proceso derivada de HTC.

tiene varias ventajas sobre otros sistemas de bioproducción de H₂, tales como una alta eficiencia en la conversión de sustratos (Vasiliadou *et al.*, 2020), el uso de una amplia gama de fuentes de carbono (como melaza o remolacha azucarera), la posibilidad de operar en diferentes condiciones ambientales, reduciendo el consumo energético, y la pureza elevada del H₂ producido. Sin embargo, la baja eficiencia y rendimiento del proceso de fotofermentación (Kapdan & Kargi, 2006), debido a la baja tasa catalítica de la nitrogenasa y su represión en presencia de oxígeno o amonio (Rey *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2023), limitan su competitividad frente a los métodos convencionales, enfocando la investigación en mejorar la producción y el uso de fuentes de carbono más económicas.

En investigaciones previas realizadas en nuestro laboratorio, **se ha logrado incrementar en un 2000% la producción** de H₂ por *R. capsulatus* mediante la manipulación genética de la bacteria (Barahona *et al.*, 2016; Barahona *et al.*, 2022), optimizando el proceso de producción a través de la implementación de sistemas de cultivo continuo (Barahona *et al.*, 2022). No obstante, el elevado coste económico de la producción biológica de H₂ a partir de cultivos puros de *R. capsulatus* y utilizando fuentes de carbono sintéticas sigue siendo un factor limitante de este proceso (Sağır & Hallenbeck, 2019; Melitos *et al.*, 2021). Por ello, es crucial encontrar fuentes de carbono más asequibles que permitan generar H₂ a un costo reducido.

En 2019, se generaron aproximadamente 930 millones de toneladas de desperdicios alimentarios a nivel global, de los cuales un 61% provino de los hogares (PNUMA, 2021). En 2021, la Unión Europea produjo 2.200 millones de toneladas de residuos, de los cuales un 27% eran municipales, lo que equivale a 530 kg per cápita, con una tasa de reciclaje del 50% y un vertido del 18%. La UE tiene como objetivo reducir los vertidos de residuos municipales en un 90% para 2035, promoviendo la economía circular (Parlamento Europeo, 2018). Nuevas estrategias de gestión de residuos, como el compostaje y la digestión anaeróbica, han sido propuestas, aunque ambas presentan limitaciones, como la necesidad de grandes áreas y el tiempo prolongado de operación, respectivamente (Al-Obadi *et al.*, 2022; Ipiates *et al.*, 2021).

La carbonización hidrotermal (HTC) es un proceso termoquímico que ha ganado relevancia en los últimos años por su capacidad de aprovechar residuos de biomasa húmeda, como desperdicios de alimentos, lodos de depuradora o estiércol animal. Este proceso genera una fracción líquida con alta carga orgánica, conocida como agua de proceso (AP), que contiene compuestos orgánicos solubles, como ácidos orgánicos y azúcares, derivados de la descomposición de la biomasa durante la HTC (Ipiates *et al.*, 2021). Hasta ahora, el AP ha sido tratada exitosamente mediante digestión anaeróbica/codigestión para la producción de biogás (Villamil *et al.*, 2019; Mannarino *et al.*, 2022). La posibilidad de aprovechar el valor energético

del agua de proceso es una oportunidad emergente. Por este motivo, actualmente, además de continuar con el rediseño genético de *R. capsulatus* para mejorar las tasas de producción de H₂, estamos centrados en optimizar y mejorar el proceso global mediante la valorización del contenido material y energético de los residuos alimentarios, dentro del marco de una economía circular.

Hasta el momento, hemos logrado establecer las condiciones necesarias en cultivo discontinuo para que las cepas superproductoras de H₂ de *R. capsulatus* puedan fotofermentar el AP mientras producen H₂, con tasas de producción comparables a las obtenidas en procesos de fermentación oscura. A pesar de la complejidad del AP, con una demanda química de oxígeno (DQO) de aproximadamente 75 g L⁻¹, tanto *R. capsulatus* como el mutante *ΔhupAB* han demostrado ser capaces de utilizarla como sustrato para su crecimiento. Los resultados sugieren que ***R. capsulatus* puede reducir la DQO en medios que contienen AP, lo que evidencia su potencial para tratar residuos líquidos de alta carga orgánica y utilizarlos como sustrato en procesos de fotofermentación.**

Nuestro próximo objetivo es implementar el cultivo continuo a escala de laboratorio, para validar la viabilidad y eficacia del proceso antes de su escalado industrial (Fig. 2). Los experimentos realizados en cultivo continuo han mostrado un aumento significativo en la producción de H₂, con un incremento del 146% en la acumulación de H₂ en comparación con los cultivos discontinuos, lo que subraya la eficiencia y viabilidad de este enfoque para optimizar la producción a largo plazo.

Los resultados sugieren que no solo es factible generar energía verde a partir de residuos alimentarios, sino que también se logra un impacto positivo en la reducción de la DQO del AP, contribuyendo así a la descontaminación. La capacidad de *R. capsulatus* para aprovechar sustratos derivados de residuos en la producción de biohidrógeno subraya su enorme potencial para impulsar soluciones energéticas sostenibles. Esto significa que, además de generar energía limpia, se está depurando el agua utilizada, haciendo que el proceso sea aún más beneficioso para el medio ambiente. La implementación de estrategias de optimización, como la modificación genética y la mejora de las condiciones de cultivo, será clave para maximizar la eficiencia

de la fotofermentación con *R. capsulatus*, potenciando un modelo en el que la producción de energía y la descontaminación van de la mano.

Referencias

- Al-Ghussain, L.** (2019). Global warming: review on driving forces and mitigation. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 38(1), 13-21.
- Al-Obadi, M., Ayad, H., Pokharel, S., & Ayari, M. A.** (2022). Perspectives on food waste management: Prevention and social innovations. *Sustainable Production and Consumption*, 31, 190-208.
- Barahona, E., Jiménez-Vicente, E., & Rubio, L. M.** (2016). Hydrogen overproducing nitrogenases obtained by random mutagenesis and high-throughput screening. *Scientific Reports*, 6(1), 38291.
- Barahona, E., Isidro, E. S., Sierra-Heras, L., Álvarez-Melcón, I., Jiménez-Vicente, E., Buesa, J. M., & Rubio, L. M.** (2022). A directed genome evolution method to enhance hydrogen production in *Rhodobacter capsulatus*. *Frontiers in microbiology*, 13, 991123.
- Feng, S., Ngo, H. H., Guo, W., Chang, S. W., Nguyen, D. D., Bui, X. T., ... & Hoang, B. N.** (2023). Biohydrogen production, storage, and delivery: A comprehensive overview of current strategies and limitations. *Chemical Engineering Journal*, 144669.
- González-Benítez, N., Martín-Rodríguez, I., Cuesta, I., Arrayás, M., Francis White, J. & Molina, MC.** (2021). Endophytic microbes are tools to increase tolerance in Jasione plants against arsenic stress. *Frontiers in microbiology*, 12, 664271.
- Hallenbeck, P. C., & Ghosh, D.** (2009). Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward?. *Trends in biotechnology*, 27(5), 287-297.
- Ipiates, R. P., Mohedano, A. F., Diaz-Portuondo, E., Diaz, E., & De la Rubia, M. A.** (2023). Co-hydrothermal carbonization of swine manure and lignocellulosic waste: a new strategy for the integral valorization of biomass wastes. *Waste Management*, 169, 267-275.
- Jacquet, J., & Jamieson, D.** (2016). Soft but significant power in the Paris Agreement. *Nature Climate Change*, 6(7), 643-646.
- Kapdan, I. K., & Kargi, F.** (2006). Biohydrogen production from waste materials. *Enzyme and microbial technology*, 38(5), 569-582.
- Kumar, S. S., & Lim, H.** (2022). An overview of water electrolysis technologies for green hydrogen production. *Energy reports*, 8, 13793-13813.
- Mannarino, G., Sarrion, A., Diaz, E., Gori, R., De la Rubia, M. A., & Mohedano, A. F.** (2022). Improved energy recovery from food waste through hydrothermal carbonization and anaerobic digestion. *Waste Management*, 142, 9-18.
- Melitos, G., Voulkopoulos, X., & Zabaniotou, A.** (2021). Waste to sustainable biohydrogen production via photofermentation and biophotolysis- A systematic review. *Renewable Energy and Environmental Sustainability*, 6, 45.
- Ni, M., Leung, M. K., Sumathy, K., & Leung, D. Y.** (2006). Potential of renewable hydrogen production for energy supply in Hong Kong. *International journal of hydrogen energy*, 31(10), 1401-1412.
- Rey, F. E., Heiniger, E. K., & Harwood, C. S.** (2007). Redirection of metabolism for biological hydrogen production. *Applied and environmental microbiology*, 73(5), 1665-1671.
- Sağır, E., & Hallenbeck, P. C.** (2019). Photofermentative hydrogen production. In *Biohydrogen* (pp. 141-157). Elsevier.
- Vasiliadou, I. A., Melero, J. A., Molina, R., Puyol, D., & Martinez, F.** (2020). Optimization of H₂ production through minimization of CO₂ emissions by mixed cultures of purple phototrophic bacteria in aqueous samples. *Water*, 12(7), 2015.
- Vignais, PM, Elsen, S. y Colbeau, A.** (2005). "Regulación transcripcional de los genes de absorción [NiFe] hidrogenasa en *Rhodobacter capsulatus*". *Bioquímica. Soc. Trans.* 33, 28-32.
- Villamil, J. A., Mohedano, A. F., Rodriguez, J. J., & De la Rubia, M. A.** (2019). Anaerobic co-digestion of the aqueous phase from hydrothermally treated waste activated sludge with primary sewage sludge. A kinetic study. *Journal of environmental management*, 231, 726-733.
- Zhang, C., Huang, H., Wang, G., Ma, Y., Ma, S., & Li, Z.** (2023). Enhancement strategies of single-stage hydrogen productivity and microbial kinetics of *Rhodospseudomonas palustris* from raw lignocellulosic residue. *Waste and Biomass Valorization*, 14(5), 1611-1623.