

**BACTERIS METANÒGENS:  
CULTIUS, BIODEGRADACIÓ I  
ANÀLISI LIPÍDICA**

**MONTERRAT TORTOSA I MORENO, 2001**

**DEPARTAMENT D'ENGINYERIA MINERA  
I RECURSOS NATURALS**

**Escola Universitària Politècnica de Manresa**

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA**

Programa de Doctorat "Recursos Naturals i Contaminació"

**BACTERIS METANÒGENS:  
CULTIUS, BIODEGRADACIÓ I  
ANÀLISI LIPÍDICA**

Memòria presentada per Montserrat Tortosa i Moreno per optar al títol de Doctora.

Manresa, 2001

Directors:

Francesc Xavier de la Heras i Cisa

Catedràtic d'Enginyeria Química  
d'Escola Universitària  
Departament d'Enginyeria Minera  
i Recursos Naturals  
Universitat Politècnica de Catalunya

M<sup>a</sup> Montserrat Solé i Sardans

Catedràtica d'Enginyeria Química  
d'Escola Universitària  
Departament d'Enginyeria Minera  
i Recursos Naturals  
Universitat Politècnica de Catalunya

A la Núria, la Maria, la Queralt,  
l'Agnès, la Mireia C., la Mireia T., i a  
totes les nenes i nens com elles de la  
Terra, que són el futur.

## AGRAÏMENTS

En aquest apartat vull expressar la meua gratitud envers aquelles persones que m'han ajudat en aquesta tesi, tant científicament com personal. Si creieu que haurieu d'estar aquí i no hi sou, segurament teniu raó, per això us demano disculpes pels obliats, no són intencionats.

Aquest treball no s'hagués fet mai sense l'ajut i bona disposició del Xavier de las Heras, que va fer-me confiança i em va ensenyar on i com havia de buscar les eines per a treballar; apart d'haver gaudit amb les converses mantingudes al llarg d'aquests anys. Gràcies.

També estic molt agraïda a la Montse Solé, codirectora de la tesi; gràcies pels teus consells curts d'expressió, però amb contingut llarg i dens.

Vull agrair també a les persones del Centro de Investigación y Desarrollo (C y D, CSIC, Barcelona) que és on vaig aprendre el mètode d'obtenció dels cultius: començant per Dr Joan Grimalt per deixar-m'hi estar i també pel bon fer i tot el que vaig aprendre del Rutger de Wit i la Magda Vila, amb qui vaig tenir la sort de compartir l'espai i el temps científics.

Aquests anys no haguéssin estat els mateixos sense els companys alumnes de doctorat com jo, sobretot a l'Hermógenes Rosas amb qui hem parlat força, el Thomas Rutaysiare, i en Joanjo Castany; que m'heu ajudat desinteressadament en aquelles "petites grans coses" que fan acabar de sortir els experiments i l'escrit de la tesi, aguantant estoicament la calor de l'autoclau a l'estiu i sovint la pudor del fang.... (em sap greu!!!)

La part experimental de qualsevol tesi passa per diverses fases més o menys llargues i de més o menys claror mental. Us agraeixo Jordi Portabella i Xesca Sala la claror que m'heu ajudat a tenir quan sorgia qualsevol ensurt de qualsevol tipus a qualsevol moment al laboratori, si vosaltres estàveu allà la cosa s'arreglava al moment o començava a fer-ho. Ara que ho penso, sempre us he vist somrients (algú ha vist mai el Jordi amb posat seriós?).

També estic agraïda als alumnes "projectistes" que han participat d'una o altra manera en aquest treball: Judit Pociello, Eulàlia Cos, Mònica Castiñeira i David Armengou. I també gràcies a tot el professorat (i personal administratiu) de les seccions químiques del Departament d'Enginyeria Minera i Recursos Naturals, a part de compartir diverses

coses amb vosaltres, segur que alguna vegada (algunes, moltes vegades) m'heu escoltat i en fer-ho m'heu encoratjat a acabar.

Aquesta tesi no s'hagués pogut fer si jo no hagués tingut el suport logístic i la comprensió dels companys de l'IES Ferran Casablanques de Sabadell, especialment gràcies al Moisés Lostao, al Manel Nafria i al Toni Espuny; persones que fan una feina bona i rigorosa i que comprenen, perquè són grans, que hi ha persones que treiem un peu (o un trocet) de l'Institut i el posem a una altra banda. També estic agraïda als companys i companyes de l'institut (no vull posar noms, que són molts i moltes i no em vull descuidar ningú) perquè amb la vostra "diversitat" m'heu ensenyat molt de la vida. Gràcies també als alumnes, en ocasions m'heu ajudat a no pensar en els petits problemes de la tesi, moltes vegades tant separats del que fa bellugar el món.

Gràcies també, per ajudar-me en aquest cas a la tesi, a aquesta família que m'ha tocat: la Rosa Moreno i el Víctor Tortosa i la seva mania (ja sabeu que és broma, però per si de cas) que l'únic que podien deixar-nos eren estudis i ganes de saber. Avelina Tortosa, gràcies per tantes converses i suport enriquidor de la tesi i de la vida. Antoni Tortosa, gràcies entre altres coses per fer-me creure que algú pot entendre els ordinadors i fer-los creure com ell vol. També estic agraïda a la Soledat Ortí i al Joan Real Español.

Si en aquesta tesi hi hagués d'haver un sol nom d'agraïment, encara no ha estat escrit. Ets la persona que has viscut més de prop totes les situacions, gràcies Joan Real Ortí per escoltar-me amb interès, m'has ajudat a prendre decisions, has tingut paciència amb mí, compartim espai, temps, sentiments, filles..., la vida. I que duri. I a vosaltres dues, Núria i Maria Real Tortosa, que quan va començar aquesta tesi encara no havíeu nascut i ara ja teniu vuit i sis anys; gràcies per haver-me ensenyat tant.

## ÍNDEX

	pàg
<b>1. Objectius de la tesi.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Introducció general.....</b>	<b>7</b>
2.1. Els arqueobacteris.....	7
2.2. Lípids arqueobacterians.....	10
2.3. Els bacteris metanògens.....	12
2.4. Els bacteris metanògens i la biodegradació de compostos orgànics.....	16
<b>3. Obtenció de cultius d'enriquiment de bacteris metanògens.....</b>	<b>20</b>
3.1. Introducció.....	20
3.2. Preparació i neteja del material.....	24
3.3. Obtenció de cultius d'enriquiment de bacteris metanògens a partir de fang de depuradora utilitzant acetat com a font de carboni.....	26
3.3.1. Material i mètodes.....	26
3.3.2. Resultats.....	30
3.4. Obtenció de cultius d'enriquiment de bacteris metanògens a partir de fang de depuradors utilitzant dimetilsulfur com a font de carboni.....	36
3.4.1. Material i mètodes.....	36
3.4.2. Resultats.....	41
3.5. Enriquiment en dimetilsulfur a partir de tapets microbians.....	56
3.6. Discussió.....	57
3.7. Conclusions.....	61
<b>4. Biodegradació de compostos orgànics per consorcis metanogènics.....</b>	<b>66</b>
4.1. Introducció.....	66
4.2. Material i mètodes.....	70
4.2.1. Preparació dels cultius amb acetat.....	70
4.2.2. Preparació dels cultius amb 1-hexadecè i n-hexadecantiol.....	72
4.2.3. Mesura del creixement bacterià.....	78
4.2.4. Extracció del cultiu i anàlisi per CG-EM.....	78

4.3. Resultats.....	82
4.3.1. Creixement dels cultius que utilitzen acetat.....	82
4.3.1.1. Cultius preenriquits amb acetat que utilitzen acetat com a substrat.....	86
4.3.2. Creixement dels cultius que degraden n-hexadecantíol.....	87
4.3.2.1. Cultius inoculats a partir del medi que utilitzen n-hexadecantíol com a substrat.....	87
4.3.2.2. Cultius inoculats a partir de cultius d'enriquiment que utilitzen n-hexadecantíol com a substrat.....	90
4.3.3. Creixement dels cultius que degraden 1-hexadecà.....	92
4.3.3.1. Cultius inoculats a partir del medi que utilitzen 1-hexadecà com a substrat.....	92
4.3.3.2. Cultius inoculats a partir de cultius preenriquits que utilitzen 1-hexadecà com a substrat.....	95
4.3.4. Biodegradació de l'1-hexadecà i l'n-hexadecantíol.....	97
4.3.4.1. Composició dels gasos a la part superior del vial.....	97
4.3.4.1.1. Cultius que han crescut amb n-hexadecantíol.....	97
4.3.4.1.2. Cultius que han crescut amb 1-hexadecà.....	100
4.3.4.2. Extracció i anàlisi per CG-EM.....	102
4.3.4.2.1. Cultius que degraden 1-hexadecantíol.....	102
4.3.4.2.2. Cultius que degraden 1-hexadecà.....	108
4.4. Discussió.....	112
4.4.1. Discussió del creixement bacterià.....	112
4.4.2. Discussió sobre la degradació de l'1-hexadecà i de l'n-hexadecantíol.....	116
4.5. Conclusions.....	120
<b>5. Anàlisi de lípids.....</b>	<b>124</b>
5.1. Introducció.....	124
5.2. Material i mètodes.....	141

5.3. Resultats.....	143
5.3.1. Cultius a partir de tapet microbià crescuts en dimetilsulfur.....	144
5.3.1.1. Alcans lineals.....	144
5.3.1.2. Àcids carboxílics.....	146
5.3.1.3. Èters isoprenoides.....	147
5.3.2. Cultius inoculats amb fang de digestor anaerobi de depuradora.....	153
5.3.2.1. Alcans lineals.....	153
5.3.2.1.1. Cultius que utilitzen acetat com a substrat.....	153
5.3.2.1.2. Cultius que han crescut amb substrat dimetilsulfur.....	154
5.3.2.2. Àcids carboxílics.....	155
5.3.2.2.1. Cultius amb substrat acetat.....	155
5.3.2.2.2. Cultius amb substrat dimetilsulfur.....	156
5.3.2.3. Èters isoprenoides.....	158
5.3.3. Fang de digestor anaerobi de depuradora.....	158
5.3.3.1. Alcans lineals.....	158
5.3.3.2. Àcids carboxílics.....	158
5.3.3.3. Èters isoprenoides.....	160
5.4. Discussió.....	161
5.5. Conclusions.....	163
<b>6. Conclusions generals.....</b>	<b>168</b>
<b>7. Bibliografia.....</b>	<b>172</b>