

# CICLO DEL NITROGENO

## FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO

**El nitrógeno es un elemento increíblemente versátil que existe en forma inorgánica y orgánica, y a la vez en muchos y diferentes estados de oxidación.**

**Profesora: Dra. Nora Iñón**

Tabla 1- Estados de oxidación de los compuestos clave de nitrógeno

<b>Compuesto</b>	<b>Estado de oxidación</b>
N orgánico (R-NH <sub>2</sub> )	-3
Amoníaco (NH <sub>3</sub> )	-3
Nitrógeno gaseoso (N <sub>2</sub> )	0
Oxido nitroso (N <sub>2</sub> O)	+1 (promedio por N)
Oxido de nitrógeno (NO)	+2
Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	+3
Bióxido de nitrógeno (NO <sub>2</sub> )	+4
Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	+5

- **Todas las formas de vida dependen del nitrógeno.** Es el componente esencial de proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas fundamentales del metabolismo.
- **El principal reservorio es la atmósfera.** El 78% de la atmósfera es N<sub>2</sub> gaseoso. El triple enlace es difícil de romper y se requieren condiciones especiales. La mayoría de los ecosistemas contienen cantidades escasas de N. El nitrógeno es soluble en agua y circula a través del aire, el agua y los tejidos vivos (en estado reducido).
- **Son pocos los organismos capaces de asimilarlo,** entre ellos los procariotas como las cianobacterias y las azotobacterias.
- **No se conoce ningún eucariota que fije nitrógeno.** Los organismos fotoautótrofos (plantas o algas) requieren por lo general de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) como forma de ingresar su nitrógeno; los heterótrofos (p.ej. los animales) necesitan el nitrógeno ya reducido, en forma de radicales amino, que es como principalmente se presenta en la materia viva.

# CICLO DEL NITROGENO

- Proceso por el cual el nitrógeno circula y recircula a través del mundo.
- Las tres etapas principales de este ciclo son:

- 1- Amonificación
- 2- Nitrificación
- 3- Asimilación

# Amonificación

- Es el proceso por el cual los compuestos nitrogenados encontrados en el suelo, productos de la descomposición de materiales orgánicos complejos tales como proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos y nucleótidos son degradados a compuestos simples por organismos que habitan el suelo, principalmente bacterias y hongos. Estos microorganismos metabolizan estos compuestos y liberan el exceso de nitrógeno en forma de amoníaco o ión amonio.

## AMONIFICACION

Materia orgánica



Suelo

Compuestos  
nitrogenados  
orgánicos

Se descomponen



Bacterias y hongos



Constituyen sus propias proteínas

Proceso de amonificación



El exceso

$\text{NH}_3$

o

$\text{NH}_4^+$

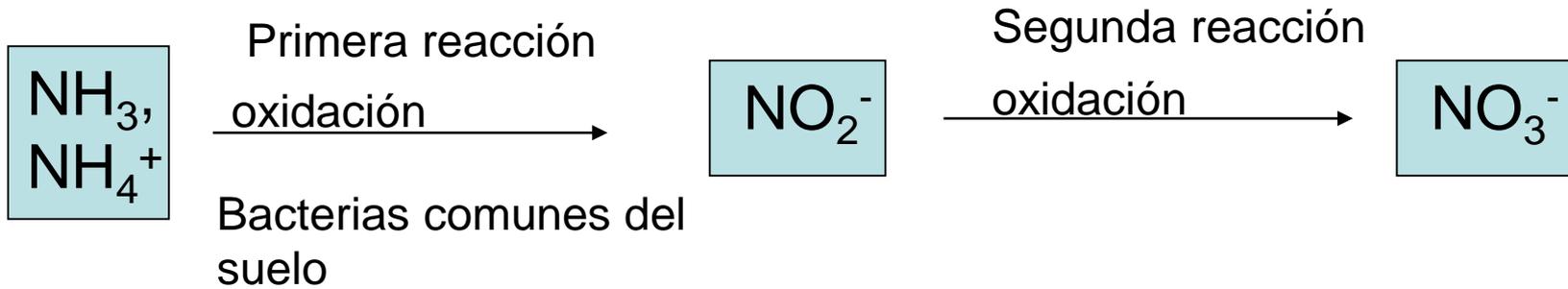
**La amonificación es la conversión del nitrógeno que en la materia viva aparece principalmente como grupos amino (-NH<sub>2</sub>) o imino (-NH-) a ion amonio .**

# Nitrificación

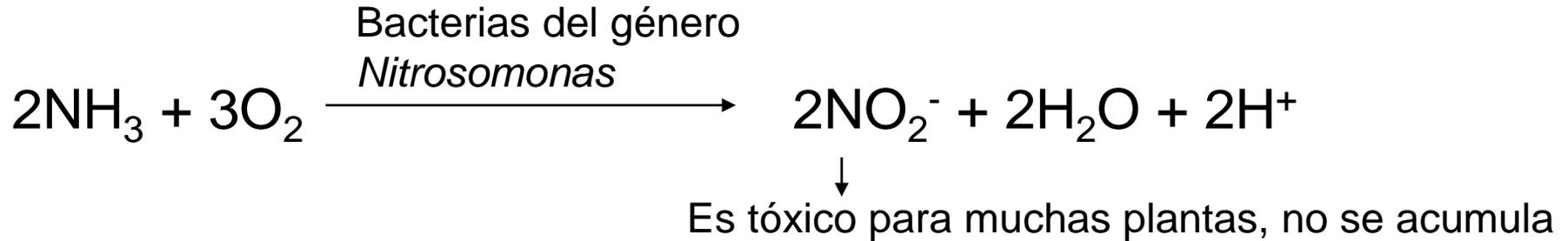
- La nitrificación es el proceso por el cual varias especies de bacterias comunes en los suelos son capaces de oxidar el amoníaco o el ión amonio. **Es un proceso generador de energía**, y la energía liberada es utilizada por estas bacterias como fuente de energía primaria. Un grupo de bacterias oxida el amoníaco o ión amonio a nitrito y luego otro grupo lo oxida a nitrato.

•No se conoce ningún **quimiolitótrofo** que lleve a cabo la oxidación completa de amonio a nitrato; por ello, la nitrificación en la naturaleza resulta de la acción secuencial de dos grupos separados de organismos, las bacterias oxidantes de amoníaco o nitrosificantes y las bacterias oxidantes de nitritos, las verdaderas bacterias nitrificantes.

Históricamente las bacterias nitrificantes fueron los primeros organismos en los que se demostró la **quimiolitotrofía** (capacidad de un organismo de oxidar una sustancia inorgánica como fuente de energía); Winogradsky demostró que eran capaces de producir materia orgánica y masa celular cuando se les suplementaba con CO<sub>2</sub> como única fuente de carbono. En las membranas de las bacterias nitrificantes se ubica la enzima clave de la oxidación del amoníaco, **amoníaco monooxigenasa**, que oxida el NH<sub>3</sub> hasta hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH); este último es oxidado a nitrito mediante la acción de otra enzima, la **hidroxilamina oxidoreductasa** presente en el periplasma de las bacterias nitrosificantes. Las bacterias oxidantes de nitritos emplean la enzima **nitrito oxidoreductasa** para oxidar el nitrito a nitrato.



### Primera reacción



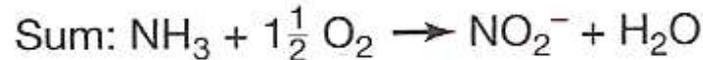
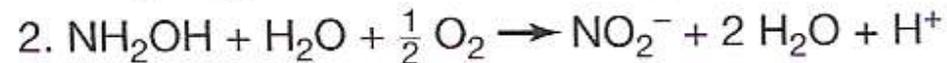
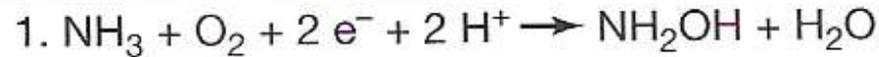
### Segunda reacción



*Nitrosomonas* y *Nitrobacter* juegan un papel central en el reciclado del nitrógeno

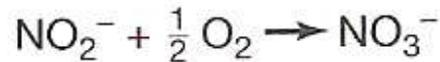
La combinación de amonificación y nitrificación devuelve a una forma asimilable por las plantas, el nitrógeno que ellas tomaron del suelo y pusieron en circulación por la cadena trófica.

### Bacterias nitrosificantes



$$\Delta G^{0'} = -275 \text{ kJ/reacción}$$

### Bacterias nitrificantes



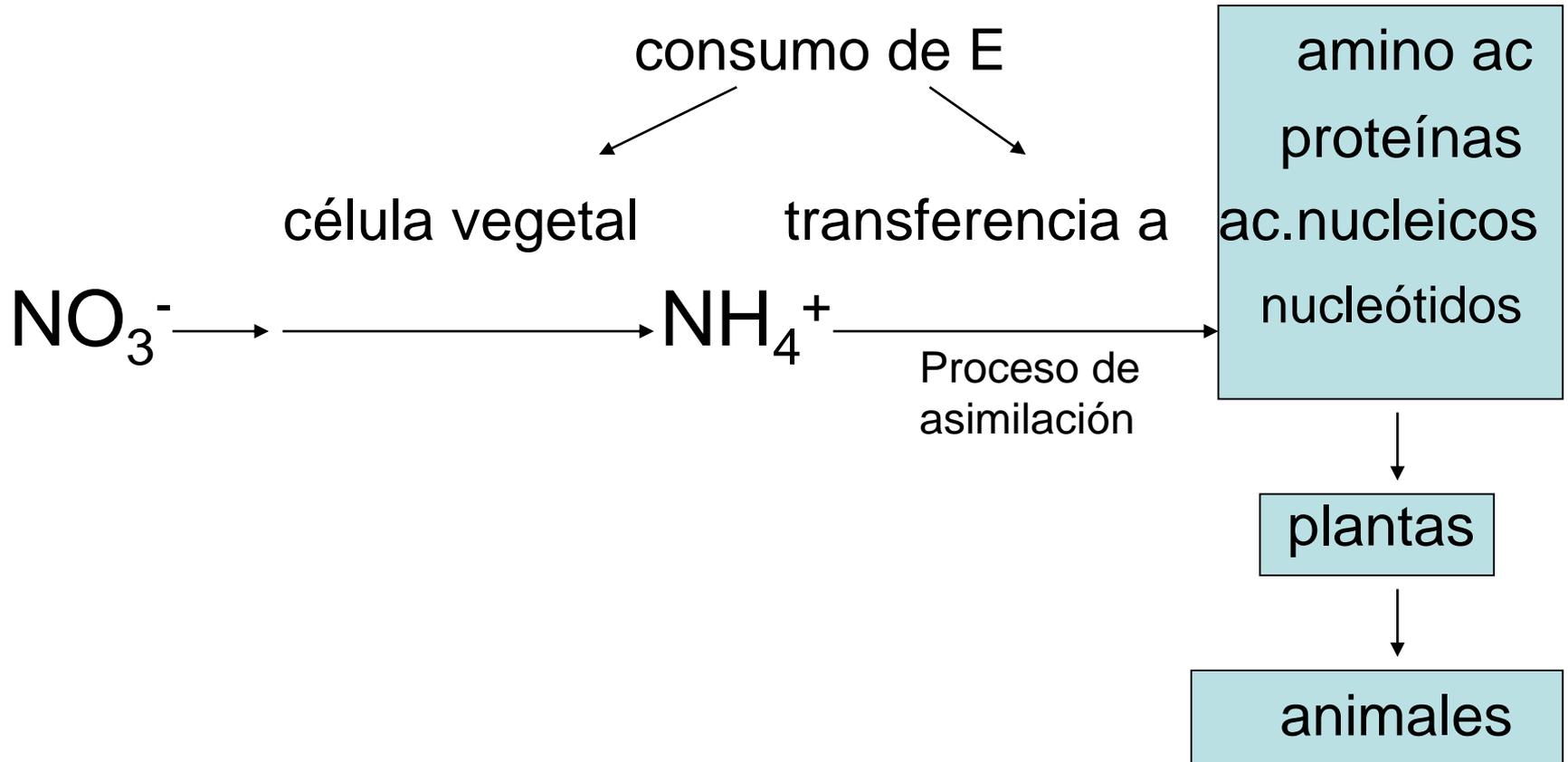
$$\Delta G^{0'} = -74,1 \text{ kJ/reacción}$$

---

**Figura 12.9** Reacciones que intervienen en la oxidación de compuestos de nitrógeno inorgánico por bacterias nitrificantes quimiolitotrofas, (véanse también Figuras 17.32 y 17.33).

La enzima de membrana *amoníaco monooxigenasa*, oxida el  $\text{NH}_3$  hasta hidroxilamina; la *hidroxilamina oxidoreductasa* presente en el periplasma de las bacterias nitrosificantes oxida la hidroxilamina a nitrito. Las bacterias que oxidan nitritos emplean la enzima *nitrito oxidoreductasa* para oxidar el nitrito a nitrato.

# Asimilación



# El ciclo se completa



suelo

Compuestos nitrogenados

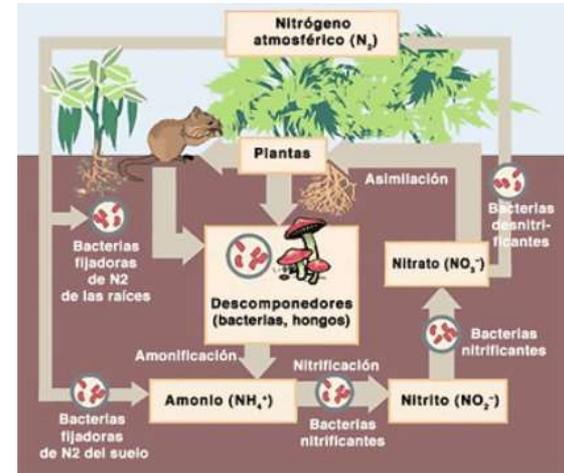
Procesados por los microorganismos del suelo

Adsorbidos por las raíces de las plantas

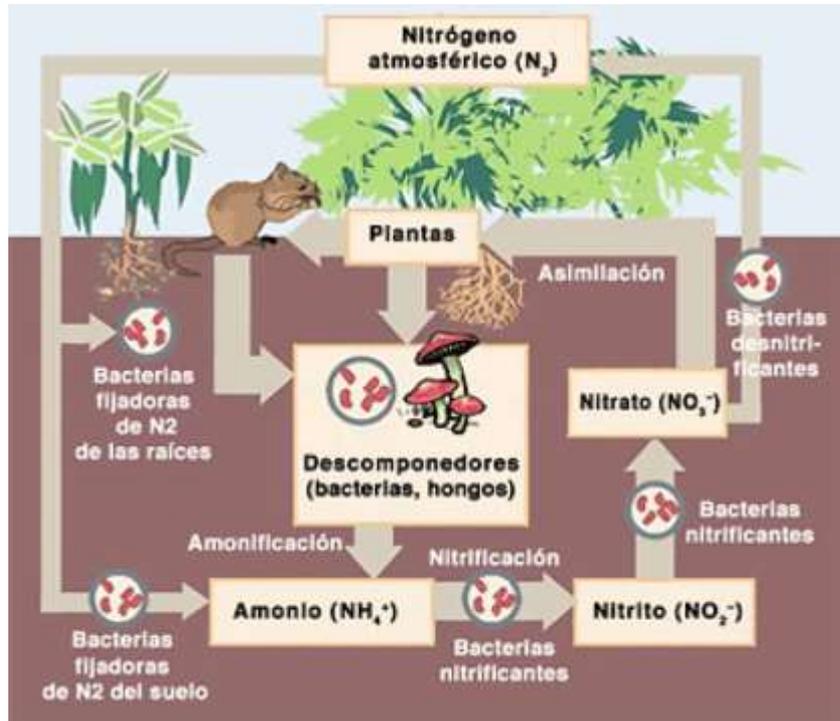
Reconvertidos a compuestos orgánicos

Se vuelve a completar el ciclo.

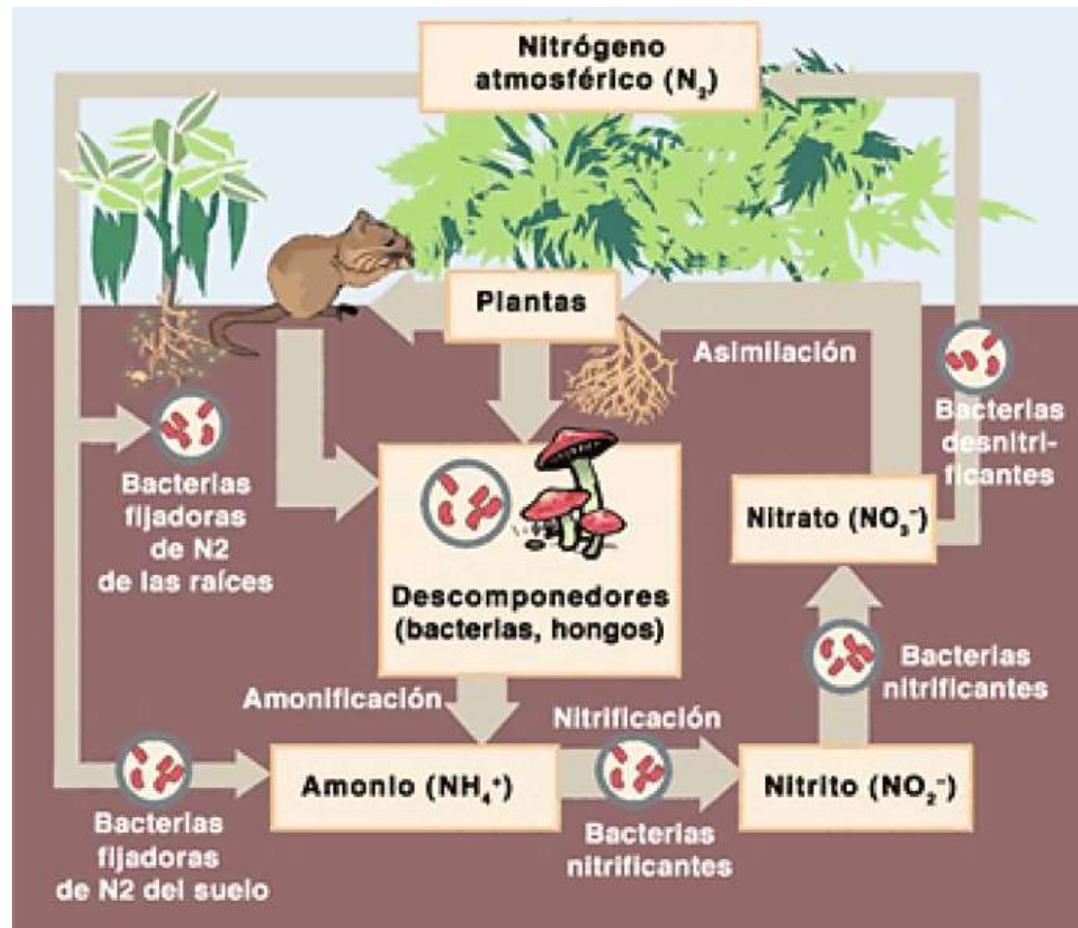
Los microorganismos son clave en el ciclo del nitrógeno en la naturaleza



# Ciclo del nitrógeno

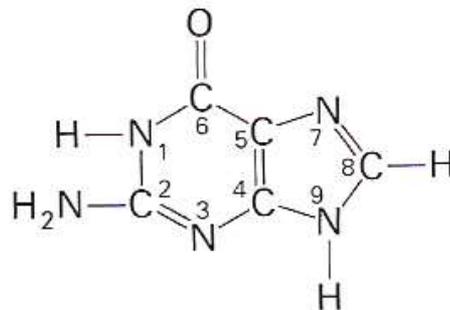
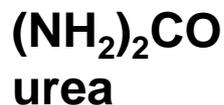


Los **organismos autótrofos** requieren típicamente un suministro de nitrógeno en forma de nitrato ( $NO_3^-$ ), mientras que los **heterótrofos** lo necesitan en forma de grupos amino ( $-NH_2$ ), y lo toman en sus alimentos formando parte de la composición de distintas biomoléculas. Los autótrofos reducen el nitrógeno oxidado que reciben como nitrato ( $NO_3^-$ ) a grupos amino, reducidos (**asimilación**). Para volver a contar con nitrato hace falta que los descomponedores lo extraigan de la biomasa dejándolo en la forma reducida de ión amonio ( $NH_4^+$ ), proceso llamado **amonificación**; y que luego el amonio sea oxidado a nitrato, proceso llamado **nitrificación**. El ciclo se completa con los procesos de **fijación de nitrógeno**, que origina compuestos solubles a partir del  $N_2$ , y la **desnitrificación** que es una forma de respiración anaerobia que devuelve  $N_2$  a la atmósfera completando el ciclo.

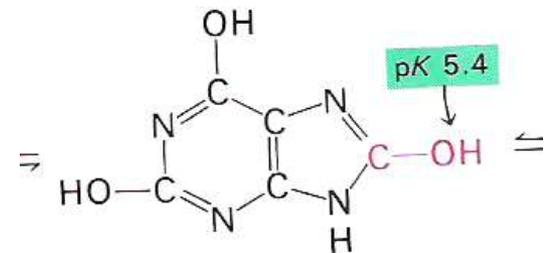


Las plantas pueden tomar el amonio y el nitrato a través de las raíces y pueden usarlos para la síntesis de sus proteínas y los ácidos nucleicos. Los animales obtienen su nitrógeno al comer las plantas o a otros animales. En el metabolismo de los compuestos nitrogenados en los animales acaba formándose ión amonio que es muy tóxico y debe ser eliminado. Esta eliminación se hace en forma de **amoníaco** (algunos peces y organismos acuáticos), o en forma de **urea** (el hombre y otros mamíferos) o en forma de **ácido úrico** (aves y otros animales de zonas secas). Estos compuestos van a la tierra o al agua de donde pueden tomarlos de nuevo las plantas o ser metabolizados por diferentes organismos.

Los animales, que no oxidan el nitrógeno, se deshacen del que tienen en exceso en forma de distintos compuestos. Los acuáticos producen directamente amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), que en disolución se convierte en ión amonio. Los terrestres producen **urea**,  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ , que es muy soluble y se concentra fácilmente en la orina; o compuestos nitrogenados insolubles como la **guanina** y el **ácido úrico**, que son purinas, y ésta es la forma común en aves o en insectos y, en general, en animales que no disponen de un suministro garantizado de agua. El nitrógeno biológico, en la mayor parte en ecosistemas continentales, es convertido a amonio por la acción de microorganismos descomponedores.



Guanine  
(G)



Uric acid  
(Enol form)

# Perdida de nitrógeno del suelo

- Remoción de plantas del suelo
- Desaparición de la capa superior del suelo por erosión o por destrucción por el fuego.
- Lixiviación por el agua que se filtra a través del suelo y arrastra los iones nitrogenados.
- Proceso de desnitrificación en suelos poco drenados por el metabolismo bacteriano.

# Recuperación del nitrógeno del suelo

- Por fijación simbiótica ( a través de la simbiosis rhizobium-leguminosa).
- Por fijación química ( descargas eléctricas).
- Por fijación industrial ( agregado de fertilizantes nitrogenados).

Los procesos principales que componen el ciclo del nitrógeno que pasa por la biosfera, la atmósfera y la geosfera son cinco:

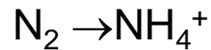
- 1- La fijación del nitrógeno
- 2- la toma del nitrógeno (crecimiento de organismos)
- 3- la mineralización del nitrógeno (desintegración)
- 4- la nitrificación
- 5- la denitrificación.

Los microorganismos, particularmente las bacterias, juegan un importante papel en todas las principales transformaciones del nitrógeno. Como procesos de mediación microbiana, ocurren más rápidamente que los procesos geológicos, tales como los movimientos de placas, que es un proceso puramente físico.

La velocidad de las transformaciones llevadas a cabo por los microorganismos se ven afectadas por factores ambientales como la temperatura, la humedad y la disponibilidad de recursos que influyen en la actividad microbiana.

# 1- La fijación del nitrógeno

Proceso por el cual el  $N_2$  se convierte en amonio. Este proceso es esencial porque es la única manera en la que los organismos pueden obtener nitrógeno directamente de la atmósfera.



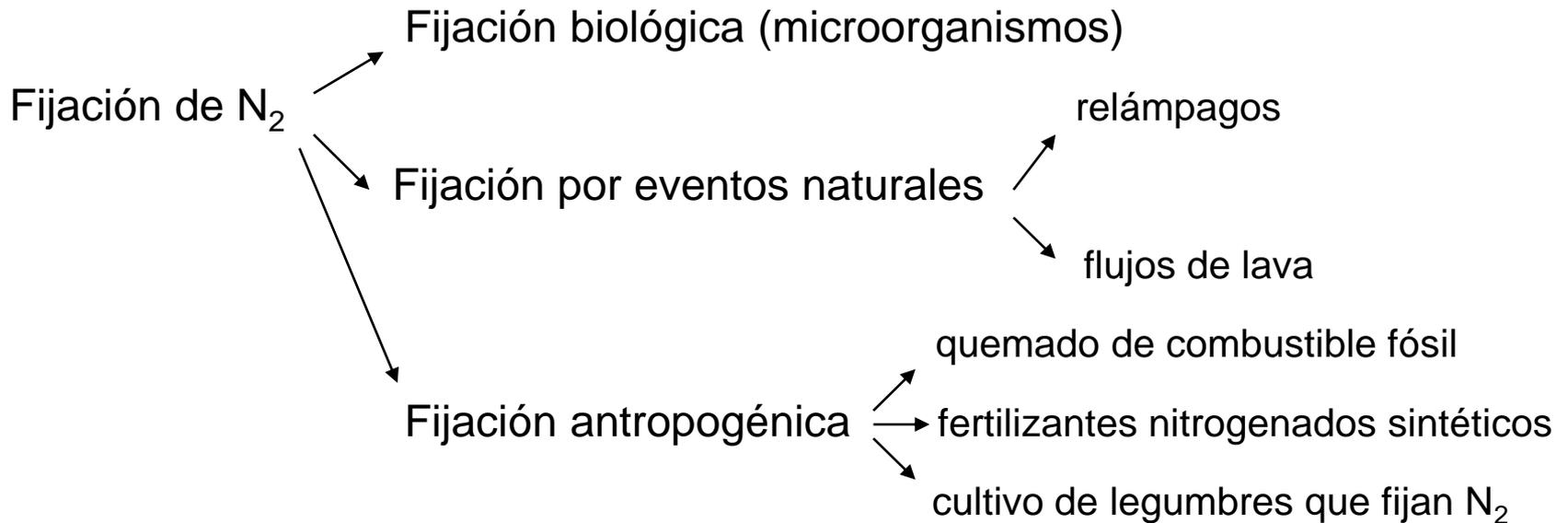
Algunas bacterias, por ej. las del género *Rhizobium*, son unos de los pocos organismos que fijan nitrógeno a través de procesos metabólicos. Esta simbiosis ocurre con la familia de las leguminosas. En esta relación, la bacteria que fija el nitrógeno habita los nódulos de las raíces de las legumbres y reciben carbohidratos y un ambiente favorable de su planta anfitriona a cambio de parte del nitrógeno que ellas fijan.



Parte del sistema de la raíz de una planta de trebol nodulada por *Rhizobium*.

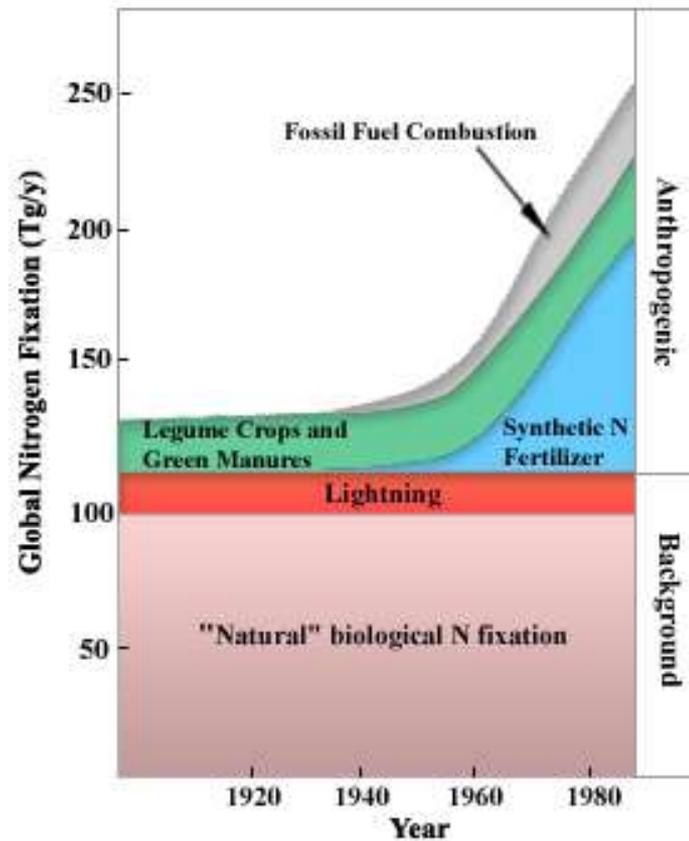
Existen también bacterias que fijan nitrógeno sin plantas anfitrionas. Éstas son conocidas como fijadores libres de nitrógeno. Es el caso de las algas azul verdosas o cianobacterias que constituyen un importante fijador de nitrógeno en ambientes acuáticos

Además del nitrógeno que fija la bacteria hay eventos naturales que pueden causar la fijación de pequeñas, pero significativas cantidades de nitrógeno.



A través de diversas actividades como el quemado de combustible fósil, la incorporación de fertilizantes sintéticos y el cultivo de legumbres, los seres humanos han duplicado en el curso del siglo XX la cantidad de nitrógeno que se dispersa en la biosfera cada año.

# Aumento de la fijación antropogénica de nitrógeno en relación a la fijación natural.



## 2- La toma del Nitrógeno



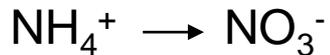
El amonio producido por el nitrógeno que fija la bacteria es usualmente incorporado rápidamente en la [proteína](#) y otros [compuestos](#) de nitrógeno orgánico, ya sea por la planta anfitriona, por la misma bacteria, o por otro [organismo](#) del suelo. Cuando los [organismos](#) más cercanos a lo alto de la cadena alimenticia (como nosotros) comen, incorporan el nitrógeno que ha sido inicialmente fijado a través del nitrógeno que fija la bacteria.

## 3- La Mineralización del Nitrógeno



Luego que el nitrógeno se incorpora en la materia orgánica, frecuentemente se vuelve a convertir en nitrógeno inorgánico a través de un proceso llamado mineralización del nitrógeno, también conocido como desintegración. Cuando los [organismos](#) mueren, los organismos descomponedores (como las bacterias y los hongos) consumen la materia orgánica y llevan al proceso de descomposición. Durante este proceso, una cantidad significativa del nitrógeno contenido dentro del [organismo](#) muerto se convierte en amonio. Una vez que el nitrógeno está en forma de amonio, está también disponible para ser usado por las plantas o para transformaciones posteriores transformándolo en nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a través del proceso llamado nitrificación.

## 4- La nitrificación



Parte del amonio producido por la descomposición se convierte en nitrato a través de un proceso llamado nitrificación. Las bacterias que llevan a cabo esta reacción obtienen energía de la misma. **La nitrificación requiere la presencia del oxígeno.** Por consiguiente, la nitrificación puede suceder solamente en ambientes ricos de oxígeno, como las aguas que circulan o que fluyen y las capas de la superficie de los suelos y sedimentos. El proceso de nitrificación tiene algunas importantes consecuencias. Los iones de amonio tienen carga positiva y por consiguiente se pegan a partículas y materias orgánicas del suelo que tienen carga negativa. La carga positiva previene que el nitrógeno del amonio sea barrido (o lixiviado) del suelo por las lluvias. Por otro lado, **el ión de nitrato con carga negativa no se mantiene en las partículas del suelo y puede ser barrido del perfil de suelo.** Esto lleva a una disminución de la fertilidad del suelo y a un enriquecimiento de nitrato de las aguas corrientes de la superficie y del subsuelo (**contaminación**).

## 5- La denitrificación



A través de la denitrificación, las formas oxidadas de nitrógeno como el nitrato y el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) se convierten en dinitrógeno ( $\text{N}_2$ ) y, en menor medida, en gas óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ). **La denitrificación es un proceso anaeróbico** llevado a cabo por bacterias que utilizan compuestos nitrogenados como aceptores de electrones en la respiración anaeróbica y que pueden convertir el nitrato en formas más reducidas de nitrógeno ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2$ ) que se van a la atmósfera dando lugar al proceso de *desnitrificación* a través de la siguiente secuencia de reacciones:



El óxido nítrico y el óxido nitroso son gases importantes para el ambiente. El óxido nítrico ( $\text{NO}$ ) contribuye a formar smog, y el óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) es un gas de invernadero importante, por lo que contribuye a los cambios globales climatológicos.

Una vez que se convierte en dinitrógeno, el nitrógeno tiene pocas posibilidades de reconvertirse en una forma biológica disponible, ya que es un gas y se pierde rápidamente en la atmósfera. **La denitrificación es la única transformación del nitrógeno que remueve el nitrógeno del ecosistema** (que es esencialmente irreversible), y aproximadamente balancea la cantidad de nitrógeno fijado por los microorganismos fijadores de nitrógeno.

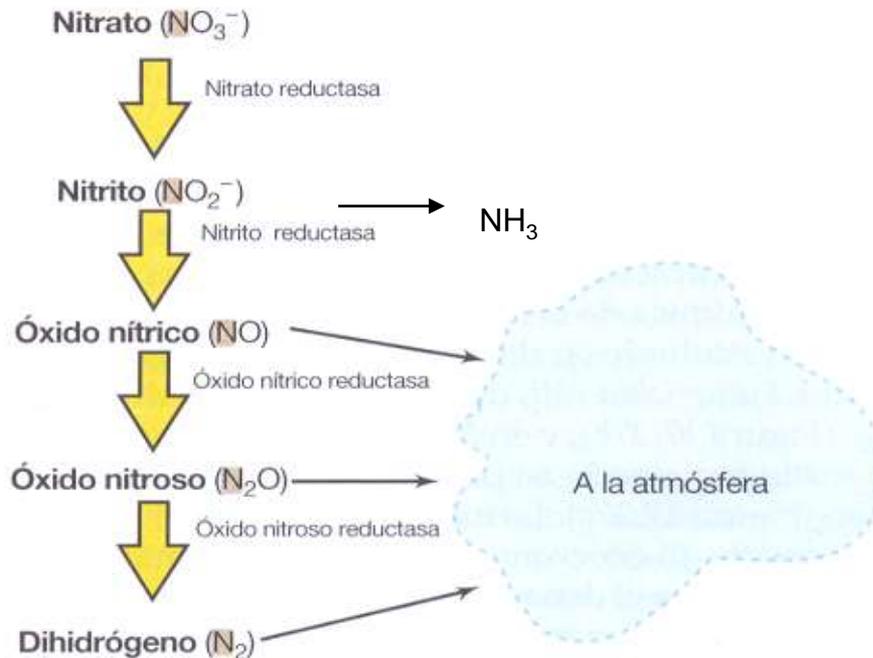
## Reducción de nitratos y desnitrificación.

Las formas de nitrógeno inorgánico más comunes en la naturaleza son el amoníaco y el nitrato, que se pueden originar ambas en la atmósfera por procesos químicos inorgánicos, y el gas  $N_2$ , un gas también atmosférico, que es la forma más estable del nitrógeno en la naturaleza.

El proceso de *desnitrificación*, el cual es estrictamente anaeróbico, es un proceso perjudicial para la agricultura; sin embargo para el tratamiento de aguas residuales es beneficioso ya que convierte el  $NO_3^-$  en  $N_2$ , disminuyendo significativamente la cantidad de nitrógeno que puede estimular el crecimiento de algas (*eutrofización*).

La desnitrificación es empleada, en los procesos técnicos de depuración controlada de aguas residuales, para eliminar el nitrato, cuya presencia favorece la eutrofización y reduce la potabilidad del agua, porque se reduce a nitrito por la flora intestinal, y éste es cancerígeno.

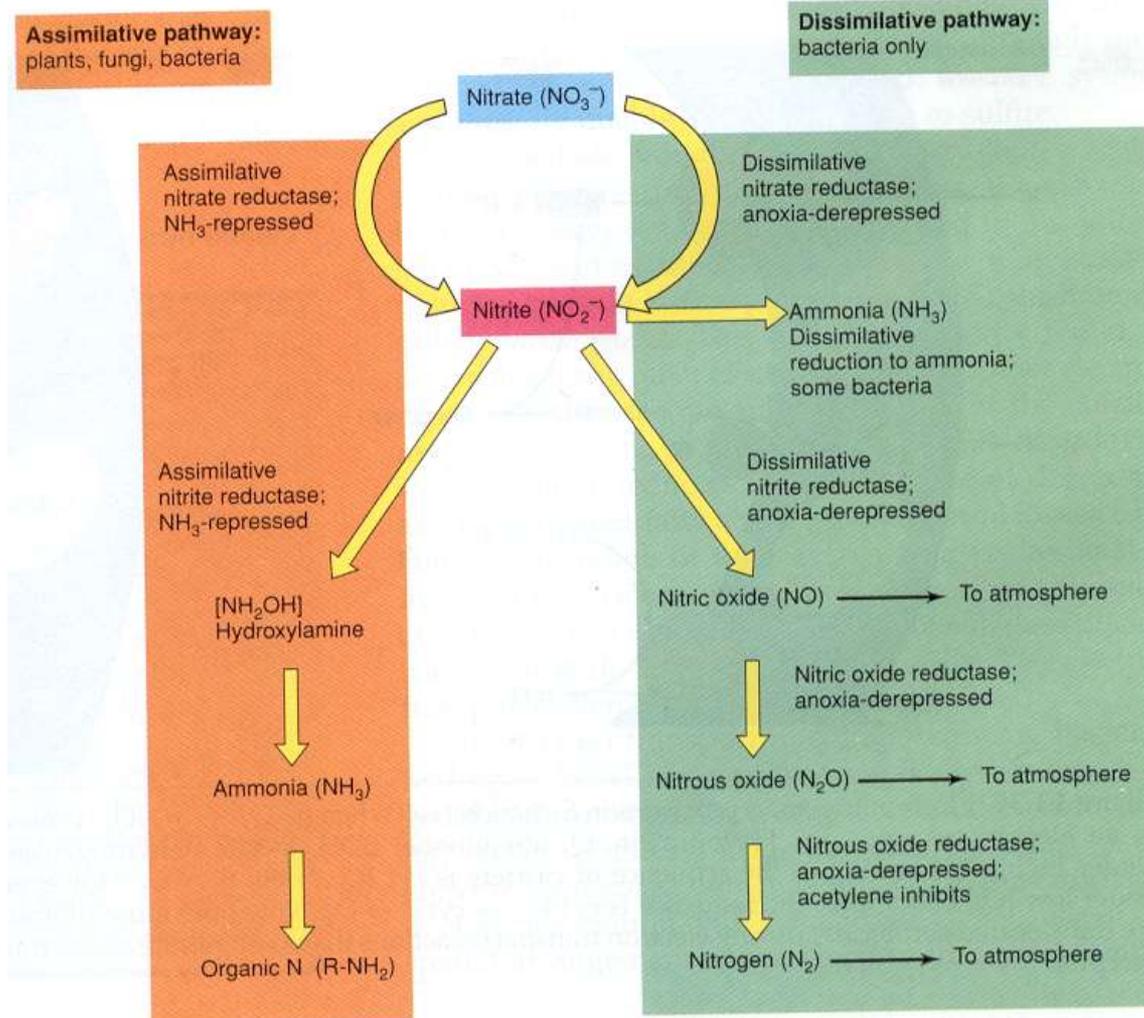
## Reducción desasimiladora de nitrato



Todas las enzimas que intervienen son dereprimidas por las condiciones anóxicas. Algunos organismos como *Escherichia coli* solo pueden realizar el primer paso. Algunos procariontas pueden reducir el  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$  en el metabolismo desasimilador.

**Figura 17.36** Pasos en la reducción desasimiladora de nitrato. Algunos organismos, por ejemplo, *Escherichia coli*, sólo pueden realizar el primer paso. Todas las enzimas que intervienen son desreprimidas por las condiciones anóxicas. También se sabe que algunos procariontas reducen  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$  en el metabolismo desasimilador.

# Reducción de nitratos

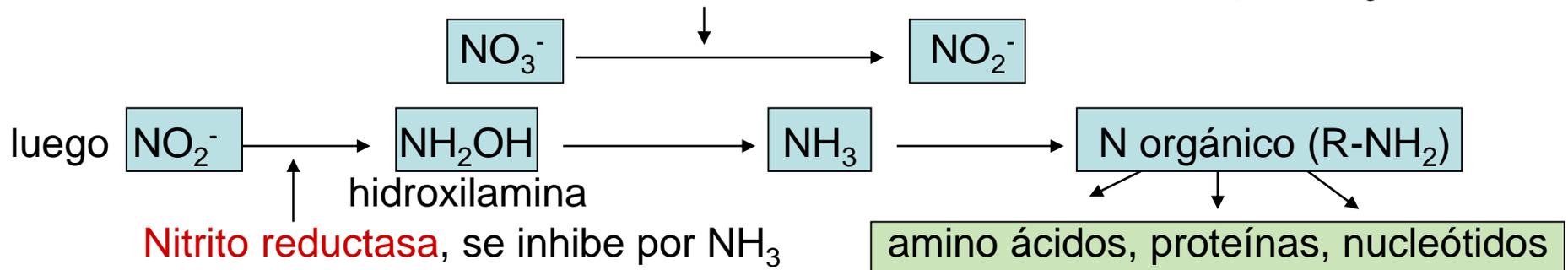




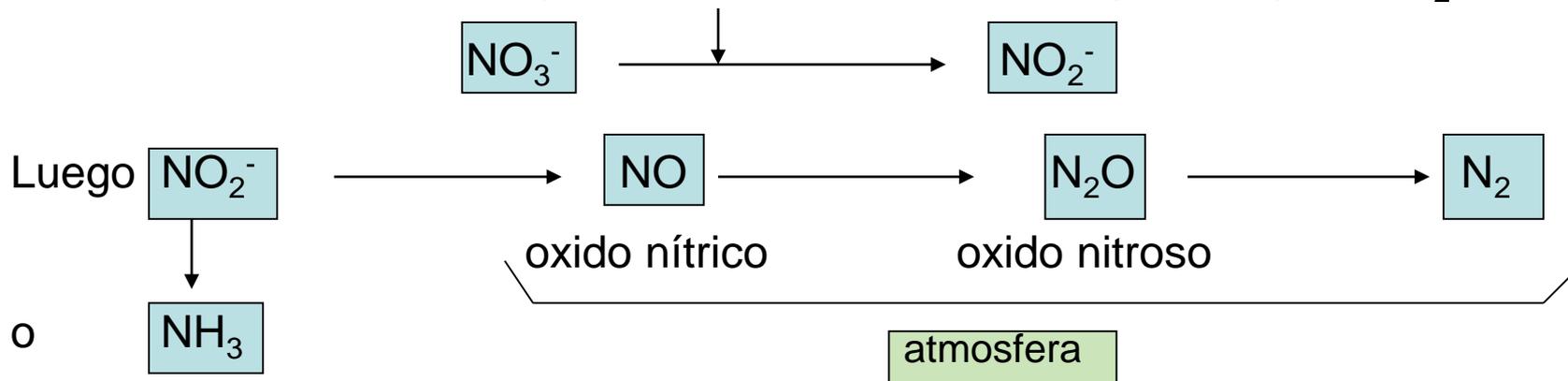
a) Reducción asimilativa (plantas, hongos, bacterias).

b) Reducción desasimilativa (bacterias).

a) **Nitrato reductasa**, enzima soluble, contiene molibdeno, se inhibe por  $\text{NH}_3$ .

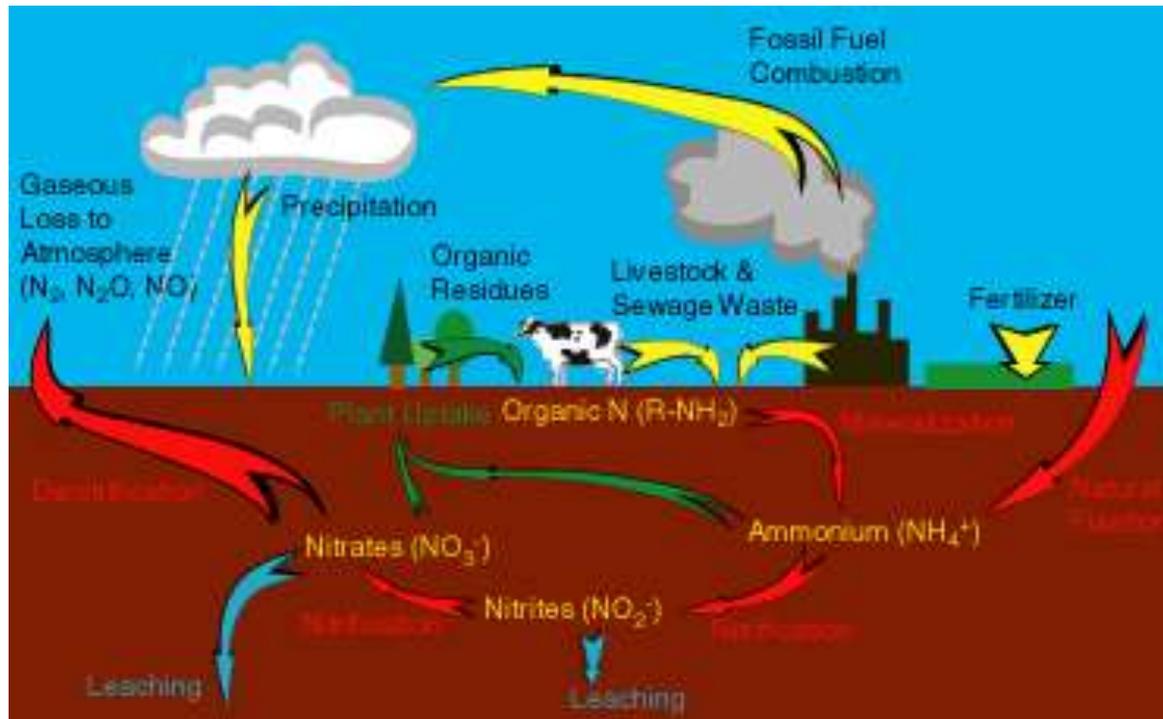


b) **Nitrato reductasa**, enzima particulada, su síntesis es reprimida por el  $\text{O}_2$ .



# Ciclo del nitrógeno

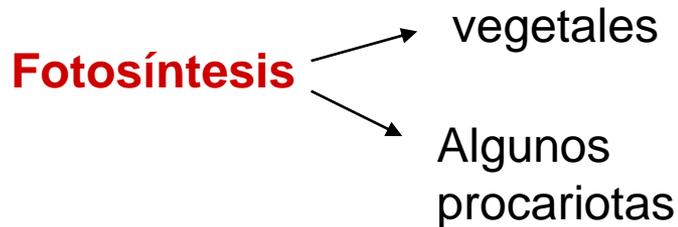
El ciclo del nitrógeno consiste en varios bancos o bolsas de almacenamiento de nitrógeno y de procesos por los cuales las bolsas intercambian nitrógeno (flechas)



Las flechas amarillas indican las **fuentes humanas** de nitrógeno para el ambiente. Las flechas rojas indican las **transformaciones microbianas** del nitrógeno. Las flechas azules indican las **fuerzas físicas** que actúan sobre el nitrógeno. Y las flechas verdes indican los **procesos naturales** y no microbianas que afectan la forma y el destino del nitrógeno.

# **FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO**

Hay dos procesos fundamentales que aseguran la disponibilidad de **carbono** y de **nitrógeno** por los seres vivos. Estos son la fotosíntesis y la fijación biológica de  $N_2$ .



**Fijación biológica de  $N_2$  (FBN)** → Solamente algunos procariontes

La fijación de nitrógeno funciona en bacterias adaptadas a distintos ambientes ecológicos y distintos estilos de vida. Todas poseen el sistema enzimático responsable de la reducción llamado **nitrogenasa**. El proceso de FN por los organismos se llama fijación biológica de nitrógeno (**FBN**). Se estima que actualmente la FBN es de 200 millones de toneladas por año.

La atmósfera contiene  $10^{15}$  toneladas de  $N_2$ .

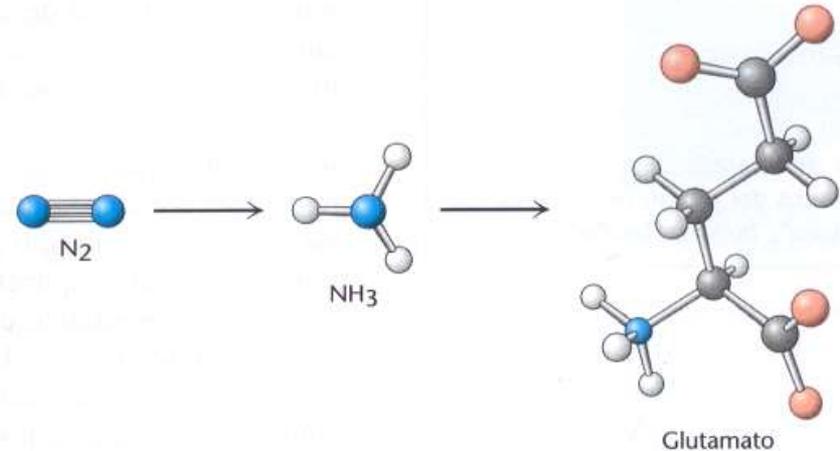
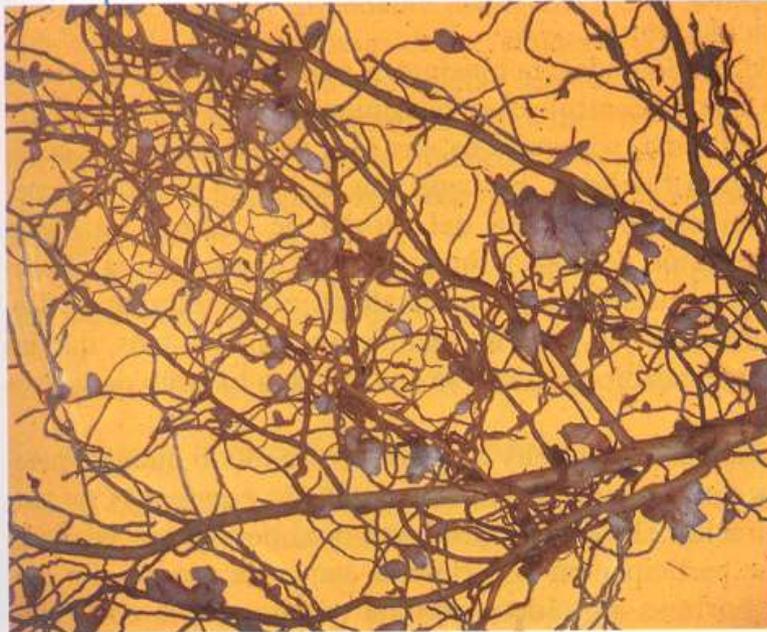
El ciclo del nitrógeno involucra  $3 \times 10^9$  toneladas de  $N_2$ /año.

# Fijación del Nitrógeno

- La utilización del  $N_2$  como fuente de nitrógeno se llama fijación de nitrógeno.
- Solo unos pocos microorganismos pueden fijar  $N_2$



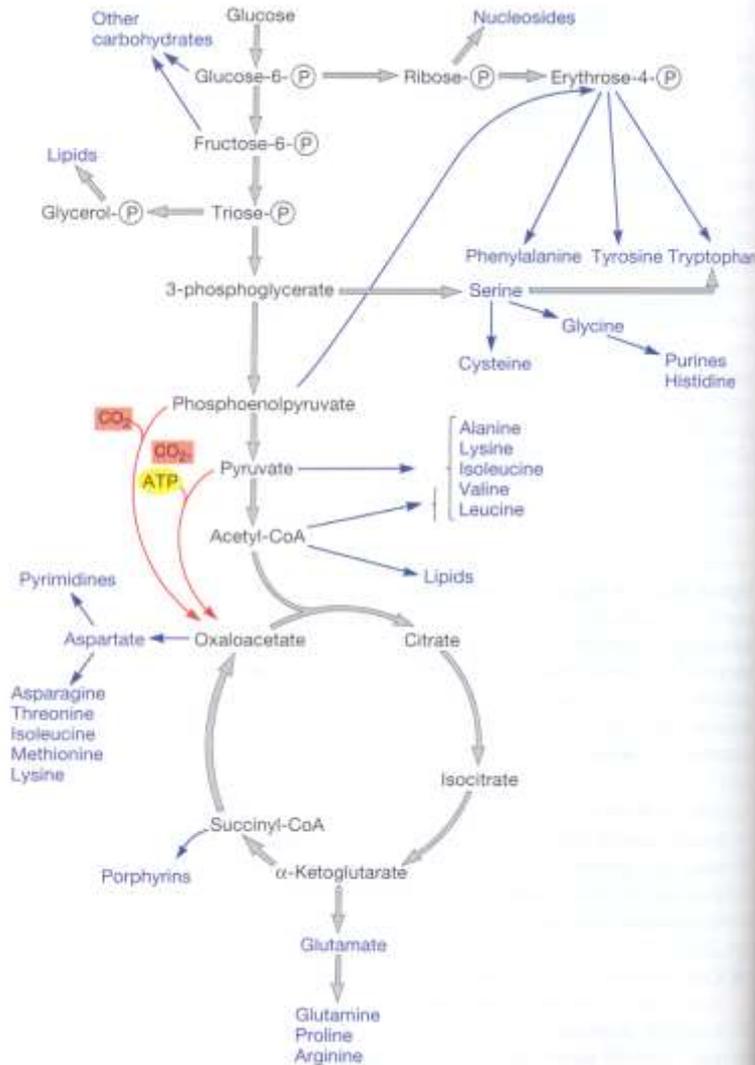
# Fijación biológica del nitrógeno



El nitrógeno es un componente clave de los aminoácidos. La atmósfera es rica en nitrógeno gaseoso (N<sub>2</sub>), una molécula muy poco reactiva. Ciertos organismos como las bacterias que viven en los nódulos radiculares del trébol amarillo (*Trifolium aureum*) (foto de la izquierda) pueden convertir el nitrógeno gaseoso en amoníaco. Posteriormente, el amoníaco se puede utilizar para la síntesis, primero de glutamato y después de otros aminoácidos. [(Izquierda) Tomado de Runk/Schoenberger, de Grant Heilman]

El nitrógeno en forma de amoníaco es la fuente de nitrógeno para todos los aminoácidos. Los aminoácidos son las piezas con las que se construyen las proteínas y la fuente de nitrógeno para muchas otras moléculas importantes como las purinas, pirimidinas, grupos prostéticos, etc.

**Los esqueletos carbonados de los aminoácidos provienen de la vía glicolítica, la vía de las pentosas o el ciclo del ácido cítrico.**



En azul se muestran los productos biosintéticos derivados de precursores metabólicos intermediarios

Los microorganismos utilizan ATP y un potente reductor para reducir el nitrógeno atmosférico a amoníaco.

- Este proceso recibe el nombre de *fijación del nitrógeno*. Los organismos superiores son incapaces de fijar N<sub>2</sub>. Solamente algunas bacterias y arqueobacterias son capaces de fijar nitrógeno.
- Las bacterias simbióticas *Rhizobium* forman nódulos en las raíces de las plantas leguminosas en donde fijan el N<sub>2</sub>.
- Los organismos diazótrofos fijan aproximadamente el 60% de todo el N<sub>2</sub> que se fija en la Tierra. Los rayos y la radiación UV fijan un 15% y el 25% restante se fija por procesos industriales.

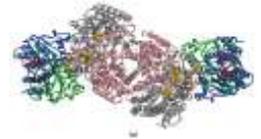
**Método de Fritz Haber en 1910.**

Se realiza a partir de H<sub>2</sub> gaseoso en presencia de un catalizador de hierro a unos 500°C y a una presión de 300 atmósferas.



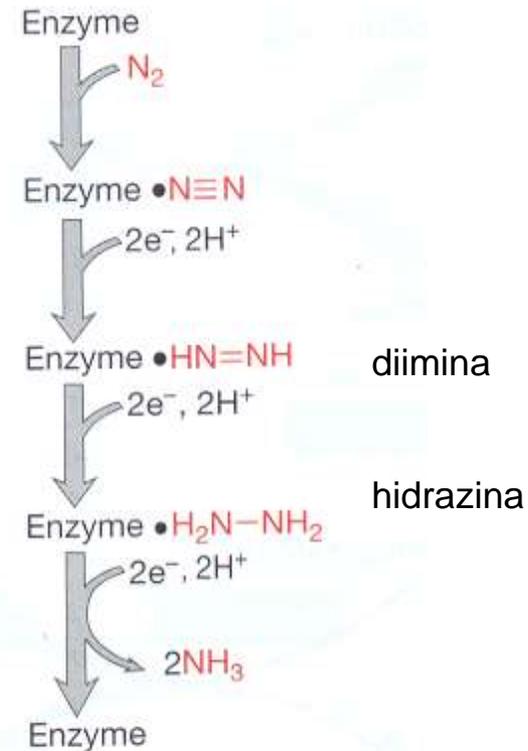
El triple enlace entre los dos átomos de nitrógeno tiene una energía de 225 kcal·mol<sup>-1</sup> y es muy resistente al ataque químico.

# El complejo nitrogenasa



- El proceso de fijación biológica del  $N_2$  requiere de un complejo enzimático con múltiples centros redox. El *complejo nitrogenasa* está formado por dos proteínas: una *reductasa*, que aporta los electrones con elevado poder reductor y una *nitrogenasa* que utiliza estos electrones para reducir el  $N_2$  a  $NH_3$ . La transferencia de electrones desde el componente reductasa al componente nitrogenasa está acoplada a la hidrólisis de ATP por parte de la reductasa. **El complejo nitrogenasa es sumamente sensible a la inactivación por  $O_2$ , el cual la inhibe en forma irreversible.**
- En los nódulos la concentración de  $O_2$  se mantiene baja gracias a la *leghemoglobina*, una proteína homóloga a la hemoglobina.

Debido a la gran estabilidad del triple enlace entre los dos átomos de N, el  $N_2$  es muy inerte, y su activación es un proceso que requiere mucha energía. Se deben transferir 6 electrones para reducir el  $N_2$  a  $2 NH_3$  a través de una serie de pasos intermedios. Se cree que los tres pasos sucesivos de reducción se producen directamente en la nitrogenasa, sin acumulación de intermediarios libres.

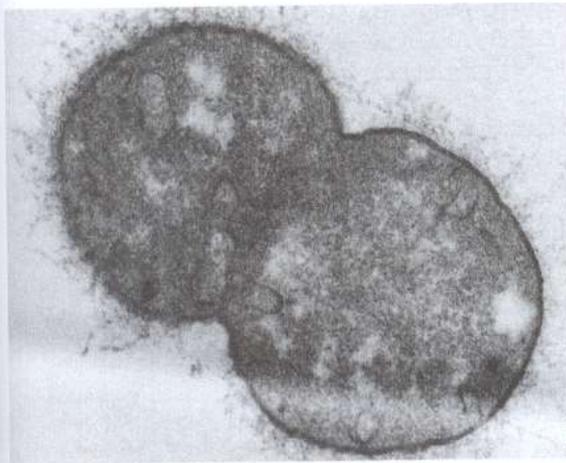


La fijación de nitrógeno en la naturaleza es muy reductora y el oxígeno inhibe el proceso porque la dinitrogenasa reductasa es inactivada rápida e irreversiblemente por  $O_2$  (incluso cuando se aísla de fijadores de nitrógeno aeróbicos). En bacterias fijadoras de  $N_2$  aeróbicas, la fijación de  $N_2$  se realiza en presencia de  $O_2$  en células enteras pero no en preparaciones purificadas de la enzima. En estos organismos, **la nitrogenasa es protegida de la inactivación por el  $O_2$ , bien sea eliminando rápidamente el  $O_2$  por respiración, bien produciendo capas mucosas que retardan el  $O_2$ , o bien mediante la compartimentación de la nitrogenasa en un tipo especial de célula (el heterocisto)**. Además, aunque la fijación de  $N_2$  no tiene lugar en extractos celulares óxicos, en fijadores aeróbicos de nitrógeno como *Azotobacter* la nitrogenasa se protege de la inactivación por el oxígeno mediante **formación de complejos con una proteína específica**. Este proceso se conoce como *protección conformacional*.

### Protección de la actividad nitrogenasa frente al $O_2$

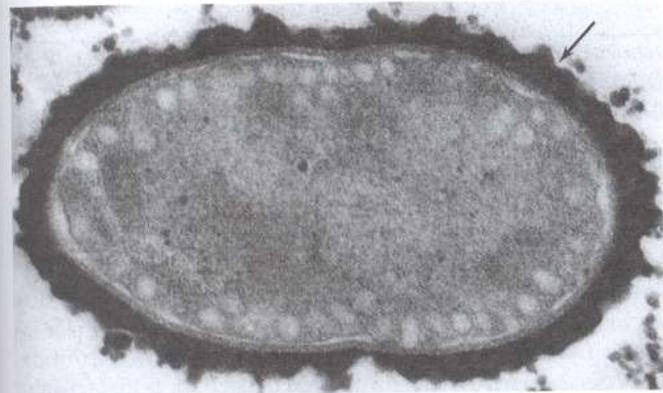
- 1- Consumo rápido del  $O_2$
- 2- capas mucosas
- 3- Compartimentalización
- 4- Protección conformacional

# Microorganismos fijadores de N<sub>2</sub>



Wael Sabra

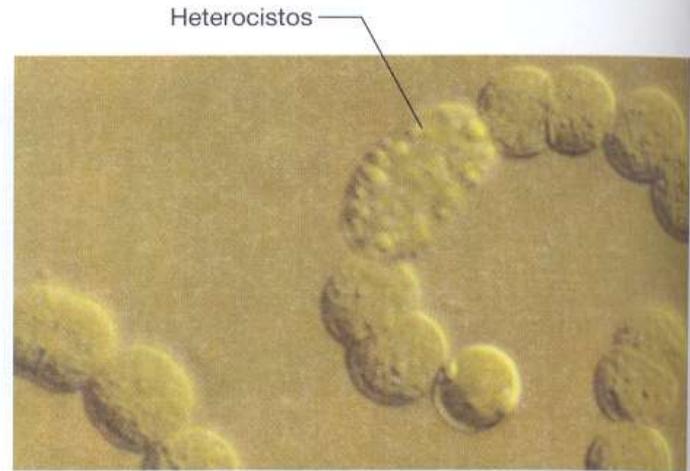
(a)



Wael Sabra

(b)

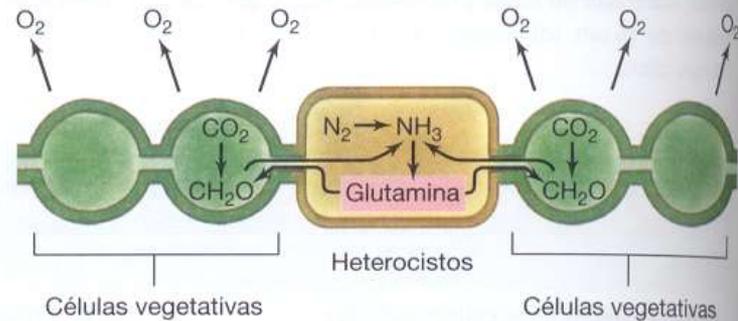
**Figura 17.71** Inducción de capas mucosas por el O<sub>2</sub> en células del fijador de nitrógeno *Azotobacter vinelandii*. (a) Micrografía electrónica de transmisión de células cultivadas en condiciones microóxicas de 2,5% O<sub>2</sub>; se observa poca mucosidad. (b) Células cultivadas en aire (21% O<sub>2</sub>). Obsérvese la extensa capa de mucosidad teñida de oscuro (flecha). La mucosidad retrasa la difusión del O<sub>2</sub> hacia el interior de la célula, impidiendo así la inactivación de la nitrogenasa por el oxígeno.



Heterocistos

T. D. Brock

(a)



(b)

**Figura 12.80** Heterocistos. (a) Heterocistos de la cianobacteria *Anabaena*. Los heterocistos sirven para la fijación de nitrógeno en las cianobacterias. (b) Modelo de función de los heterocistos. El heterocisto carece de la capacidad de producir oxígeno (Fotosistema II, Sección 17.5) y obtiene el poder reductor necesario para la fijación del nitrógeno de la materia orgánica producida por las células vegetativas adyacentes. La glutamina es la forma en que se transporta el nitrógeno fijado de los heterocistos a las células vegetativas.



Figura 19.82 Nódulos radicales de la soja. Los nódulos se destruyen por infección de *Bradyrhizobium japonicum*.



Figura 19.84 Secciones de nódulos radicales de la leguminosa *Coronilla varia*, mostrando el pigmento rojo: leghemoglobina.

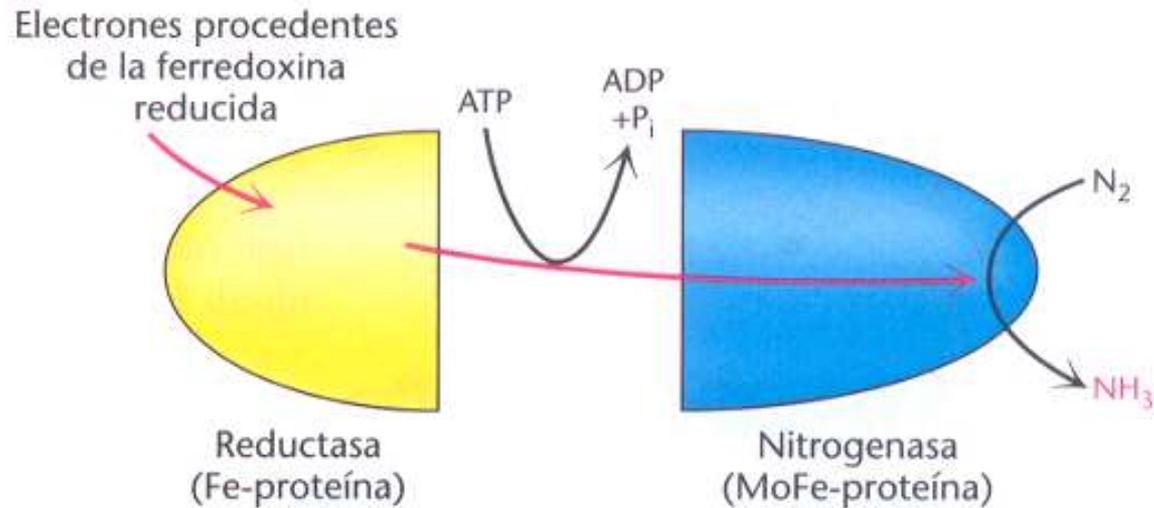


Figura 19.83 Plantas de soja sin nódulos (izquierda) y con nódulo (derecha), creciendo en un suelo pobre en nitrógeno.

La fijación de nitrógeno por la simbiosis leguminosa *Rhizobium* tiene una gran importancia en la agricultura porque causa un aumento significativo del nitrógeno combinado en el suelo. Una de las simbiosis más efectivas se establece entre *Bradyrhizobium japonicum* y soja, donde el 70% de FN por la bacteria es asimilada por la planta.

En condiciones normales, ni las leguminosas ni *Rhizobium* pueden fijar nitrógeno. En cultivo axénico, *Rhizobium* puede fijar  $N_2$  sólo si se cultiva en condiciones microaerofílicas estrictamente controladas. Aparentemente, *Rhizobium* necesita algo de  $O_2$  para generar energía para la fijación de  $N_2$ ; sin embargo la nitrogenasa es inactivada por el  $O_2$ . En el nódulo las concentraciones exactas de  $O_2$  están controladas por la leghemoglobina, que es una proteína que se une al  $O_2$ . Es una proteína que contiene hierro. Su formación es inducida por la interacción de ambos organismos. La *leghemoglobina* funciona como “*tampón de oxígeno*” manteniendo una concentración de  $O_2$  dentro del nódulo baja pero constante. En el interior del nódulo la relación entre el  $O_2$  ligado a la leghemoglobina y el  $O_2$  libre es del orden de 10.000:1.

# Complejo nitrogenasa



**FIGURA 24.2 Fijación del nitrógeno.** Para reducir el nitrógeno a amoníaco, los electrones fluyen desde la ferredoxina a la reductasa (ferroproteína, o Fe-proteína) y a la nitrogenasa (molibdeno-ferroproteína, o MoFe-proteína). La hidrólisis de ATP en el seno de la reductasa da lugar a los cambios de conformación necesarios para que los electrones se transfieran de forma eficiente.

# Esquema de la reacción

- En principio, la reducción de  $N_2$  a  $NH_3$  es un proceso en el que intervienen seis electrones.



La reacción biológica genera al menos un mol de  $H_2$ , además de dos moles de  $NH_3$  por cada mol de  $N_2$ .



Los 8 e- de elevado potencial proceden de la **ferredoxina reducida**, generada durante la fotosíntesis o procesos oxidativos. **Por cada molécula de  $N_2$  reducida se hidrolizan al menos 16 moléculas de ATP.**



# Fijación de nitrógeno

## Flujo de e-

Ferredoxina → nitrogenasa reductasa → nitrogenasa →  $N_2$  →  $NH_3$

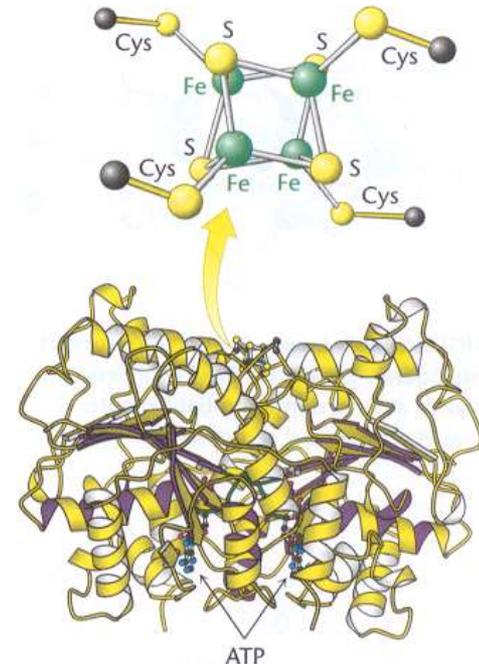
La ruptura del piruvato a acetyl-CoA +  $CO_2$  da el potencial reductor necesario para reducir la ferredoxina. La unión y ruptura de ATP en ADP + Pi es requerida también para bajar el potencial de reducción de la nitrogenasa ( $E^\circ$  de - 0.25 V a - 0.40 V) y hacer posible la ruptura del enlace covalente triple entre los dos átomos de N.

**Complejo nitrogenasa**

- nitrogenasa reductasa (Fe) dímero 60 kDa
- nitrogenasa (Fe-Mo-Co) tetramero  $\alpha_2\beta_2$ , 240 kDa

# Fe-proteína

El componente reductasa y nitrogenasa del complejo nitrogenasa son proteínas ferro-sulfuradas, en las cuales el hierro se encuentra entrelazado con un átomo de azufre de un residuo de cisteína y con sulfuro inorgánico. La **reductasa** o **ferro-proteína**, es un **dímero** de subunidades idénticas de 30 kd conectadas mediante una agrupación **4Fe-4S**. La función de la reductasa es la transferencia de  $e^-$  desde un donante apropiado, como la ferredoxina reducida, al componente nitrogenasa. La unión e hidrólisis de ATP desencadena un cambio conformacional que acerca el componente reductasa al componente nitrogenasa, para así poder transferir su electrón hasta el centro donde se reduce el nitrógeno.



 **FIGURA 24.3 Fe-proteína.** Esta proteína es un dímero formado por dos cadenas polipeptídicas conectadas mediante una agrupación 4Fe-4S. Cada monómero es un miembro de la familia de NTPasas con bucle P y contiene un lugar de unión al ATP.

El componente nitrogenasa es un tetrámero  $\alpha_2\beta_2$  (240 kd). Los electrones se incorporan a las agrupaciones P, localizadas en la interfase  $\alpha$ - $\beta$ . Estas agrupaciones están formadas por 7 átomos de hierro y 8 iones sulfuro. Cada agrupación se une a la proteína mediante 6 residuos de cisteína. Los electrones se desplazan desde la agrupación P hacia el cofactor FeMo. El cofactor FeMo de la nitrogenasa, también llamada *molibdeno-ferroproteína*, es el lugar donde se fija el nitrógeno. Cada uno de los 6 átomos centrales de hierro está unido solamente a 3 átomos, lo que deja abierta la posibilidad de que se una el  $N_2$ . Probablemente el  $N_2$  se une a la cavidad central de este cofactor. La formación de múltiples interacciones Fe-N en este complejo debilita el triple enlace en el  $N_2$ , y por lo tanto disminuye la barrera de activación para la reducción.

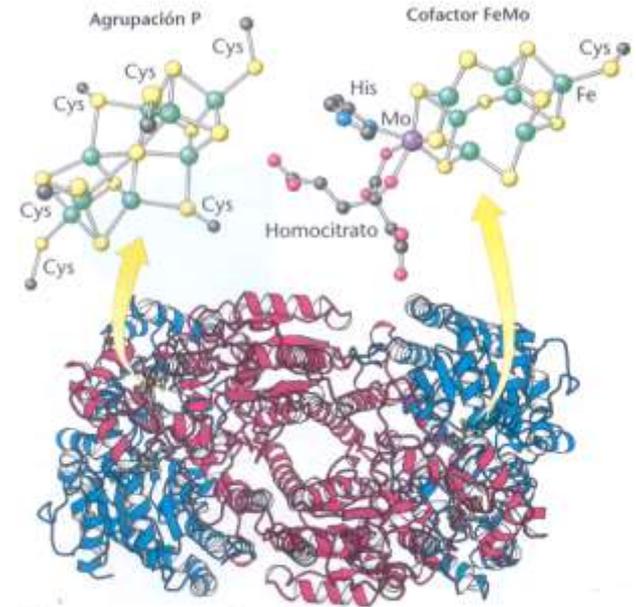


FIGURA 24.4 MoFe-Proteína. Esta proteína es un heterotetrámero formado por dos subunidades  $\alpha$  (en rojo) y dos subunidades  $\beta$  (en azul). La proteína contiene dos copias de cada uno de los dos tipos de agrupaciones: agrupaciones P y cofactores FeMo. Cada agrupación P contiene ocho átomos de hierro y siete iones sulfuro conectados a la proteína mediante seis residuos de cisteinato. Cada cofactor FeMo contiene un átomo de molibdeno, siete átomos de hierro, nueve sulfuros y un homocitrato y está conectado a la proteína mediante un residuo de cisteinato y un residuo de histidina.

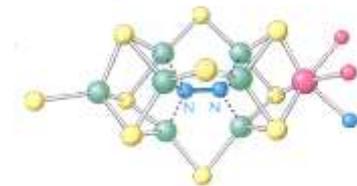
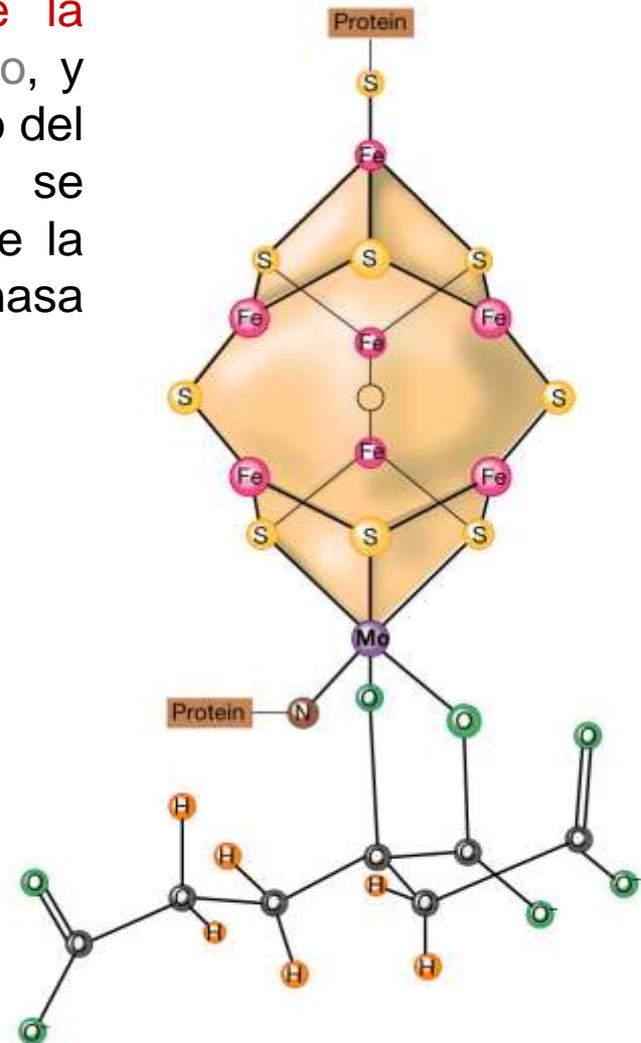


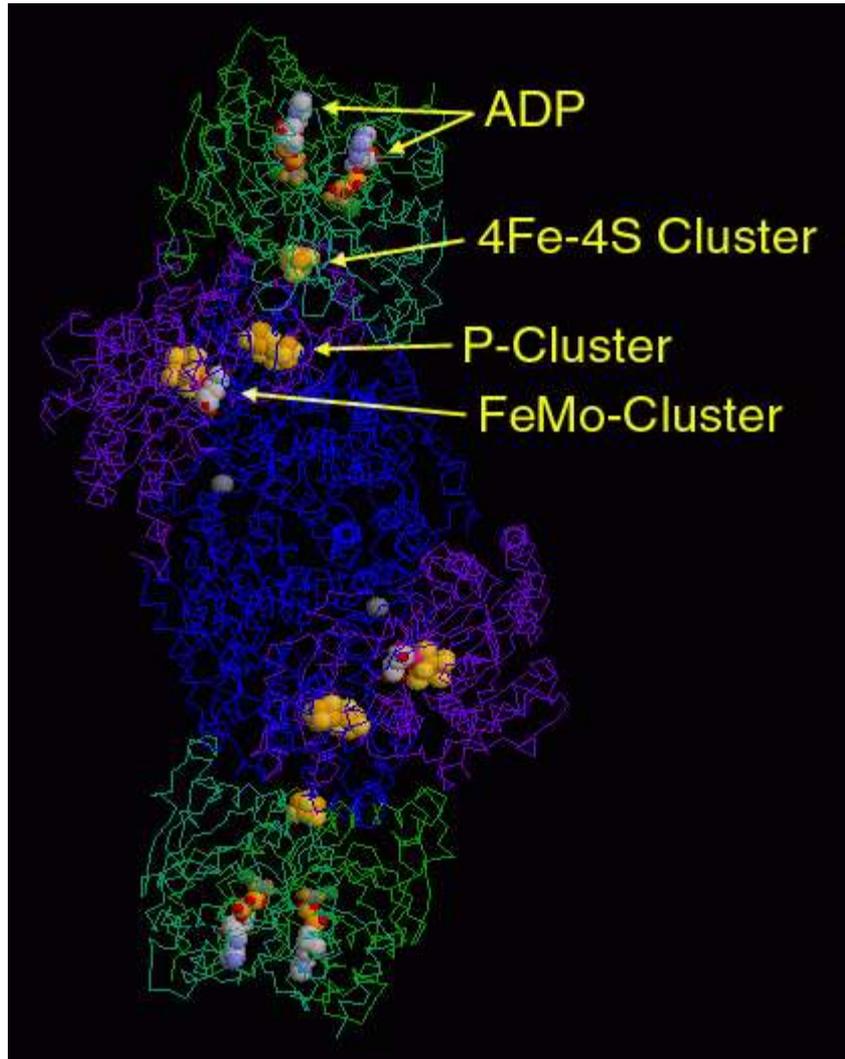
FIGURA 24.5 Lugar donde se reduce el nitrógeno. El cofactor FeMo contiene un centro abierto donde probablemente se une el nitrógeno y se reduce.

## Estructura del cofactor FeMo, molibdeno-ferro-proteína (MoFe-proteína).

En el cofactor con hierro y molibdeno de la nitrogenasa el cubo  $\text{Fe}_7\text{S}_8$  se une al molibdeno, y esta estructura se une a los átomos de oxígeno del homocitrato (todos los átomos de oxígeno se muestran en verde) y a los átomos N y S de la nitrogenasa. Por cada molécula de nitrogenasa hay dos moléculas de FeMo-co.

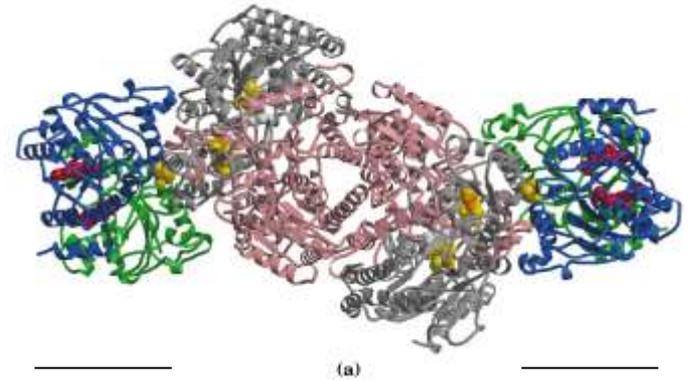


# Complejo nitrogenasa



Está constituido por dos metaloproteínas y contiene tres tipos de grupos prostéticos.

2 unidades de dinitrogenasa

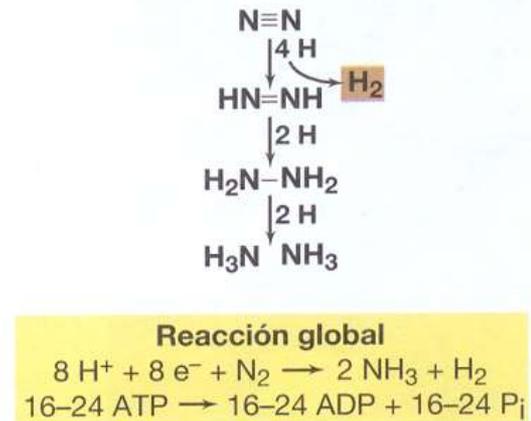
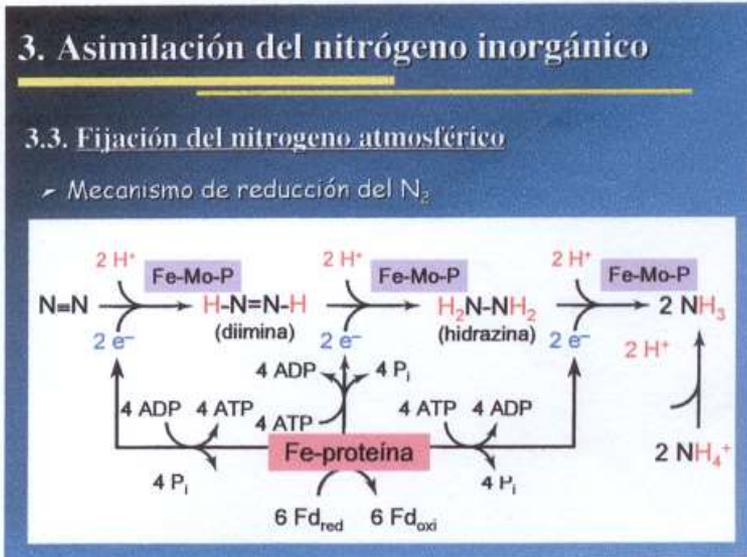
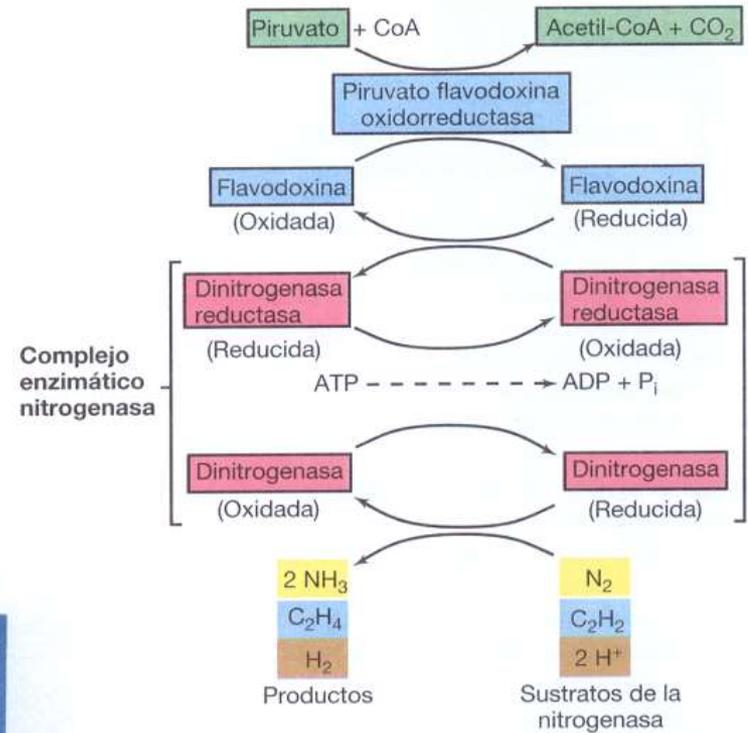


2 unidades de dinitrogenasa reductasa

**El complejo nitrogenasa (MR 300000;  
4Fe-S; 2 Mo; 30 Fe/30 S)**

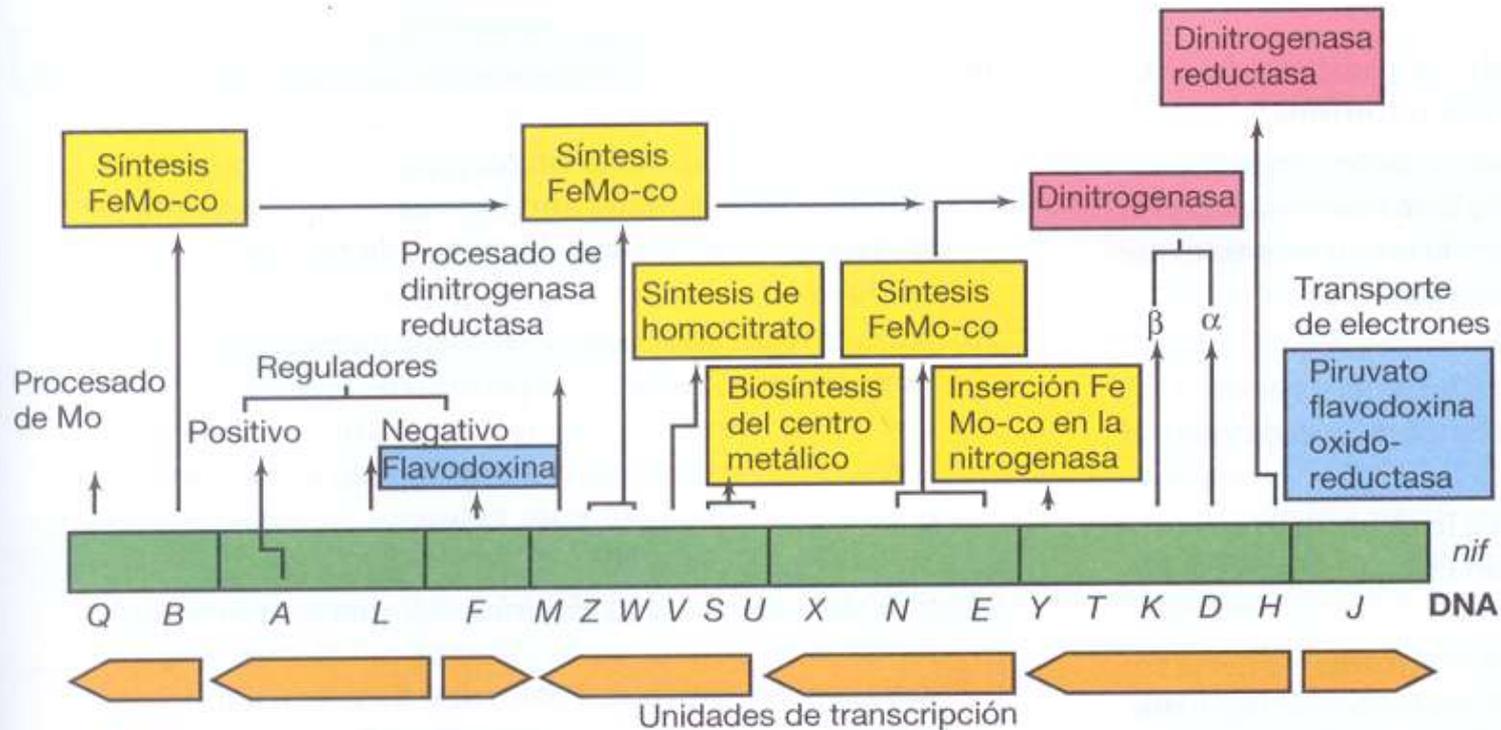
# Función de la nitrogenasa.

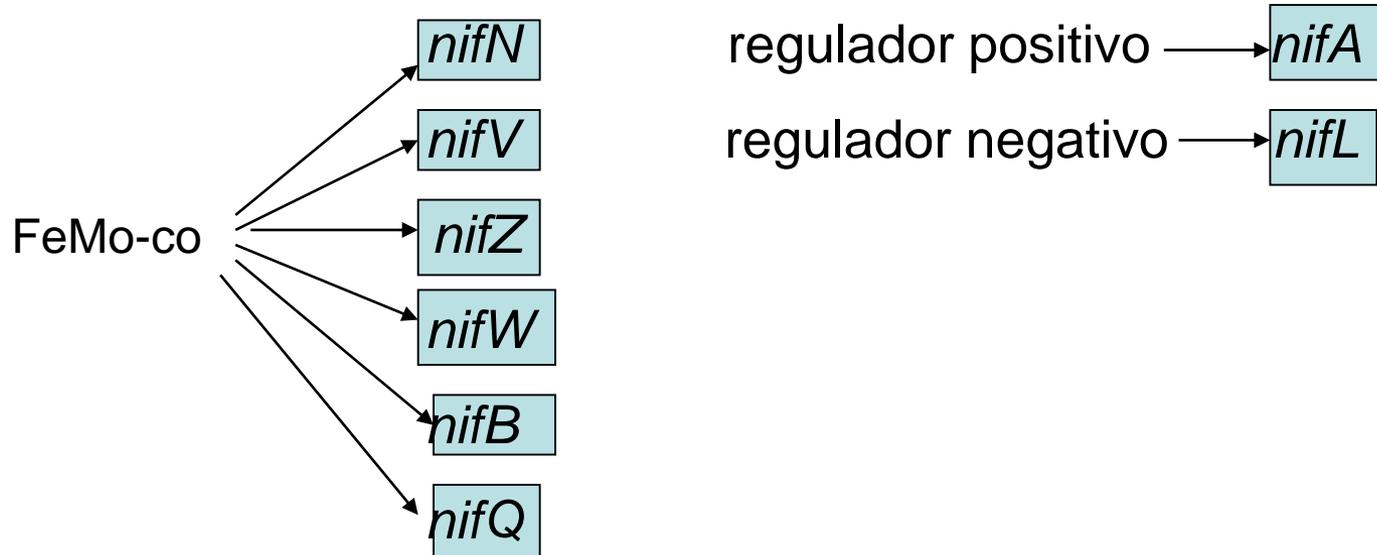
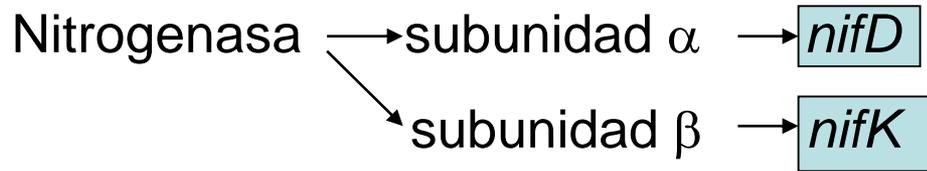
a) Pasos de la fijación de N<sub>2</sub> empezando por el piruvato. Los electrones son aportados desde la dinitrogenasa reductasa a la dinitrogenasa, de uno en uno, y cada electrón se asocia con la hidrólisis de 2-3 ATPs. b) Pasos hipotéticos en la reducción de N<sub>2</sub> y liberación de H<sub>2</sub> y resumen de la actividad nitrogenasa.



## Genética y regulación de la fijación de N<sub>2</sub>

El proceso de fijación de N<sub>2</sub> tiene una elevada demanda energética. En *Klebsiella pneumoniae* los genes de la nitrogenasa y de la nitrogenasa reductasa son parte del regulón *nif* que ocupa 24 kb de DNA y contiene 20 genes (estructurales, regulatorios y que intervienen en el transporte de electrones) dispuestos en varias unidades transcripcionales. En *K. pneumoniae* la fijación de N<sub>2</sub> sólo tiene lugar en condiciones anaeróbicas.

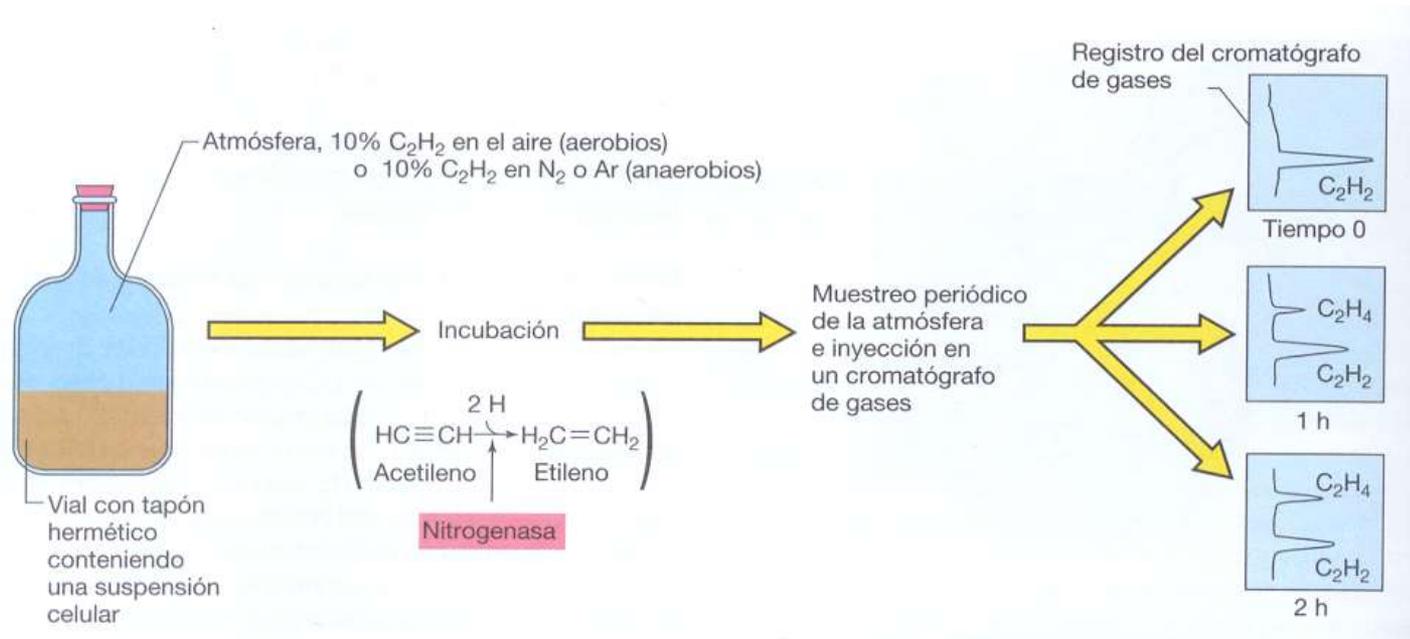




La nitrogenasa es una proteína altamente conservada. En todos los fijadores de  $N_2$  examinados, genes similares a *nifHDK* están presentes, lo que sugiere que los requerimientos genéticos para la nitrogenasa son bastante específicos. **La nitrogenasa está sometida a controles regulatorios muy estrictos.** La fijación de nitrógeno se bloquea por  $O_2$  y por nitrógeno fijado, incluyendo  $NH_3$ ,  $NO_3^-$  y algunos aminoácidos. **La mayor parte de esta regulación es a nivel transcripcional.** El  $NH_3$  reprime la fijación de  $N_2$  mediante la proteína NtrC, cuya actividad está regulada por el estado de nitrógeno de la célula. Cuando hay limitación de amoníaco NtrC activa y promueve la transcripción de *nifA*, el gen que da lugar a la producción de NifA, la proteína activadora de la fijación de nitrógeno, y se inicia la transcripción de *nif*.

El amoníaco producido por la nitrogenasa no reprime la enzima porque, tan pronto como se forma, se incorpora a forma orgánica y se usa en la biosíntesis. Pero cuando hay altos niveles de  $\text{NH}_3$  en el medio, la enzima se reprime rápidamente para evitar malgastar ATP en la elaboración de un producto que ya está en gran cantidad en el medio. En algunas bacterias fijadoras de  $\text{N}_2$ , la actividad de la nitrogenasa está también regulada por  $\text{NH}_3$ , un fenómeno llamado efecto “*interruptor*” del amoníaco o efecto “*switch off*”. En este caso, el exceso de amoníaco se une covalentemente a la nitrogenasa reductasa y ésta pierde la actividad enzimática. Cuando la concentración de amoníaco vuelve a ser factor limitante, esta proteína modificada se convierte en la forma activa y se reinicia la fijación del  $\text{N}_2$ . La regulación por amoníaco es un método rápido y reversible de control del consumo de ATP por la nitrogenasa.

Algunos sustratos artificiales que son estructuralmente similares al  $N_2$ , como el acetileno y el cianuro, son también reducidos por la nitrogenasa. En el laboratorio la actividad nitrogenasa se mide fácilmente por cromatografía gaseosa midiendo la reducción del acetileno a etileno ya que la nitrogenasa puede llevar a cabo esta reacción.



Cuando comienza el experimento (a tiempo 0), los resultados no muestran  $C_2H_4$ , pero, a medida que pasa el tiempo la producción de  $C_2H_4$  aumenta. Cuando se produce etileno, se consume el acetileno. Si el vial contuviera un extracto enzimático, las condiciones deberían ser anóxicas, aunque la nitrogenasa procediera de una bacteria aeróbica. La prueba directa de la fijación de  $N_2$  se obtiene con un isótopo no radioactivo de nitrógeno,  $^{15}N$ , como trazador y por espectrometría de masa.

Algunas bacterias fijadoras de nitrógeno sintetizan nitrogenasas sin molibdeno en ciertas condiciones de crecimiento; son las denominadas **nitrogenasas alternativas**, que carecen de molibdeno y en su lugar contienen vanadio (y hierro) o solamente hierro. Estas nitrogenasas aseguran que se produzca la fijación de nitrógeno cuando hay deficiencia de molibdeno en el hábitat.

Se ha descubierto una nitrogenasa con molibdeno funcional y estructuralmente novedosa en el estreptomiceto termófilo *Streptomyces thermoautotrophicus* que es un procariota termófilo filamentoso. Este organismo fija nitrógeno pero su nitrogenasa no es reprimida por amoníaco y no reduce el acetileno. Aunque la nitrogenasa contiene molibdeno, es completamente insensible al O<sub>2</sub>. El componente dinitrogenasa de la nitrogenasa de *S. thermoautotrophicus*, denominado *Str1*, contiene 3 polipéptidos diferentes que muestran algunas semejanzas estructurales con los polipéptidos dinitrogenasa de otros fijadores de nitrógeno; pero el componente dinitrogenasa reductasa, conocido como *Str2*, no muestra ningún parecido con otras dinitrogenasa reductasa.

Sin embargo, *Str2* muestra una semejanza de secuencia muy elevada con las *superóxido dismutasas*, que contienen manganeso. De hecho *Str2* es una *superóxido dismutasa* cuya función en la célula es consumir superóxido ( $O_2^-$ ), formando  $O_2$  en el proceso, e impidiendo así el daño oxidativo a los componentes celulares. Se ha demostrado que *Str2* suministra electrones a *Str1*. La fuente de estos electrones es  $O_2^-$ , que forma parte de la reducción de  $O_2$  por una molibdeno *CO deshidrogenasa*.

**Flujo de  $e^-$  en la fijación de nitrógeno clásica**

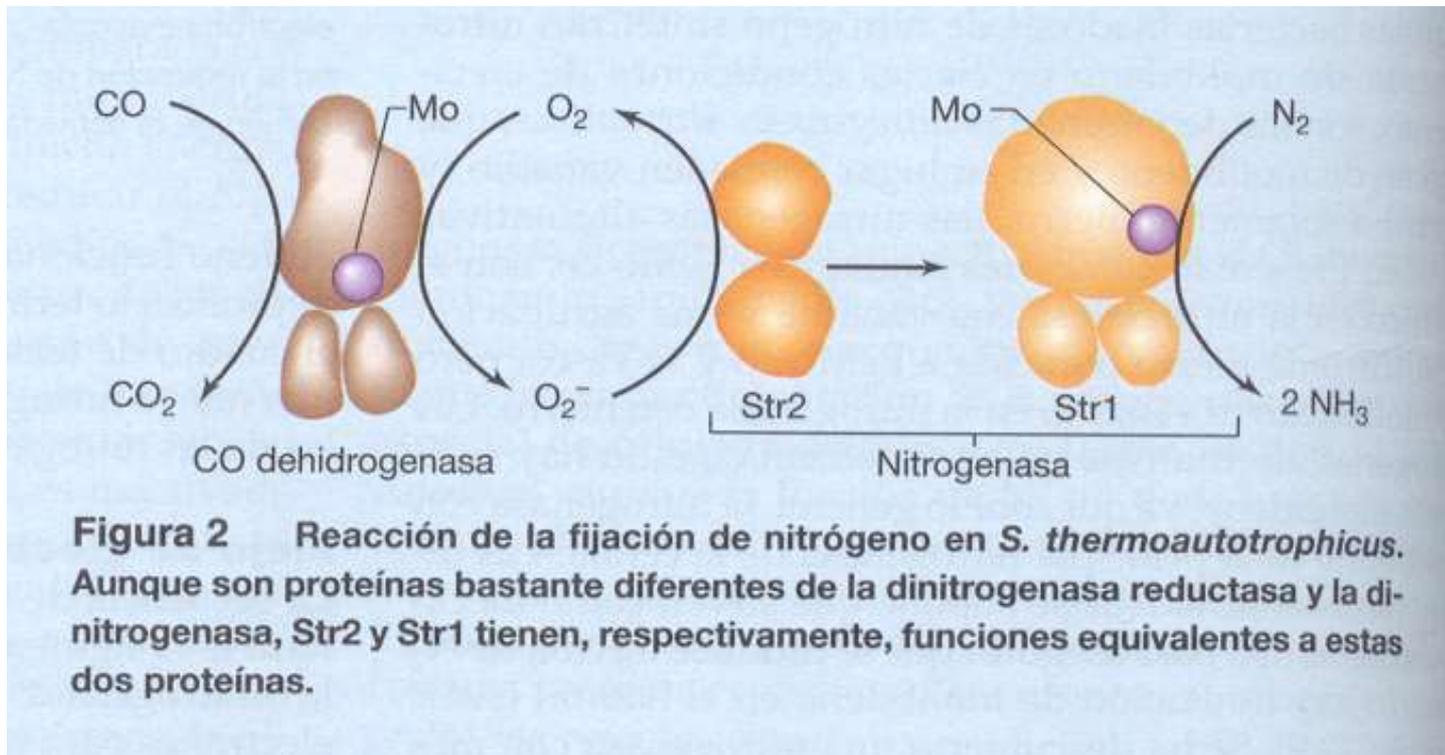
**piruvato → flavodoxina → dinitrogenasa reductasa → dinitrogenasa**

**Flujo de  $e^-$  en la fijación de nitrógeno en *Streptomyces thermoautotrophicus***

**$CO \rightarrow O_2^- \rightarrow Str2 \rightarrow Str1$ .**

Sorprendentemente, el oxígeno, en vez de inhibir la nitrogenasa, como sucede con todas las nitrogenasas que han sido examinadas, en *S. thermoautotrophicus* es necesario en el mecanismo de reacción de la enzima.

Claramente el sistema nitrogenasa de *Streptomyces thermoautotrophicus* es un sistema fijador de nitrógeno único, tanto estructural como funcionalmente. Se desconoce si su verdadera función en la célula es la fijación de nitrógeno pero este hallazgo ha renovado la esperanza de obtener por ingeniería genética un sistema nitrogenasa aplicable a la producción agrícola, por ejemplo, del maíz. El hecho de que los componentes de esta nitrogenasa sean expresados constitutivamente, no sea lábil al oxígeno y su requerimiento energético sea mucho menor (emplea solo 25 a 50% del ATP que utilizan las nitrogenasas clásicas), podría llegar a convertir en realidad el sueño de disponer algún día de cosechas fijadoras de nitrógeno.



**Figura 2** Reacción de la fijación de nitrógeno en *S. thermoautotrophicus*. Aunque son proteínas bastante diferentes de la dinitrogenasa reductasa y la dinitrogenasa, Str2 y Str1 tienen, respectivamente, funciones equivalentes a estas dos proteínas.



Ortwin Meyer

**Figura 1** Dos pilas de carbón en combustión en un bosque bávaro (Alemania), con la bacteria fijadora de  $N_2$  *Streptomyces thermoautotrophicus*. El investigador está midiendo la temperatura en varios puntos de las pilas. Éstas emiten gases de  $CO_2$ ,  $CO$ ,  $CH_4$  y  $C_2H_2$ , y la temperatura varía con la profundidad. Desde la superficie hasta unos 15 cm hacia el interior es de menos de  $100^\circ C$ , pero, al profundizar en las pilas, la temperatura puede superar los  $300^\circ C$ . *S. thermoautotrophicus* está activo hasta aproximadamente  $75^\circ C$ , y oxida  $CO$  tanto durante su metabolismo energético como durante la fijación de  $N_2$  (véase Figura 2).

<sup>1</sup> Ribbe, M., D. Gadkari, y O. Meyer, 1997. *J. Biol. Chem.* 272: 26627-26633.

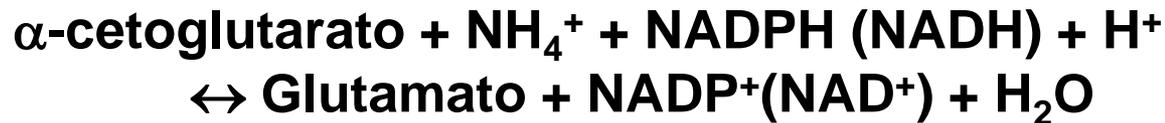
# Asimilación de nitrógeno

- La mayoría de los organismos lo asimilan a partir de amonio o de nitrato. Pocos microorganismos pueden asimilarlo a partir de  $N_2$ .

# Incorporación de amonio

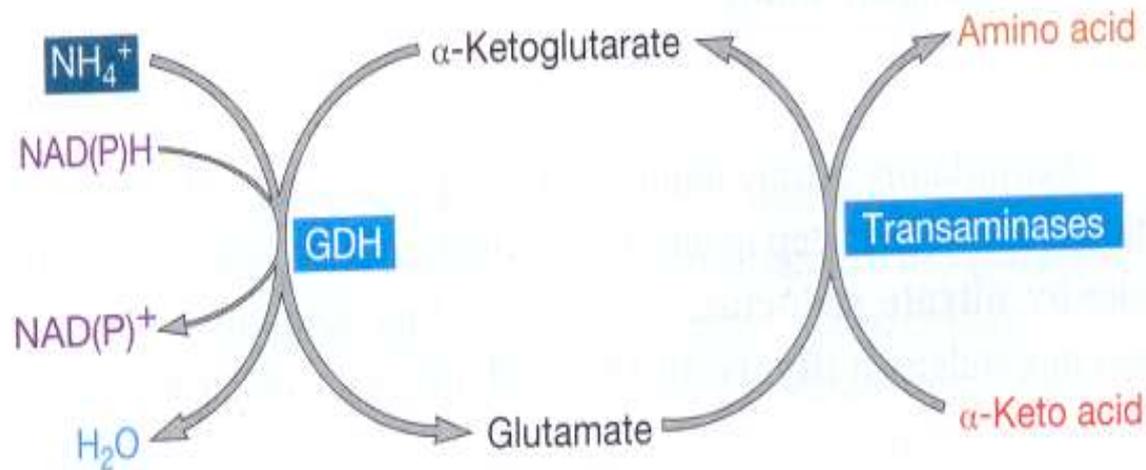
- La incorporación de nitrógeno en materiales orgánicos a partir de amonio es relativamente fácil porque esta en una forma mas reducida que otras formas de nitrógeno inorgánico.
- El amonio es incorporado inicialmente en el esqueleto de la cadena carbonada por uno de los dos mecanismos que siguen: 1) **aminación reductiva**; 2) **sistema glutamina sintetasa-glutamato sintasa**.
- Una vez incorporado, el nitrógeno puede ser transferido a otros esqueletos carbonados por las enzimas llamadas *transaminasas*.

- La principal aminación reductiva es la formación de glutamato a partir de  $\alpha$ -cetoglutarato.
- En muchas bacterias y en hongos esta reacción es catalizada por la *glutamato deshidrogenasa*, cuando la concentración de amonio es elevada.



Una vez sintetizado el glutamato, el grupo amino puede ser transferido a otros esqueletos carbonados por *transaminasas* específicas que poseen la coenzima piridoxal fosfato (PLP), la cual es responsable de la transferencia del grupo amino.

# Pathway asimilatorio de amonio



**Figure 10.16** The Ammonia Assimilation Pathway.

Ammonia assimilation by use of glutamate dehydrogenase (GDH) and transaminases. Either NADP- or NAD-dependent glutamate dehydrogenases may be involved. This route is most active at high ammonia concentrations.

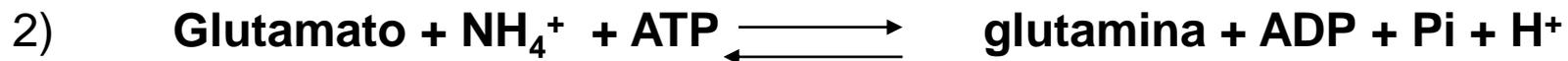
# El ion amonio se incorpora a los aminoácidos a través de glutamato y de glutamina

El **glutamato** y la **glutamina** desempeñan un papel crucial en la etapa de incorporación de nitrógeno a las biomoléculas a partir del ión  $\text{NH}_4^+$ . **El grupo  $\alpha$ -amino de la mayoría de los aminoácidos proviene del  $\alpha$ -amino grupo del glutamato por una “reacción de transaminación”.** La glutamina, otro dador importante de nitrógeno aporta el nitrógeno de su cadena lateral a la biosíntesis de una amplia gama de compuestos biológicos.

El **glutamato** se sintetiza a partir de  $\text{NH}_4^+$  y  $\alpha$ -cetoglutarato, un intermediario del ciclo del ácido tricarboxílico por acción de la **glutamato deshidrogenasa**.



La enzima **glutamina sintetasa** incorpora un segundo ión amonio al glutamato para dar la **glutamina**. Esta **amidación** está dirigida por la hidrólisis del ATP.



La regulación de la glutamina sintetasa juega un rol crucial en el metabolismo del nitrógeno.

Todos los organismos tienen glutamato deshidrogenasa y glutamino sintetasa.

La mayoría de los procariotas tienen también una enzima que no está emparentada evolutivamente con las anteriores, la **glutamato sintasa**, que cataliza la **aminación reductiva** del  $\alpha$ -cetoglutarato. El dador de nitrógeno en esta reacción es la glutamina. Se forman dos moléculas de glutamato.



Cuando el  $\text{NH}_4^+$  es el factor limitante, la mayor parte del glutamato se produce por la acción secuencial de la glutamina sintetasa y la glutamato sintasa.

La suma de estas reacciones (2 + 3) es:

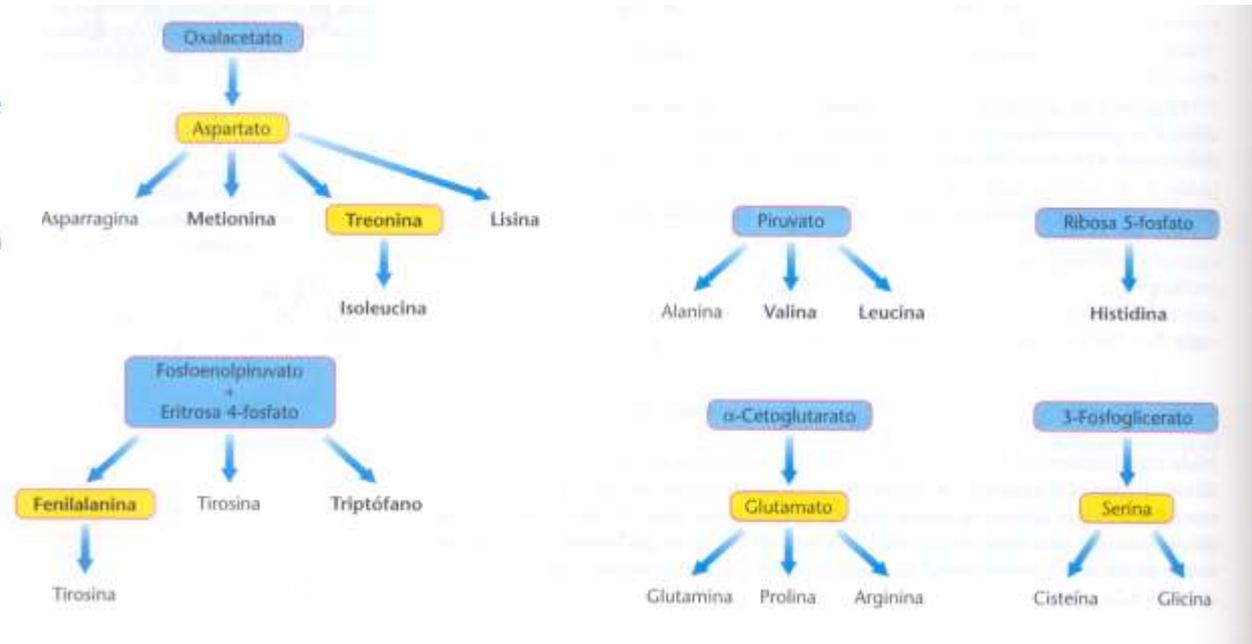


Esta vía es más costosa porque usa ATP. Sin embargo a veces los procariotas utilizan esta vía porque **el valor del  $K_m$  de la glutamato deshidrogenasa para el  $\text{NH}_4^+$  es elevado (aproximadamente 1mM)** y, por lo tanto esta enzima no esta saturada cuando el  $\text{NH}_4^+$  escasea. Por el contrario **la afinidad de la glutamina sintetasa hacia el  $\text{NH}_4^+$  es muy elevada**. Por lo tanto, para captar el amoniaco cuando éste escasea, es necesaria la hidrólisis del ATP.

El resto de los aminoácidos se sintetizan a partir de intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico y de otros importantes intermediarios metabólicos.

Si bien las vías para la biosíntesis de aminoácidos son muy variadas, los esqueletos carbonados provienen de intermediarios de la glicólisis, de la vía de las pentosas fosfato o del ciclo del ácido cítrico. En base a estas consideraciones de partida, los aminoácidos se pueden agrupar en seis familias biosintéticas.

**FIGURA 24.7 Familias biosintéticas de aminoácidos en bacterias y plantas.** Los principales precursores metabólicos se muestran sombreados en azul. Los aminoácidos que dan lugar a otros aminoácidos se muestran sombreados en amarillo. Los aminoácidos esenciales están representados en negrita.

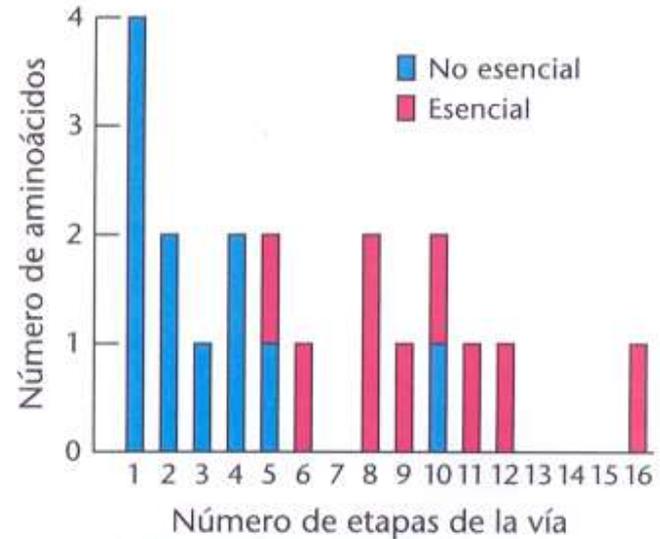


Los seres humanos pueden sintetizar algunos aminoácidos pero deben obtener el resto a partir de la dieta

**TABLA 24.1** Conjunto básico de 20 aminoácidos

No esenciales	Esenciales
Alanina	Histidina
Arginina	Isoleucina
Asparagina	Leucina
Aspartato	Lisina
Cisteína	Metionina
Glutamato	Fenilalanina
Glutamina	Treonina
Glicina	Triptófano
Prolina	Valina
Serina	
Tirosina	

La denominaciones esenciales o no esenciales hacen referencia a las necesidades de un organismo bajo una serie de condiciones concretas.



**FIGURA 24.8** Aminoácidos esenciales y no esenciales. En los seres humanos, algunos aminoácidos son no esenciales porque se pueden sintetizar en un número reducido de etapas. Aquellos aminoácidos cuya síntesis requiere un gran número de etapas son esenciales en la dieta porque algunos de los enzimas necesarios para esas etapas se han perdido en el transcurso de la evolución.

La deficiencia de tan solo un aminoácido da lugar a un *balance de nitrógeno negativo*. En estas condiciones se degrada más proteína de la que se sintetiza y, por lo tanto, se excreta más nitrógeno del que se ingiere.

Los aminoácidos no esenciales se sintetizan mediante reacciones bastante sencillas, mientras que las vías para la formación de aminoácidos esenciales son bastante complejas. Por ej. los aminoácidos **alanina** y **aspartato** se sintetizan en un único paso a partir de **piruvato** y de **oxalacetato** respectivamente. Por el contrario las vías de los aminoácidos esenciales requieren entre 5 y 16 pasos. La única excepción a este patrón es la síntesis de novo de **arginina** que requiere 10 etapas, aunque habitualmente se sintetiza en sólo 3 pasos a partir de la **ornitina** como parte del ciclo de la urea. La **tirosina**, clasificada como aminoácido no esencial, porque se puede sintetizar en un solo paso a partir de la **fenilalanina**, necesita 10 etapas para sintetizarse a partir de cero y resulta esencial cuando la fenilalanina escasea.

**Oxalacetato + glutamato**  $\rightleftharpoons$  **aspartato +  $\alpha$ -cetoglutarato**

**Piruvato + glutamato**  $\rightleftharpoons$  **alanina +  $\alpha$ -cetoglutarato**

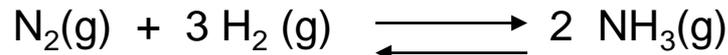
# Bibliografía

- **Bioquímica.** Lubert Stryer, Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko. 5ta Ed.
- **Biología de los Microorganismos** . Brock. Michael T. Madigan, John M. Martinko, Jack Parker. 10 Ed.
- **Microbiology.** Prescott, Harley, Klein´s, 7a Ed. Willey, Sherwood, Woolverton.
- **Fijación biológica de nitrógeno.** Baca, Soto Urzúa, Pardo Ruiz, Beatriz Eugenia Lucía Ma. Patricia A. Elementos 38, 2000,pp43-49.
- **Ciclo del nitrógeno.** De Microbios y de Hombres por John Arthur Harrison, Ph.D.
- **Mecanismos de protección de la nitrogenasa a la inactivación por oxígeno.** Lucía Soto-Urzúa y Beatriz E. Baca. Revista Latinoamericana de Microbiología (2001) 43:37-49.
- N<sub>2</sub> Fixation by *Streptomyces thermoautotrophicus* Involves a Molybdenum-Dinitrogenase and a Manganese- Superoxide oxidoreductase that couple N<sub>2</sub> reduction to the oxidation of superoxide produced from O<sub>2</sub> by molybdenum-CO dehydrogenase. Ribbet M. et al. J. Biol. Chem, 1997, Vol.272, pp. 26627-26633.
- **Life in grasses: diazotrophic endophytes.** Barbara Reinhold-Hurek and Thomas Hurek. Trends in Microbiology 139. Vol.6 No.4 April 1998. Review.

**FIN**

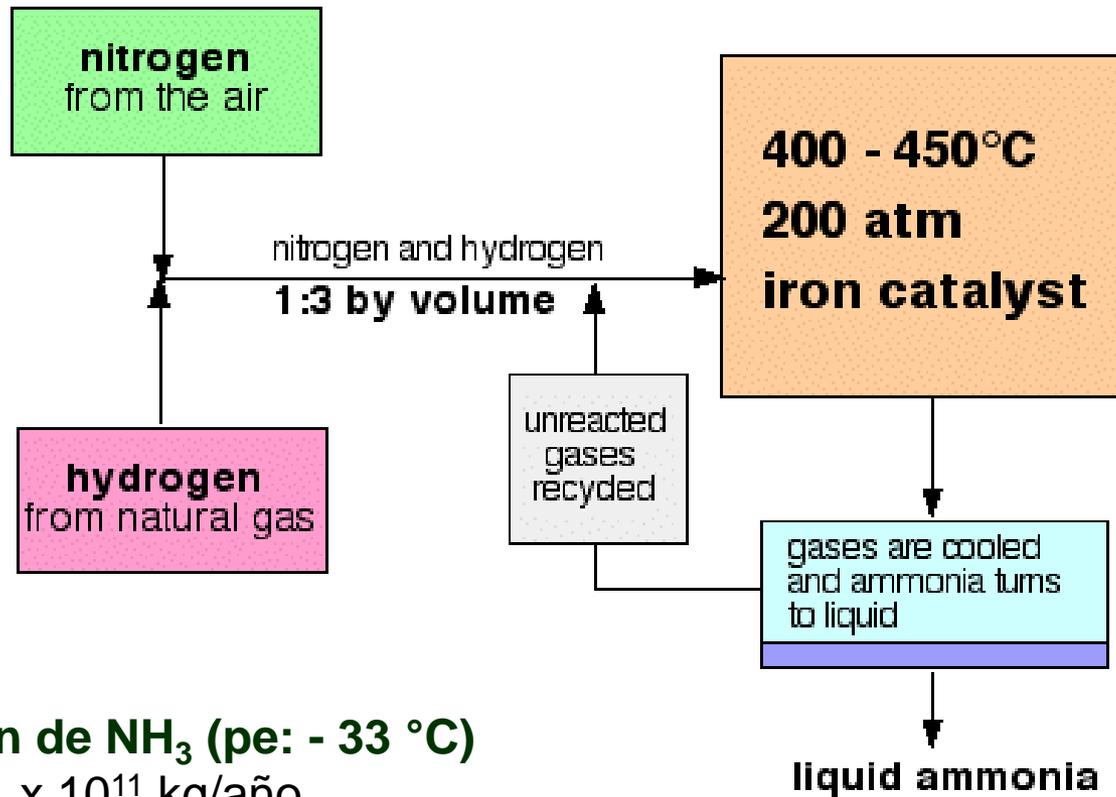
# El proceso de Haber-Bosch

- Una de las principales características del nitrógeno gaseoso elemental, que es el que está en el aire, es su relativa inactividad, lo que hace difícil convertirlo en compuestos nitrogenados.
- La molécula de nitrógeno N<sub>2</sub> tiene una energía de unión 946 kJ/mol
- El nitrógeno molecular tiene sus orbitales externos totalmente llenos; es muy estable y poco reactivo.
- Se compara su reactividad química a la de los gases nobles Ne y Ar.



- Los **problemas químicos de la síntesis de amoníaco** son:
- La reacción es muy lenta a temperatura ambiente y requiere temperaturas altas para velocidades útiles.
- La reacción es exotérmica y el aumento de la temperatura desplaza el equilibrio hacia los reactivos.
- La reacción implica una disminución del número de moléculas en la fase gaseosa y la presión desplaza el equilibrio hacia los productos
- La **solución** dada por F. Haber y C. Bosch, 1918) fue **alta temperatura** (400-450 °C), **alta presión** (200 atm), **catalizadores** metálicos (**Fe/Mo**), y **condensación** del NH<sub>3</sub> (35 °C a 14 atm; PE a 1 atm, -33 °C) con desplazamiento del equilibrio en la fase gaseosa.

# Fabricación industrial moderna de amoníaco



**Producción de  $\text{NH}_3$  (pe: - 33 °C)**

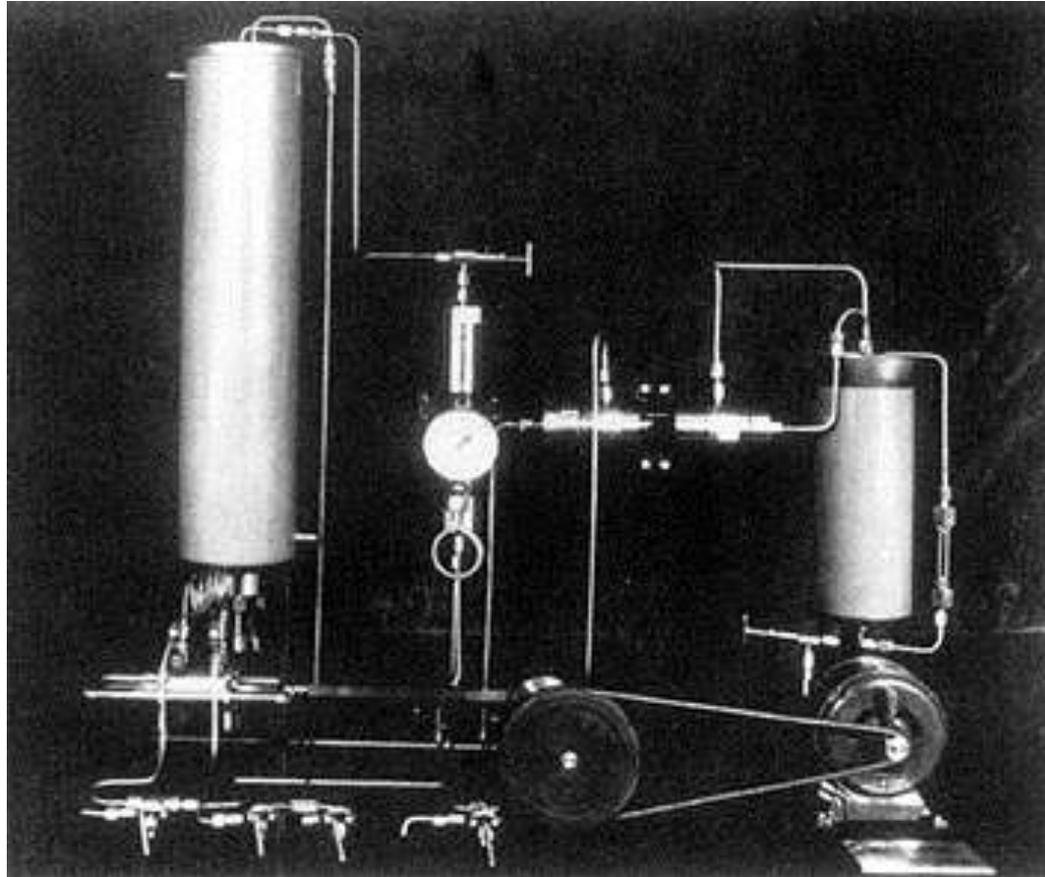
Industrial:  $1 \times 10^{11}$  kg/año

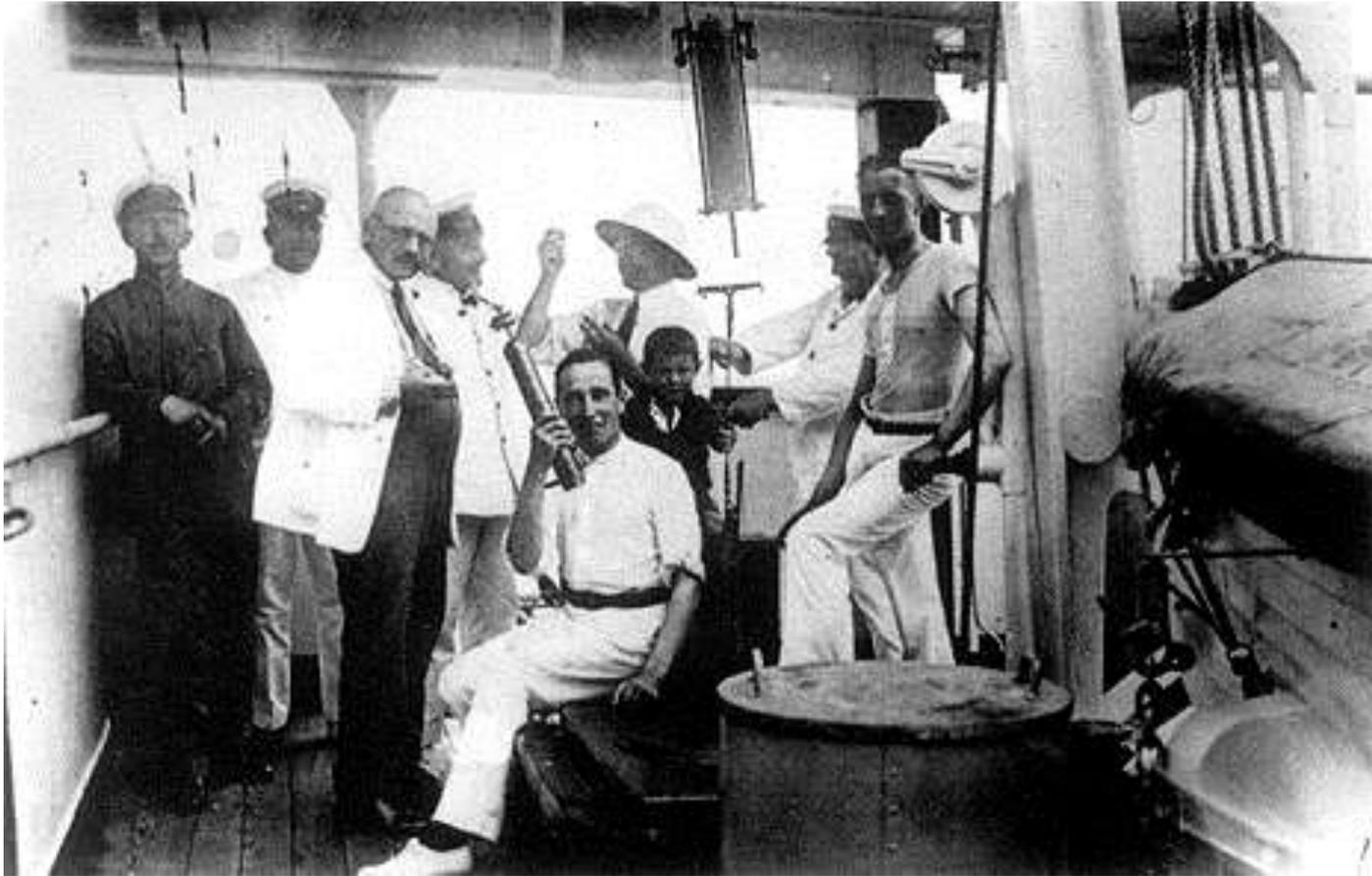
Biológica (fijación del nitrógeno):  $10^{11}$  kg/año

# Planta industrial



El aparato de laboratorio de Fritz Haber para sintetizar amoníaco.  
Premio Nobel de Química 1918. Profesor en la Universidad de Berlín y  
Director del Instituto de Física de Berlín (1904-1934).





Viaje de Fritz Haber a Buenos Aires (1925)

