



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

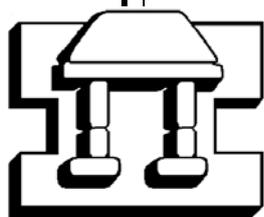
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA**

“PRODUCCIÓN FOTOBIOLOGICA DE HIDRÓGENO  
MEDIANTE MICROORGANISMOS (Bacterias  
fotosintéticas y microalgas verdes): UN MODELO  
TEÓRICO”.

**T E S I N A**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO  
PRESENTA:**

**DAVID CHICALOTE CASTILLO**



**IZTACALA**

DIRECTOR DE TESINA: M. EN I. FELIPE MUÑOZ GUTIÉRREZ

LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO, OCTUBRE 2005



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

***CON CARIÑO  
A MIS PADRES***

## *Agradecimientos*

Desde el inicio y hasta estos momentos, en que finalizó de escribir este trabajo, no cesa de girar en mi cabeza, el momento en que elegí abordar el tema sobre la producción biológica de hidrógeno. Si bien, el trabajo puede considerarse un tanto multidisciplinario, a mi parecer, en su mayoría es, aventurado. Aun así, este hecho me trajo muchas satisfacciones personales. De esta manera, sean cuales sean las virtudes de la presente tesina, se deben en gran parte a mis padres: Carlos Chicalote García y María Félix Castillo, por enseñarme que el esfuerzo va acompañado de bienestar para uno mismo, además de brindarme todo su apoyo, cariño y comprensión, a mis hermanos: Carlos, Roxana y Ricardo, por estar siempre atentos a mis intereses, estimulando e impulsándome a concluirlos, a toda mi familia por ser una guía de superación tanto personal como profesionalmente, por permitirme ayudar y/o aportar cuanto pueda. Agradezco muy de veras la hospitalidad recibida por parte del Instituto de Ingeniería de la UNAM, así como al M. en I. Felipe Muñoz Gutiérrez, por su interés, motivación y confianza en la dirección del presente trabajo, por sus comentarios críticos y estimulantes contrastes de opinión. Aprecio en gran medida la minuciosa atención que la M. en C. Martha Gaytan Herrera dispensó a este texto, así como a la Biol. María Dolores Hurtado, a la M. en C. Gloria Garduño Solorzano y a la M. en C. María Guadalupe Oliva Martínez. También agradezco a mis amigos de generación; a Itzel, quién me ha brindado todo su apoyo en las buenas y en las malas. Su sonrisa, esa alegría y su cariño, todo eso que conforma su esencia, me acompaña en el corazón. A Mago, por su carisma que aliviana las tensiones personales y escolares, que al último tiene un buen consejo. A Bety, por su amistad sincera, en la que estoy seguro siempre contar. Jane, con su constante desempeño demuestra: si uno quiere, puede hacerlo. Al chazz, con su atinado humor, no faltarán esas risas. A Isaias, al Bob, al Chava, por compartir buenos momentos y recordar viejos tiempos de la carrera. A mis amigos del CCH-Azcapo: El Ned, Miguel, Jaime y Felipe. Deseo también dar las gracias a la profesora Laura Cárdenas, su enseñanza desempeño un papel muy importante en la redacción de este texto.

<i>Índice</i>	<i>Pag.</i>
Presentación.....	5
Introducción.....	5
Antecedentes .....	9
Objetivos.....	14
Material y Método.....	15
Desarrollo del contenido	
Capítulo 1.	
El hidrógeno.....	16
Capítulo 2.	
Producción biológica de hidrógeno.....	23
Capítulo 3.	
Bacterias fotosintéticas productoras de hidrógeno.....	33
Capítulo 4.	
Fotobioreactores.....	37
Capítulo 5.	
Diseño del fotobioreactor.....	41
Capítulo 6.	
Planta prototipo.....	51
Discusión.....	57
Bibliografía.....	61

## **PRESENTACIÓN**

En la elaboración de la presente tesina de tipo: ensayo reflexivo o aproximativo para el estudio de un tema específico con perspectivas que apoyen al conocimiento del campo biológico, se aborda el uso de los microorganismos fotosintéticos tales como las algas verdes (*Chlamydomonas reinhardtii*) y las bacterias púrpuras sin azufre (*Rhodobacter sphaeroides*), que tienen la habilidad de aprovechar y convertir la energía solar en energía química. Basados en el proceso de fotosíntesis, ambos organismos son capaces de producir hidrógeno. De esta forma se produce un gas con fines energéticos, cuya utilización no produce contaminación. Se plantea un modelo de generación de hidrógeno a partir de un fotobioreactor híbrido tipo panel plano que trabaja en ciclos de luz–oscuridad natural, que es altamente eficiente por la participación durante el día y la noche de ambos microorganismos, así como el diseño de una planta prototipo de producción biológica de hidrógeno y un análisis económico donde se determina su viabilidad dependiente del hidrógeno.

## **INTRODUCCIÓN**

En las últimas dos décadas la sociedad ha mantenido un consumo energético indiscriminado tanto de recursos renovables como de los no renovables. Al utilizarlos se añade a la atmósfera un gran exceso de gases tipo invernadero como bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y metano (CH<sub>4</sub>), que se producen en la quema de los energéticos (Lucena, 1998). Estas actividades alteran los sistemas ecológicos afectando la biodiversidad y la relación entre sistemas, además de que se modifica nuestra calidad de vida (Toledo, 1988).

Se han buscado e impulsado alternativas de fuentes de energía cuyo uso no produzca emisiones contaminantes, con el enfoque dirigido hacia el uso de los recursos renovables de una manera sustentable. De este modo se pretende obtener la energía necesaria para las actividades humanas y racionalizar el uso de los combustibles fósiles. Existen diversos escenarios con respecto al tipo y desarrollo de nuevas energías, por mencionar algunas: solar, eólica, hidroeléctrica; con respecto al presente trabajo, energía a partir de hidrógeno (Piorno, 1997).

El hidrógeno es el elemento más simple de la naturaleza, de gran abundancia, ya que al ser componente del agua se encuentra presente en casi toda la superficie del planeta; también se encuentra en el aire y en pequeñas cantidades dentro de la corteza terrestre. El hidrógeno es un elemento que no presenta color, sabor y olor (Adler y Hinke, 2003).

El hidrógeno ha estado presente en la historia del hombre, funcionando directa e invisiblemente por medio de reacciones de fusión en el sol, en las combinaciones carbón-hidrógeno del petróleo, del gas natural y la muy importante reacción de fotosíntesis, la cual es responsable de la biomasa sobre la Tierra.

Los usos que tiene el hidrógeno en nuestros días son: en proyectos piloto como combustible líquido de automóviles, camiones y trenes, así también es empleado en conversión a electricidad mediante una celda de combustible, para calentamiento de ambientes interiores. En la industria se utiliza para hidrogenación de mantecas, aceites, margarina y jabón; en la producción de amoníaco para fertilizantes y polvos metálicos

para endurecer el acero inoxidable. En virtud de su peso, 18 veces menor que el aire, se emplea para enfriar generadores eléctricos; en la síntesis de procesos químicos y en la fabricación de nylon, poliuretano y vidrio (Deffis, 1999).

Los gases usados como combustibles, al mezclarse con el aire pueden formar una mezcla explosiva. El hidrógeno en su estado gaseoso es flamable cuando llega o rebasa la concentración límite de hidrógeno en el aire; entre 4% y 75%. En tanto que la concentración límite del gas natural en el aire va de un rango entre 5% y 15%.

La flamabilidad del hidrógeno con el aire permite crear diseños que optimicen el desempeño de la combustión, a la vez que se disminuye la energía de desperdicio. Por esta característica el hidrógeno es considerado como un combustible peligroso en caso de una fuga. Sin embargo la baja densidad del hidrógeno ( $0.09 \text{ kg/m}^3$ ) permite que este se disipe más rápido que un gas de alta densidad como el metano ( $0.72 \text{ kg/m}^3$ ).

Por otra parte, el hidrógeno también se considera como un energético limpio, pues su combustión produce únicamente vapor de agua que se incorpora al ciclo hidrológico, por lo que el tiempo de regeneración del hidrógeno es relativamente corto. De esta manera el hidrógeno no emite gases tóxicos como monóxido o dióxido de carbono a la atmósfera (Fanchi, 2004).

Lamentablemente cerca de 96% de la producción mundial del hidrógeno que se utiliza actualmente proviene de quemar una gran cantidad de combustibles fósiles, principalmente de gas natural, mediante el proceso de reformación catalítica, en el cual el metano reacciona con vapor de agua para obtener hidrógeno y dióxido de carbono (Vijayaraghavan y Mohd, 2004).

Por tal motivo, se trata de utilizar una fuente de energía limpia tanto en su origen (es decir, en su producción) como en su combustión. De esta manera se han propuesto métodos alternativos para la obtención de hidrógeno que no sean contaminantes del ambiente, de los cuales se pueden mencionar los siguientes:

- **Electrólisis.** Este método se basa en la descomposición de una sustancia en solución (como el agua), o en estado de fusión, a través de la cual se hace pasar una corriente eléctrica, provocando que los iones de hidrógeno y oxígeno se rompan y se dirijan hacia electrodos opuestos. Ambos elementos pueden ser almacenados por separado. La eficiencia teórica de la electrólisis es de 2.79 kW/h de electricidad por  $\text{m}^3$  de hidrógeno en forma gaseosa.
- **Termoquímicos divisibles en agua.** Es un multiproceso que cambia los valores químicos de disociaciones y asociaciones sometidas a altas temperaturas (700 a 1000 °C), el producto resultante se recicla en un sistema cerrado que descompone el agua en hidrógeno y oxígeno por separado. El inconveniente de este proceso, es que todavía es experimental.
- **Fotólisis.** Este método es utilizado para romper ligas moleculares con fotones. El agua puede ser descompuesta directamente por luz con un catalizador que absorbe la luz visible para romper enlaces de agua. Las aplicaciones de este método aun no demuestran una eficiencia en la conversión.

- Sistemas fotobiológicos . Consiste en la producción de hidrógeno mediante sistemas fotosintéticos de bacterias y algas verdes (Deffis, 1999).

La investigación sobre este último método ha tenido un gran interés en su desarrollo, pues se visualiza un gran potencial en la generación biológica de hidrógeno, siendo que este puede tener la capacidad de ser uno de los principales proveedores de esta energía alternativa. Además estos sistemas de producción biológica son considerados dentro de los generadores de energía limpia como los más viables, tomando en cuenta que se requiere de un bajo costo de inversión en su desarrollo y aplicación de los diseños.

Un requerimiento primordial para el desarrollo del método biológico es la energía solar, uno de los recursos más abundantes sobre la tierra que incide de manera constante sobre la atmósfera con una potencia aproximada de  $1.39 \text{ kW/m}^2$ . Pero la radiación solar disminuye conforme penetra en la atmósfera a causa de las moléculas y partículas libres en aire, por lo que solo la mitad de la radiación total es la que logra llegar al suelo y a las estructuras sobre él (Keidric, 1989).

El proceso metabólico para la producción del  $\text{H}_2$  varía entre los organismos. Para las algas verdes se utiliza un medio libre de azufre en el agua; de esta toman los electrones para formar el hidrógeno, mientras que para las bacterias fotosintéticas se usa un sustrato sin amonio y en ausencia de nitrógeno molecular, compuesto por carbohidratos o ácidos orgánicos como: glucosa, almidón, celulosa, acetato, malato, etc.

La formación de hidrógeno molecular a través de estos microorganismos fotosintéticos, se realiza por la acción de dos enzimas que funcionan en condiciones anaerobias durante el proceso de la fotosíntesis; la hidrogenasa, que se encuentra en las algas verdes y la nitrogenasa en las bacterias (Klass, 1998).

La producción de hidrógeno mediante microorganismos fotosintéticos se efectúa en fotobioreactores, que pueden ser planos o tubulares en su mayoría. Existen reactores con sistemas híbridos que utilizan bacterias no fotosintéticas y bacterias fotosintéticas y muy pocos reactores contemplan a distintos grupos de organismos como pueden ser las algas verdes y bacterias fotosintéticas. Este tipo de fotobioreactores híbridos pretende aumentar la producción de hidrógeno, que si sólo se empleará un monocultivo dentro del sistema.

Generalmente los estudios realizados para probar la eficiencia de conversión de luz solar a energía química mediante los microorganismos fotosintéticos dentro de estos sistemas de reactores, se lleva a cabo bajo iluminación artificial de lamparas de tungsteno o xenón, con la intención de simular la radiación solar natural, así como también de controlar la producción de  $\text{H}_2$ .

Sin embargo, es muy importante conocer el comportamiento y función del sistema del fotobioreactor, cuando este se encuentre bajo condiciones naturales, pues al final lo que se pretende es que se pueda aprovechar la energía solar. De este modo se despejarían dudas con relación al proceso de producción de hidrógeno mediante los microorganismos fotosintéticos, logrando así se continúe con la investigación y el desarrollo sobre este proceso que posteriormente pueda ser aplicado y utilizado como una fuente de energía alternativa.

En el diseño de fotobioreactores se deben contemplar características que: optimicen la exposición del cultivo de microorganismos sobre la incidencia de la fuente de radiación, ya sea artificial o natural, el control sobre los factores fisicoquímicos y una producción constante de hidrógeno.

El propósito de investigar en métodos biológicos que aprovechen la radiación solar, permitirá crear mecanismos que en conjunto con el diseño de bioreactores lleven a una producción comercial de gas hidrógeno, con la ventaja de que este tipo de energía puede ser almacenada para usos posteriores, de tal manera que logre sostener la demanda energética de la población (Akkerman y Janssen, 2002).

## ANTECEDENTES

Los siguientes trabajos han sido revisados y se presentan en este apartado, con la intención de que el lector se familiarice con la importancia y el desarrollo tecnológico alrededor de este simple elemento que es hidrógeno. Los estudios abajo expuestos sirvieron de guía para la elaboración de la presente tesina.

Weaver y colaboradores (1980) al realizar una compilación de trabajos sobre la fotoproducción biológica de hidrógeno, encuentran que las bacterias fotosintéticas son capaces de utilizar compuestos orgánicos o sulfurosos como dadores de electrones para dicha producción. También realizaron un estudio donde se experimento con el alga verde del genero *Scenedesmus*, la cual fue incubada en condiciones anaerobias y presencia de hidrogeno por varias horas en oscuridad, se observó que las células se adaptaban a estas condiciones y posteriormente producían hidrógeno.

Benemann (1997) revisa la viabilidad de las microalgas verdes sobre la producción fotobiológica de hidrógeno a partir de agua, es decir, la biofotólisis. Para dicha viabilidad se requiere de bioreactores de bajo costo en donde el cultivo de microalgas este totalmente expuesto a las condiciones de luz. En el estudio se sugiere mantener un cultivo alterno de algas en estanques, en el cual se produce biomasa con grandes cantidades de carbohidratos útiles para la biofotólisis, posteriormente el cultivo se deposita en bioreactores donde se lleva a cabo una producción constante de hidrógeno.

Ghirardi y Liping (2000) examinaron los procesos biológicos por los cuales el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* efectua la producción de hidrógeno. Se haya que uno de los procesos implica la separación temporal y espacial del hidrógeno y el oxígeno provenientes del agua. En una primera etapa las algas son manejadas en condiciones normales en donde producen carbohidratos como el almidón, posteriormente son llevadas a sistemas de fotobioreactores donde realizan la generación del gas hidrógeno mediada por la luz en condiciones anaeróbicas y sostenida, según los autores por los carbohidratos producidos y aculados por el alga verde.

Los investigadores sugieren un segundo proceso para producción de hidrógeno, en el cual el oxígeno y el hidrógeno se podrían generar simultáneamente, en este caso la hidrogenasa, enzima que se encarga de formar el hidrógeno, tendría que ser modificada molecularmente para que fuera tolerante al oxígeno y el almidón producido se utiliza de modo inmediato para la generación o producción constante de hidrógeno

Das y Veziroglu (2001) realizaron una revisión bibliográfica sobre investigaciones con respecto a la producción de hidrógeno mediante procesos biológicos. Ellos concluyen que los sistemas biológicos que participan en la generación de hidrógeno se pueden clasificar en: 1) Sistemas que realizan biofotólisis, ya sea del agua o de moléculas orgánicas y los grupos de organismos que participan son; algas verdes y cianobacterias. 2) Sistemas que realizan fotodescomposición de componentes orgánicos, efectuada por bacterias fotosintéticas. 3) Sistemas fermentativos, a partir de componentes orgánicos que son utilizados por bacteriás fotosintéticas y 4) Sistemas híbridos, donde se pueden emplear grupos distintos de microorganismos, que usualmente son bacterias fotosintéticas y fermentativas.

Laurinavichene y colaboradores (2002) modifican el proceso tradicional de privación de azufre para el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii*, en este proceso el cultivo de algas pasa por centrifugación, luego por un proceso de enjuague para eliminar al azufre contenido en el medio de cultivo, posteriormente el cultivo se trasladaba a un medio sin azufre. En este trabajo se prueban dos procedimientos de privación de azufre en el alga verde. El primero consta de una disolución del cultivo utilizado para que se desarrollen las algas, este paso se realiza hasta eliminar por completo el azufre. Un segundo método que fue más eficiente que el anterior, es un medio libre de azufre en donde se usa  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  en vez de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , de esta manera se logra sustituir de la molécula el azufre por el cloro, posteriormente las algas fueron depositadas en este cultivo y se observó que ellas podían producir el hidrógeno. Con este último proceso se puede efectuar un desarrollo en la producción de hidrógeno de manera económica y en un menor tiempo.

Dante y colaboradores (2004) trabajaron con la microalga verde *Chlamydomonas reinhardtii* bajo condiciones de estrés, se realizó una serie de cuatro experimentos que consistían en modificar el tiempo de exposición a los factores de iluminación y oscuridad en presencia o ausencia de aire. Los resultados fueron que en el experimento tres en donde la alga estaba sometida bajo condiciones de oscuridad por 48hrs sin aire produjo 1.3 ml de hidrógeno por litro de cultivo de algas, cantidad que superó a los demás experimentos. Los autores de este trabajo hacen notar que el resultado obtenido bajo dichas condiciones podría deberse a la participación de otros factores que se desconocen del metabolismo en la oscuridad del alga o también puede deberse por un incremento de almidón contenido en las células durante las primeras 24 hrs después de la privación de azufre, agregando así el autor que es posible que este polisacárido participe en regular la producción de hidrógeno.

Dante (2005) investigó la posibilidad de aplicar de manera directa la energía del hidrógeno producido por el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* mediante una celda de combustible. Esta celda de combustible fue utilizada en primer lugar como detector del gas hidrógeno que producía el alga, posteriormente el gas producido sería transformado en electricidad a través de la celda de combustible. En los resultados se obtuvo que 100 m<sup>3</sup> de medio de cultivo proporcionaron en promedio 240 W durante un periodo de 100 hrs. Basado en sus resultados el autor argumenta sobre mejorar la eficiencia de conversión de la energía solar a energía química de hidrógeno presente en el alga verde, de ser así se podrían obtener mejores resultados en dicha producción para ser aprovechada como electricidad.

Enseguida se presentan los trabajos que abordan estudios de la bacteria púrpura sin azufre *Rhodobacter sphaeroides*.

Miura y colaboradores (1997) experimentan con un sistema a escala de producción de hidrógeno mediante biofotólisis en ciclos de luz – oscuridad natural. Se utilizó a la microalga verde marina *Chlamydomonas MGA 161* y a la bacteria fotosintética marina *Rhodovulum sulfidophilum W-1S*. El sistema consistió de tres pasos; 1) Acumulación de almidón en el alga durante el día. 2) Fermentación por la alga en la noche para producir componentes orgánicos como ácido acético, etanol y glicerol y 3) Conversión de los ácidos orgánicos para producir hidrógeno mediante la bacteria fotosintética en el día. Se obtuvo una conversión de 80% de almidón a componentes orgánicos, pero con una muy

baja producción de hidrógeno por las algas durante la noche. La bacteria fotosintética sólo produjo H<sub>2</sub> en un 40% a partir de estos ácidos orgánicos.

Miyake y colaboradores (1987) realizaron un trabajo en el cual se utilizó iluminación artificial en ciclos de 12 horas de iluminación – oscuridad, que simulaba la radiación de la luz solar, estos métodos fueron probados en la bacteria fotosintética *Rhodobacter sphaeroides* RV para llevar a cabo la producción de hidrógeno. Como control se contaba con un fotobioreactor para exterior que se mantuvo trabajando durante un periodo de tres días en una ciudad de Japón y en el cual se observó una producción de hidrógeno de 14 a 28 l/m<sup>2</sup> por día, así también los investigadores notaron que este sistema depende directamente de la intensidad de la luz. En los fotobioreactores diseñados para laboratorio se demostró la posibilidad de producir hidrógeno mediante la simulación de la luz natural, pues se obtuvo 3.3 l/m<sup>2</sup> por día. El estudio hace referencia sobre la importancia en las investigaciones que consideren la luz solar en relación a la bioproducción de hidrógeno para llegar a establecer modelos de fotobioreactores aplicados en exteriores que incrementen su eficiencia.

Nakada y colaboradores (1999) realizaron una investigación donde utilizaron un fotobioreactor tipo panel plano, en el cual emplearon a *Rhodobacter sphaeroides* en la producción de hidrógeno, el gas obtenido se utilizó posteriormente en una celda de combustible para generar electricidad. El volumen del medio de cultivo en el fotobioreactor fue de 11 m<sup>3</sup>. El total de producción de hidrógeno fue de 140 l/m<sup>2</sup> bajo iluminación a 107 W/m<sup>2</sup> durante un periodo de 100 horas y se obtuvo una salida de electricidad de 80 W. La eficiencia de conversión de luz a electricidad fue de 1.9%. En el trabajo se menciona que al desarrollar estos sistemas biológicos que conviertan el H<sub>2</sub> a electricidad, se logrará producir una energía limpia y amable con el ambiente.

Kondo y Arakawa (2002) realizaron una investigación donde utilizaron un fotobioreactor tubular de doble capa, el cual está compuesto por dos cámaras separadas entre sí dentro del mismo sistema, en este reactor se trabajó con dos tipos distintos de bacterias fotosintéticas, cada especie se colocó en una cámara, estas fueron: *Rhodobacter sphaeroides* RV y su mutante MTP4. La bacteria mutante fue desarrollada para demostrar el incremento en la producción de hidrógeno. Ambos tipos de bacterias tienen características diferentes como la eficacia en la conversión de energía y el índice de producción de hidrógeno. Los resultados fueron que MTP4 produjo hidrógeno con mayor eficacia bajo condiciones de alta luminosidad, mientras que *Rhodobacter sphaeroides* RV lo hizo en condiciones de baja luminosidad. La modificación genética de los organismos productores de hidrógeno es una vía mediante la cual se pretende mejorar el proceso de generación de H<sub>2</sub>.

En un estudio realizado por Kokum (2002) sobre el metabolismo de *Rhodobacter sphaeroides*, se observó que esta bacteria púrpura sin azufre es capaz de llevar a cabo varias rutas metabólicas alternativas como es la respiración aeróbica, la fermentación y el fotoautotrofismo. La versatilidad en el consumo de sustratos es una característica distintiva de *R. sphaeroides*. Sin embargo no todos los sustratos pueden ser útiles a la hora de emplearlos en la producción de hidrógeno. La investigación sugiere que los sustratos convenientes para tal fin solo son algunos como el lactato, malato entre otros ácidos orgánicos y la glucosa, se cree que derivados de esta como la fructosa, almidón y celulosa también podrían ser utilizados como sustrato en la generación de este gas como energético.

Los siguientes trabajos revisados tienen como propósito; apoyar las investigaciones científicas con respecto al hidrógeno en lo que se refiere a las aplicaciones que este presenta, así como enfatizar la importancia social y política que se deriva de este simple elemento.

Contreras y colaboradores (1999) analizaron un sistema energético de tipo solar, basado en producir hidrógeno a través de electrólisis del agua mediante celdas fotovoltaicas. El modelo fue implementado en España con el objetivo de disminuir la importación de grandes cantidades de combustible fósil en un futuro cercano y poder exportar esta energía a otros países. Además los resultados de la gran eficiencia energética del hidrógeno están reduciendo y podrían eliminar los daños hacia el ambiente, proporcionando una mejor calidad de vida para las personas.

Jacobsson y Johnson (2000) publican un trabajo sobre la importancia de difundir las tecnologías encaminadas a producir energías renovables. Los autores refieren que aún es común pensar que existen pocas alternativas que puedan sustituir a los combustibles fósiles. La energía solar y eólica, así como los colectores solares, las diversas formas de aprovechar la biomasa y el uso de microorganismos son sólo algunos ejemplos de energía, sobre los cuales desde inicios de los años 90's, ha aumentado la investigación y aplicación. La participación tanto de instituciones públicas como privadas es un factor primordial, pues estas pueden incrementar la demanda o subsidiar este tipo de energías, también se establece una competencia que permite seguir creando estrategias que desarrollen y promuevan a estas energías renovables.

Manzini y colaboradores llevan a cabo un trabajo prospectivo sobre la condición de los gases tipo invernadero en México para el año 2025. El estudio está basado sobre tres escenarios, el primero (E1) se refiere a que México utilice combustóleo como lo hacía antes de los años 90's, en el segundo escenario (E2) se emplea gas natural como se está haciendo en los tiempos actuales y el tercer escenario (E3) consiste en utilizar una fuente de energía renovable, el hidrógeno. Los resultados fueron que E3 produjo 32% de CO<sub>2</sub> menos que E1, mientras que E2 produjo 19% menos. E3 también fue el mejor escenario en relación con la menor emisión de CH<sub>4</sub>, NO<sub>x</sub> y SO<sub>x</sub>. Los favorables resultados para E3 muestran que el uso de una energía renovable es la mejor opción de una política energética que reduzca las emisiones de gases invernadero hacia la atmósfera. Por último se sugiere que a partir de los resultados obtenidos, se revise el potencial técnico y económico sobre las fuentes de energía renovable a favor de tomar mejores decisiones políticas respecto a la energía y el ambiente que permitan un desarrollo sustentable.

Iwasaki (2003) menciona que el desarrollo de sistemas y de equipo de producción del hidrógeno utilizado como combustible es un factor primordial en la creación de una red mundial de la energía del hidrógeno. El proyecto de la World Energy Network (WENET) apunta a crear tecnologías que requieran establecer una red de energía del hidrógeno basada en fuentes renovables, como hidroelectricidad, solar, y del viento. Con esta idea, en 2001 finalizó el diseño de dos tipos de estaciones de combustible de hidrógeno (el primer diseño está basado en la reformación del gas natural, el segundo sobre uso de celdas de combustibles PEM que realizan la electrólisis del agua). En

ambos casos el hidrogeno de las estaciones de combustible es producido *in situ*. Para este caso el uso del hidrógeno como energético será una pronta realidad.

Sebastian (2003) hace referencia sobre la participación de México con respecto al hidrógeno como energético. El Centro de Investigaciones en Energías (CIE) de la UNAM tiene actividades que están encaminadas a la producción de hidrógeno por electrólisis y fotoelectrólisis, producción de biohidrógeno usando microorganismos fotosintéticos o fermentativos, así como materiales para el almacenamiento y la utilización del hidrógeno en productos químicos y en celdas de combustible. El centro de Investigaciones en Energías participa en un programa global, la IEA (International Energy Agency), con objetivos enfocados hacia la producción, almacenaje y utilización del hidrógeno.

Johnston y colaboradores (2004) mencionan que para mejorar la calidad del aire, las investigaciones deben estar dirigidas al uso del hidrógeno como fuente de energía para un futuro cercano. Las naciones que se encuentren desarrollando métodos para la producción de este combustible alternativo logran separarse de la dependencia del consumo de combustible fósil ya sea que este sea nacional o extranjero, al tiempo de asegurar fuentes de energía renovable que puedan ser vendidas a otros países. Hoy en día los investigadores trabajan en desarrollar tecnología que pueda usarse en el almacenamiento y distribución del hidrógeno, resolviendo estos problemas no hay duda que el hidrógeno sea la fuente de energía del siglo XXI.

Momirlan y Veziroglu (2004) refieren sobre la transición global que debe considerarse de un sistema energético de origen fósil a uno renovable como el hidrogeno. Cada vez se conocen más los beneficios ambientales acerca del uso del hidrógeno. Este puede ser utilizado en automóviles, aviones, fábricas, aparatos eléctricos, alimentación energética de una vivienda, sin contribuir a contaminar al planeta de las emisiones de carbono. Enfatizan que la energía solar es la manera más viable de producir hidrógeno a través de fuentes renovables no contaminantes.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Elaboración de un modelo teórico para la fotoproducción de hidrógeno por medio de microorganismos como microalgas verdes (*Chlamydomonas reinhardtii*) y bacterias fotosintéticas (*Rhodobacter sphaeroides*).

## **OBJETIVOS PARTICULARES.**

- Descripción breve de la biología de las microalgas verdes (*Chlamydomonas reinhardtii*) y de las bacterias fotosintéticas (*Rhodobacter sphaeroides*) a fin de conocer como llevan a cabo la producción de hidrógeno.
- Diseño de un fotobioreactor híbrido compuesto de microalgas verdes y bacterias fotosintéticas para la producción de hidrógeno.
- Propuesta de un sustrato que pueda ser utilizado por las bacterias fotosintéticas en el proceso de producción de hidrógeno.
- Estimar la cantidad del gas hidrógeno por unidad de sustrato que se puede obtener a partir del modelo.
- Estimar el tiempo de generación del gas hidrógeno en el fotobioreactor.
- Propuesta de una planta prototipo donde se lleve a cabo la fotoproducción biológica de hidrógeno.
- Indicar la capacidad de la planta prototipo de producción de hidrógeno.
- Indicar las condiciones de operación y métodos de separación del hidrógeno que empleará la planta experimental.
- Realizar un análisis económico de la planta experimental, para determinar su viabilidad dependiente del uso del hidrógeno.

## **MATERIAL Y METODO**

Consistió en la revisión bibliográfica de libros, revistas, artículos de congresos, artículos obtenidos de Internet y tesis, en relación con: El hidrógeno, su producción, almacenamiento y utilización. La biología de las microalgas verdes y bacterias fotosintéticas y como estas son capaces de producir hidrógeno. Además se consulto lo referente a bioreactores empleados para la producción biológica de hidrógeno.

Se analizaron los trabajos con respecto a los procesos metabólicos que permiten la producción de hidrógeno tanto de microalgas verdes como de bacterias fotosintéticas, con base en ello se pudo diseñar un bioreactor que utiliza la energía solar para la producción de hidrógeno mediante el uso de ambos microorganismos fotosintéticos.

Se revisaron los estudios sobre la bacteria púrpura sin azufre: *Rhodobacter sphaeroides*, que proporcionaron datos sobre los sustratos que la bacteria puede utilizar en la generación de gas hidrógeno, esta información sirvió para seleccionar y proponer un sustrato que pueda ser empleado en el fotobioreactor diseñado.

Una vez diseñado el fotobioreactor, se determino la cantidad de sustrato a utilizar para llevar a cabo la producción de hidrógeno.

Basados en los resultados de la literatura sobre la cantidad producida de hidrógeno por algas verdes y bacterias fotosintéticas, se realizó una estimación de la cantidad de hidrógeno por unidad de sustrato con la participación de ambas especies de microorganismos, dentro del fotobioreactor.

Considerando las condiciones a las que son sometidos estos organismos cuando se emplean en la generación de este energético, se llevó a cabo una estimación del tiempo de generación del hidrógeno.

Se planteó una planta prototipo, en donde la unidad de funcionamiento es el fotobioreactor diseñado. Se contemplaron: condiciones de operación, métodos de separación, almacenamiento y distribución del gas hidrógeno, necesarias en la planta experimental.

Se realizó un análisis de costos de la planta prototipo, a fin de determinar su viabilidad dependiente del uso del hidrógeno para su funcionamiento.

En la elaboración del presente trabajo se utilizó el software: Word, Excel, Maple y EES para la elaboración de textos, gráficos, dibujos, tablas y cálculos.

Para la presente tesina se ha decidido dividir el contenido del desarrollo en capítulos. Se comienza abordando lo referente al uso del hidrógeno como un combustible, posteriormente se explica como ambos microorganismos fotosintéticos (*Chlamydomonas reinhardtii* y *Rhodobacter sphaeroides*) llevan a cabo la producción de hidrógeno. El siguiente capítulo comprende el diseño del fotobioreactor diseñado, seguido de su funcionamiento y sustrato a utilizar. El diseño de una planta prototipo y su análisis económico están expuestos como últimos capítulos.

## CAPITULO 1

### ***EL HIDROGENO***

#### *1.1 EL HIDRÓGENO: UNA FUENTE DE ENERGÍA*

En el empleo del hidrógeno como un combustible, se requiere conocer sus propiedades físicas, con el propósito de establecer un manejo adecuado, el aprovechamiento óptimo del recurso y el diseño de medidas de seguridad en su utilización.

Una de las propiedades del hidrógeno en estado gaseoso, es que se disipa rápidamente en el aire debido a su baja densidad, ya que es catorce veces más ligero que este. Cuando se confina en un espacio cerrado, el hidrógeno puede detonar o explotar si está en un rango de concentración de 18% a 59% (en volumen) en el aire, comparativamente el metano explota si el rango de concentración es de 6.3% a 14% y la gasolina detona en un rango de 1.1% al 3.3%.

Para encender una flama de hidrógeno se requiere de una cantidad de energía, cercana a los 20 megajoules (MJ). El metano necesita un poco más de catorce veces de esta energía, esto es 290 MJ para encender una flama y la gasolina emplea 240 MJ.

Como se puede notar el hidrógeno resulta más peligroso en espacios cerrados que los combustibles antes mencionados; debido a su alta difusividad en el aire, se concentra rápidamente y requiere de poca energía de ignición para hacer combustión, de tal manera que hay que tener un mayor cuidado en su manejo. Por el contrario, si el hidrógeno se encuentra en áreas bien ventiladas, es casi imposible que se provoque una explosión por una chispa o una flama (Veziroglu, 1997).

En estado líquido el hidrógeno es un material muy frío (-253°C a 15 atm. de presión) y el contacto con el tejido del cuerpo humano provoca serias quemaduras, destruyendo el tejido casi como si se tratara de una lesión por flama (Selover, 1991).

El hidrógeno produce una flama casi invisible en el día, problema que se soluciona agregándole un colorante; su flama viaja mucho más rápido que la del metano. Una flama de hidrógeno asciende en promedio 2.75 m/s, mientras que la flama de la gasolina o el metano ascienden a 0.37 m/s. Distinto a las flamas de la gasolina, las flamas del hidrógeno irradian muy poca energía, lo que significa que el calor no se siente a la distancia (Hoffmann, 1981).

## 1.2 MÉTODOS DE PRODUCCIÓN DEL HIDRÓGENO

En el presente, cerca del 80% del abasto energético proviene de los hidrocarburos, petróleo y gas natural. Además los hidrocarburos son la fuente principal de producción de hidrógeno industrial.

La mayor proporción de hidrógeno empleado industrialmente es producido del gas natural (75%), petróleo y carbón (20%), a través de la conversión de hidrocarburos utilizando calor y vapor de agua; un pequeño porcentaje (5%) es manufacturado por la electrólisis del agua (Davis,1990).

Los métodos actuales de producción de hidrógeno se describen a continuación.

### 1.2.1 PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO A PARTIR DE HIDROCARBUROS

Existen distintos métodos para la obtención de hidrógeno a partir de los hidrocarburos, de los cuales se destacan los siguientes.

#### *Reformación catalítica.*

El proceso de reformación catalítica se basa en la reacción del metano (gas natural) con vapor de agua a temperaturas muy altas sobre un catalizador de níquel para formar hidrógeno y monóxido de carbono, como se muestra en la siguiente reacción:



Posteriormente la mezcla de gases pasa por una serie de reactores en los cuales se realiza la transformación de CO en CO<sub>2</sub> y un proceso de purificación al final del cual se alcanza una pureza del 99.9% de H<sub>2</sub> (Moore, 1983).

Para producir aproximadamente un metro cúbico de hidrógeno a temperatura ambiente (entre 15.5°C y 25°C) y a 1 atm de presión, es necesario casi medio metro cúbico (0.43 m<sup>3</sup>) de gas natural a las mismas condiciones, emitiéndose al ambiente en el proceso de reformado unos 815 gramos de CO<sub>2</sub>, 5.4 g de CH<sub>4</sub> y algunos miligramos de H<sub>2</sub>O.

La eficiencia del proceso de reformación catalítica, definida como el cociente del valor calorífico del hidrógeno producido con relación a la entrada de energía como materia prima, se encuentra entre 65 y 75% (Steinberg y Cheng, 1988).

Hoy día, gran parte del hidrógeno que se distribuye comercialmente se produce mediante el reformado de gas natural, este método, muy optimizado a lo largo de los últimos años, permite producir hidrógeno a un costo aproximado de 180 pesos por metro cúbico, valor promedio debido a que varía en función del costo del gas natural y del proceso de reformación catalítica (Praxair, México).

#### *Hidrógeno a partir de la oxidación parcial de hidrocarburos.*

Los residuos del proceso de la petroquímica son utilizados para la producción de hidrógeno y monóxido de carbono. En el proceso se utiliza un contenedor en donde se depositan los hidrocarburos que son sometidos a una oxidación previa con oxígeno puro y de esta manera se obtiene monóxido de carbono e hidrógeno que a su vez reaccionan con vapor de agua para convertirse en CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>, seguido de un proceso de purificación como en la reformación catalítica.

La eficiencia de la oxidación parcial es generalmente un 50% más baja que la reformación catalítica y el costo de producción es aproximado a 200 pesos por metro cúbico de H<sub>2</sub>, dependiendo de la disponibilidad de los residuos de la petroquímica (Moore, 1983).

#### *Hidrogeno por gasificación del carbón.*

La gasificación de carbón es un proceso termoquímico a alta temperatura en el cual un combustible sólido (carbón) reacciona con una limitada cantidad de oxígeno y vapor de agua (agentes gasificantes), para convertirse en combustible gaseoso, como el hidrógeno. En este proceso la mayor parte de la energía química del combustible sólido se le transfiere al combustible gaseoso y por eso es necesario quemar parte del combustible sólido.

Los gases producidos en la etapa de gasificación se conducen a un proceso de purificación donde se disminuyen los contenidos de azufre, partículas de cenizas y contaminantes, obteniendo así hidrógeno con una pureza del 97%. La eficiencia de este proceso es del 70%. El costo de producción se incrementa en un tercio con relación al costo de la oxidación parcial de hidrocarburos, esto es 266 pesos por metro cubico de gas H<sub>2</sub> (Steinberg y Cheng, 1988).

### 1.2.2 PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO A PARTIR DE AGUA.

#### *Hidrógeno por electrólisis.*

La electrólisis puede descomponer las moléculas de agua en sus elementos constituyentes por medio de energía eléctrica, es decir:



Al electrolizar el agua con soluciones de sal aumenta la producción de hidrógeno. La adición de una pequeña cantidad de sal como sulfato de sodio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) acelera el proceso electrolítico. La sal es un electrolito y proporciona iones que pueden fluir como una corriente.

La electrólisis es una reacción de oxidación – reducción (redox). La oxidación involucra la pérdida de electrones y la reducción es la ganancia de electrones. Las reacciones redox tienen lugar en dos electrodos: el ánodo y el cátodo. La oxidación ocurre en el ánodo donde se produce el gas oxígeno y la reducción en el cátodo, donde se produce el

gas hidrógeno. Una fuente de voltaje proporciona la diferencia de potencial necesario para iniciar y mantener la reacción redox.

Se calcula que se necesitan 94 kWh para generar unos 300 m<sup>3</sup> de hidrógeno, que posteriormente se almacenan en forma gaseosa en contenedores fijos. La eficiencia de éste proceso es del 65% al 70%. El costo aumenta un 25% con relación a la reformación catalítica (Baykara y Bilgen, 1988).

En la siguiente tabla se resume la eficiencia y el costo de producción del H<sub>2</sub> de los métodos anteriormente mencionados.

Método de producción de H <sub>2</sub>	Eficiencia	Costo por m <sup>3</sup>
Reformación Catalítica	65 – 75 %	\$ 267.50
Oxidación Parcial	32.5 – 35 %	\$ 294.20
Gasificación del carbón	70 %	\$ 338.33
Electrólisis	65 – 70 %	\$ 375.50

Tabla. 1.1. Resumen de la eficiencia y el costo sobre los métodos convencionales de la producción de hidrógeno

## 1.2 ALMACENAMIENTO, TRANSPORTACIÓN Y DISTRIBUCIÓN

El hidrógeno se puede almacenar en tres estados físicos: gas, líquido y sólido.

### *Hidrógeno gaseoso.*

El hidrógeno en la fase gaseosa se almacena convencionalmente en tanques cilíndricos a una presión de 405 atm. Estos tanques se fabrican de un acero especial, llamado tipo 4130, basados en una técnica donde se obtienen tanques sin soldaduras (ya que estas en general tienen una alta tendencia a verse afectadas por el hidrógeno), irrompibles y con paredes muy gruesas. También se fabrican tanques para aplicaciones especiales (a una presión de 495 atm.), hechos con metales muy resistentes reforzados para soportar la presión (como por ejemplo aluminio con fibra de carbón), excluyendo así cualquier posibilidad de infiltración de los átomos de hidrógeno al material. Se pueden suministrar tanques desde 5 m<sup>3</sup> hasta 50 m<sup>3</sup> de capacidad para el hidrógeno gaseoso.

El gas hidrógeno también se puede almacenar en contenedores fijos que deben estar diseñados en el interior con material de acero inoxidable y por fuera deben contar con cubierta de acero de alta resistencia; ambos requerimientos están pensados para soportar las altas presiones a las que es sometido al hidrógeno (1000 atm.). La capacidad de estos contenedores va de 3,000 m<sup>3</sup> a 10,000 m<sup>3</sup> (Kelley y Hagler, 1978).

El transporte del gas hidrógeno se efectúa por camiones, los cuales llevan una serie de tanques sobre una base de soporte o bien por medio de pipas tráiler de gas a alta presión (690 atm.), estas pipas tienen una capacidad promedio de 12,000 m<sup>3</sup>.

La estructura de los sistemas de distribución del hidrógeno es similar a la del gas natural con algunos cambios en ciertos parámetros como el diámetro, el nivel de presión y las distancias entre las estaciones de compresión debido a las propiedades físico químicas del hidrógeno gaseoso (Pottier *et al.*, 1988).

### *Hidrógeno en estado líquido.*

Un gas es considerado criogénico si puede cambiar a un estado líquido al reducir su temperatura a un valor muy bajo y a una presión baja. Normalmente los fluidos criogénicos son gases a temperatura y presión ambiente.

El hidrógeno líquido es la forma que presenta una densidad energética más alta en proporción al volumen, unas 800 veces más denso que en estado gaseoso. El proceso conocido como licuefacción se produce a  $-253^{\circ}\text{C}$  a 15 atm. Es un sistema que requiere un importante gasto energético, por eso el hidrógeno líquido debe conservarse en los llamados criotanques.

La obtención de temperaturas tan bajas se logra mediante recipientes de almacenamiento aislados por vacío llamados Dewar o bien mediante tanques de doble capa que contienen otro fluido criogénico intermedio como puede ser el nitrógeno líquido. Los recipientes a presión de hidrógeno líquido, son tanques de acero inoxidable con aluminio que se construyen en una gran variedad de tamaños, desde frascos de laboratorio de un litro hasta Dewars de 3 millones de litros en las aplicaciones aeroespaciales (McLanagan, 1992).

Para almacenamiento del hidrógeno líquido son necesarios sistemas de aislamiento que evitan la pérdida del líquido por evaporación. Algunos de estos sistemas son: vacío con escudo de nitrógeno líquido, vacío con espumas de plásticos y vacíos de multicapas.

El hidrógeno líquido se puede transportar por medio de camiones, ferrocarril y vía marítima.

El transporte por carretera se realiza en depósitos Dewar de 48,000 litros y 52,000 litros montados en camiones. Hay camiones especiales que son capaces de transportar depósitos de 80,000 litros. Todos estos depósitos están equipados con aislamiento multicapa con pérdidas por ebullición del 0.25% por día.

Las cisternas de ferrocarril para el transporte de hidrógeno líquido son depósitos Dewar horizontales de forma cilíndrica con una capacidad de 10,000 litros, sin embargo algunas cisternas especiales alcanzan la capacidad de 120,000 litros.

Las cisternas utilizadas en los buques de carga también son Dewar. Estos depósitos tienen una capacidad de 1 millón de litros.

El hidrógeno se transporta en forma líquida por una cuestión económica. Un camión cisterna transporta en hidrógeno líquido el equivalente de 15 a 30 camiones de hidrógeno gaseoso a presión. Posteriormente el hidrógeno se convierte a gas en la planta donde va a ser utilizado, la capacidad promedio de estos convertidores es de hasta 3000  $\text{m}^3/\text{h}$  (Pohl, 1995).

### *Hidrógeno en estado sólido.*

El almacenamiento de hidrógeno en depósitos especiales, metálicos e intermetálicos (llamados hidrides o hidruros), promete ser una alternativa efectiva al almacenamiento en gas y líquido, evitando los problemas de compresión de gas y bajas temperaturas.

El hidrógeno ofrece una ventaja cuando se encuentra en estado gaseoso, debido a su pequeña medida molecular y alta difusividad, el hidrógeno gaseoso puede penetrar la estructura de metales sólidos y ser almacenado y transportado combinado de este modo. Para muchos metales, tales como el titanio, la penetración es tan grande, que la concentración del hidrógeno por unidad de volumen es actualmente más grande que en el hidrógeno líquido.

Los hidruros son formados por simple exposición, es decir, se combina el metal con el hidrógeno presurizado. La formación hidruro es exotérmica y puede ser reversible por la aplicación de calor de desecho en el proceso de combustión; por lo tanto, puede ser usada para liberar el hidrógeno (Bruderly, 1990).

Si bien es cierto que el hidrógeno se puede almacenar en sus tres estados físicos, resulta que el método más conveniente y utilizado en nuestros días, es el hidrógeno gaseoso, debido a que no se presentan factores como: pérdida del energético durante el transporte, así como un costo elevado en el proceso de almacenamiento, transportación y distribución por el diseño de los métodos utilizados.

### *1.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL HIDRÓGENO*

#### Ventajas

- Es la fuente de combustible más abundante en el planeta.
- Existe poca o nula contaminación del aire. La combustión de  $H_2$  produce  $H_2O$  y calor.
- Los convertidores de energía existentes pueden cambiar con facilidad de la utilización de hidrocarburos a la de hidrógeno, frecuentemente con aumento en la eficiencia.
- El hidrógeno tiene una cantidad de energía más grande por unidad de masa que cualquier combustible químico. Un kilogramo de hidrógeno genera la misma energía que 2.1 kg. de gas natural o 2.8 kg. de gasolina. Si lo comparamos con el gas natural, entonces el hidrógeno aporta entre 33.33 kWh/kg y 39.41 kWh./kg. mientras que el gas natural menos de la mitad, es decir, entre 13.90 kWh/kg y 15.42 kWh/kg.

- El gas de hidrógeno es más barato de transportar por unidad de energía vía tubería que la electricidad, debido a que tiene una densidad menor que el gas natural y se puede bombear tres veces más flujo que si fuese gas natural.
- El hidrógeno puede ser almacenado en sus tres estados físicos (gaseoso, líquido y sólido), facilitando su uso en distintas aplicaciones (Perspectiva Ambiental, 2003).

#### Desventajas

- La producción de hidrógeno en el presente mantiene un costo más elevado que el petróleo y el carbón.
- El hidrogeno tiene una baja densidad energética con base a su volumen, esto es, entre 2.9 kWh/m<sup>3</sup> y 3.51 kWh/m<sup>3</sup>, mientras que el gas natural aporta entre 9.97 kWh/m<sup>3</sup> y 11.06 kWh/m<sup>3</sup>.
- El modo más fácil de producir hidrógeno, por electrólisis, es insuficiente.
- El hidrógeno requiere de técnicas especiales de manejo.
  - Falta por resolver algunos problemas en materia de estructura asociados con el uso del hidrógeno: corrosión, oxidación y erosión (Fanchi, 2000).

#### 1.4 FUTURO DEL HIDRÓGENO

El hidrógeno, como vector energético, es ya una realidad emergente con un amplio rango de posibilidades de uso, que cubre desde la utilización directa en equipos de combustión para generación combinada de calor y electricidad, hasta su utilización en pilas de combustible para propulsión eléctrica en el transporte (vehículos de emisión nula), o para generación de electricidad en los sectores residencial y servicios; en todas estas aplicaciones, el hidrógeno presenta la ventaja de no producir emisiones de gases como el CO, CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> como producto de su combustión.

Por el momento el hidrógeno no puede resolver el problema global de energía, su participación actual esta enfocada a disminuir los efectos adversos sobre el ambiente promoviendo su aceptación y beneficios en su aplicación. En el presente, el trabajo y experiencia que se tiene del hidrógeno muestra que puede ser usado como una energía adicional o combinada de la energía convencional (basada en los hidrocarburos) con el propósito de utilizar de forma gradual y masiva este energético ahora alternativo (Bockris *et. a.l*, 1994).

A largo plazo se espera que el hidrógeno proceda de fuentes renovables no contaminantes como la fotólisis o bien, la biofotólisis, en las que se use la energía proveniente del sol o de cualquier otra fuente para separar el agua en H<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>.

La creación de una economía del hidrógeno fomentaría la investigación sobre este tipo de energía alternativa, con el propósito de mejorar las tecnologías para la producción, almacenamiento, transportación y consumo del hidrógeno (Riffkin, 2002).

## CAPITULO 2

### **PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE HIDRÓGENO.**

#### **2.1 MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE HIDRÓGENO**

Basados en los sistemas biológicos, distintos grupos de microorganismos participan en la generación de hidrógeno, tales como algas verdes, cianobacterias, bacterias fotosintéticas y bacterias fermentativas.

Tabla 2.1. Microorganismos usados en la producción de hidrógeno (Das y Veziroglu, 2001).

Clasificación	Nombre de los microorganismos
Algas verdes	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Chlamydomonas moewusii</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella fusca</i>
Cianobacterias	<i>Anabaena azollae</i> <i>Anabaena variabilis</i> <i>Anabaena cylindrica</i> <i>Nostoc muscorum</i> <i>Nostoc spongiaeforme</i> <i>Westiellopsis profilica</i>
Bacterias Fotosintéticas	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> <i>Rhodobacter capsulatus</i> <i>Rhodobacter sulidophilus</i> <i>Rodopseudomonas sphaeroides</i> <i>Rodopseudomonas palustris</i> <i>Rodopseudomonas capsulata</i> <i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>Chromatium sp. Miami PSB 1071</i> <i>Chlorobium limicola</i> <i>Chloroflexu aurantiacus</i> <i>Thiocapsa roseopersicina</i> <i>Halobacterium halobium</i>
Bacterias Fermentativas	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Clostridium butyricum</i> <i>Clostridium pasteurianum</i> <i>Desulfovibrio vulgaris</i> <i>Magashaera elsdentii</i> <i>Citrobacter intermedius</i> <i>Escherichia coli</i>

Los microorganismos responsables en la producción de hidrógeno pueden ser clasificados comúnmente en dos grupos:

En el primero se encuentran los microorganismos fermentativos, comprende bacterias anaerobias facultativas u obligadas. La producción de hidrógeno por estas bacterias se efectúa en condiciones de oscuridad y requieren de un sustrato rico en carbohidratos para tal producción (Hawkes *et. al.*, 2002).

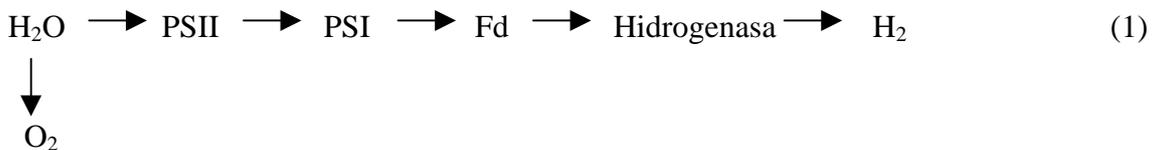
En el segundo grupo están los microorganismos fototróficos, donde se encuentran las algas verdes, capaces de utilizar la luz como fuente de energía y el bióxido de carbono como fuente de carbón y las bacterias fotosintéticas, consideradas fotoheterotróficas, ya que además de aprovechar la energía luminosa requieren de compuestos de carbono como fuente de carbón para llevar a cabo la producción de hidrógeno (Miura *et al.*, 1995)

Dentro de este ultimo grupo, existen procesos por los cuales se lleva a cabo la producción biológica de hidrógeno que son clasificados de la siguiente manera:

- 1.- Biofotólisis del agua por medio de algas verdes
- 2.- Fotodescomposición de compuestos orgánicos por bacterias fotosintéticas
- 3.- Sistemas híbridos usando grupos distintos de microorganismos.

1.- Biofotólisis del agua por medio de algas verdes

Este método usa el proceso de fotosíntesis de las algas verdes pero adaptado en parte a la generación de gas hidrógeno. La fotosíntesis involucra la adsorción de la luz por dos fotosistemas que trabajan en serie: El fotosistema II (PSII) que rompe la molécula del agua y libera oxígeno y el fotosistema I (PSI) en donde se reduce el CO<sub>2</sub> en forma de almidón. Ambos fotosistemas trabajan en conjunto y dos fotones provenientes de la luz (uno por fotosistema) son usados para remover cada electrón del agua y usarlo en la reducción del CO<sub>2</sub> o mediante la ferredoxina (Fd), un transportador de electrones que los lleva hacia la enzima hidrogenasa para la formación de hidrógeno, como se muestra en la siguiente reacción.



2.- Fotodescomposición de compuestos orgánicos por bacterias fotosintéticas

Las bacterias fotosintéticas utilizan la energía luminosa para romper los enlaces de carbono, liberando electrones que son transportados por la ferredoxina hasta la nitrogenasa que es la enzima encargada de formar el hidrógeno, como se muestra a continuación, usando acetato como ejemplo de sustrato:



La bacteria fotoheterótrofa es considerada como un sistema biológico óptimo para la producción de hidrógeno debido que posee las siguientes características:

- Alta producción teórica en la conversión de los sustratos.
- Utiliza un amplio espectro de luz.
- Puede consumir una gran variedad de sustratos.

### 3.- Sistemas híbridos usando grupos distintos de microorganismos.

Los sistemas híbridos enfocados en incrementar la producción de hidrógeno, se caracterizan por el uso de microorganismos pertenecientes a grupos taxonómicos diferentes. Hasta ahora, se han empleado sistemas híbridos comprendidos por bacterias fotosintéticas y bacterias no fotosintéticas. El proceso consiste en el uso de bacterias no fotosintéticas para degradar los carbohidratos usados como sustrato sin necesidad de luz por medio de digestión anaerobia, los productos obtenidos de dicha degradación son ácidos orgánicos como el acetato o el malato que pueden ser usados como fuente de electrones en la producción de hidrógeno realizada por las bacterias fotosintéticas (Hallen y Benemann, 2002).

Como se menciona arriba, existen diversos grupos de microorganismos capaces de generar hidrógeno, para fines del presente trabajo se ha elegido utilizar algas verdes y bacterias fotosintéticas, debido a que ambas aprovechan la energía solar para la generación de dicho combustible. Además, en ambos grupos se han enfocado las presentes investigaciones con respecto al tema, por lo que el proceso de producción de hidrógeno por algas verdes y bacterias fotosintéticas se conoce mejor que en bacterias fermentativas y cianobacterias.

Con respecto a las especies a utilizar para el diseño del fotobioreactor se considera a la especie de microalga verde: *Chlamydomonas reinhardtii*. En lo que se refiere a la bacteria fotosintética, se eligió una del grupo de púrpuras sin azufre: *Rhodobacter sphaeroides*. Cada especie ha sido el modelo de trabajo dentro de su grupo taxonómico en lo que se refiere a la fotoproducción biológica de hidrógeno.

## 2.2 MICROALGAS VERDES FOTOPRODUCTORAS DE HIDRÓGENO.

Clasificación Taxonómica del alga verde  
*Chlamydomonas reinhardtii* (Ortega M, 1984).

División: Chlorophyta  
Clase: Chlorophyceae  
Subclase: Chlorophycidae  
Orden: Volvocales  
Familia: Chlamydomonadaceae  
Genero: Chlamydomonas  
Especie: *Chlamydomonas reinhardtii*

Las algas verdes, como también se les conoce a las Chlorophyceae, son organismos unicelulares o coloniales, pueden ser móviles o no, las móviles tienen dos flagelos, aunque algunas de ellas pueden presentar cuatro o hasta más flagelos.

En general, estas algas pueden ser reconocidas por su color verde pasto muy característico, debido a la presencia de la clorofila *a* y *b*, así como por algunos carotenoides. Estos pigmentos están ubicados en los cloroplastos, de los cuales puede haber uno o más en cada célula (Whitford y Schumacher, 1984).

En el interior del cloroplasto puede hallarse una estructura en forma de grano llamada pirenoide, existiendo la posibilidad de encontrar más de uno dentro del cloroplasto; rodeando al pirenoide se encuentran los granos de almidón, un polisacárido utilizado como fuente de reserva energética para la célula. Dentro del cloroplasto también encontramos unas estructuras celulares llamadas tilacoides, que están agrupadas en forma de laminas o granas (empaques columnares de tilacoides conectados unos con otros).

Alrededor del 90% de las especies de las Chlorophyceas son de agua dulce, el restante 10% son grupos planctónicos que viven en agua salada. Algunos organismos pueden vivir en los dos ambientes, entre ellos se encuentran las Chlamydomonas.

Esta división incluye algas planctónicas, que habitan en lagos donde el agua no es muy clara y pueden llegar a crecer en gran número, formando una capa de un par de centímetros en las aguas donde se desarrollan. Otras clorofíceas viven en el bentos, creciendo fijadas a rocas u otro tipo de sustrato sobre la costa, generalmente estas algas son macroscópicas. En ocasiones las algas verdes llegan a cubrir totalmente las rocas donde se encuentran fijadas.

El orden Volvocales está conformado por células flageladas y móviles. Las algas comprendidas en este orden viven exclusivamente en agua dulce y abundan en aguas con alto contenido de componentes nitrogenados (Van der Hoek *et. al.*, 2002).

Las algas verdes de la familia Chlamydomonadaceae y las del género Chlamydomonas son organismos unicelulares en forma de huevo o elipsoidales o esféricos. Poseen dos flagelos iguales, que surgen de la papila apical localizada al final del extremo anterior de la célula, la cual está rodeada por una membrana plasmática, exceptuando en donde emergen los flagelos. Las células de este género poseen un largo cloroplasto comúnmente en forma de copa y en el interior de este se encuentra localizado el estigma de color rojizo, también llamado mancha ocular. Estas algas verdes son frecuentemente abundantes en charcos, estanques o zanjas, particularmente entre plantas acuáticas; también se pueden encontrar en suelos húmedos y en capas superficiales de la nieve (Pentecost, 1984).

Las Chlamydomonas presentan reproducción asexual. En cual inicia cuando la célula se encuentra en reposo y se deshace o retrae los flagelos. En la siguiente fase, el plasma celular empieza a dividirse en 2, 4, 8 o 16 plasmas hijas o iguales dentro del alga. Posteriormente estos plasmas desarrollan una pared y flagelos propios, entonces son liberados del interior del alga para desarrollarse como organismos individuales en un medio líquido.

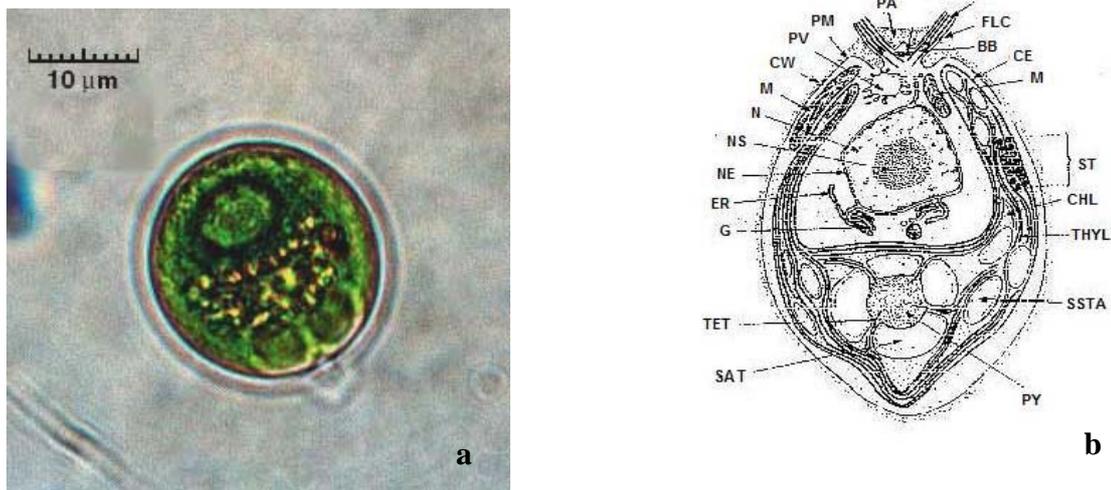


Figura 2.1. a) Imagen a microscopio óptico 100x de *Chlamydomonas reinhardtii* <http://personal.telefonica.terra.es/web/ayma/atlas.htm>. b) Sección longitudinal basada en observaciones de microscopio electrónico de *Chlamydomonas reinhardtii*, ( por las siglas en inglés) BB: cuerpo basal, CE: envoltura del cloroplasto, CHL: cloroplasto, CW: pared celular, ER: retículo endoplasmático, FL: flagelo, FLC: canal flagelar, G: cuerpo de golgi, M: mitocondria, N: nucleo, NE: envoltura nuclear, NS: nucleolo, PA: papila apical, PM: membrana plasmática, PV: vacuola contráctil, PY: pirenoide, SSTA: almidón en estroma, ST: Estigma o mancha ocular, STA: granos de almidón alrededor del pirenoide, TET: extensión tubular del tilacoide dentro del pirenoide, THYL: tilacoide (Van der Hoek *et al.*, 2002).

El principio de la formación del hidrógeno a través de las microalgas verdes esta basado en el proceso de fotosíntesis, el cual se explica a continuación.

### 2.3 FOTOSÍNTESIS EN MICROOALGAS VERDES

Para que la energía luminosa pueda ser utilizada por los seres vivos, primero debe ser absorbida y aquí es donde intervienen los pigmentos. Un pigmento es cualquier sustancia, o para el proceso de la fotosíntesis, una molécula que absorba luz. La clorofila es un pigmento que absorbe luz en longitudes de onda violeta, azul y rojo; dado que refleja la luz verde parece verde. Diferentes pigmentos absorben energía luminosa a distintas longitudes de onda.

La clorofila *a* es el principal pigmento involucrado directamente en la transformación de la energía luminosa en energía química. Las células fotosintéticas además contienen otro grupo de pigmentos que absorben luz, como la clorofila *b* y los carotenoides, que son rojos, anaranjados o amarillos. Tanto la clorofila *b* como los carotenoides pueden absorber longitudes de onda diferentes de las que absorbe la clorofila *a* (Curtis, 2000).

La fotosíntesis se lleva a cabo en los cloroplastos, grandes organelos hallados en la parte interior de la microalga. Los cloroplastos están limitados por dos membranas, la membrana externa y la membrana interna, que no participan de manera directa en la fotosíntesis, pues no contienen clorofila. Una tercer membrana, la tilacoidal, es el sitio de la fotosíntesis. En cada cloroplasto la membrana tilacoidal constituye una lámina única interconectada, que forma numerosas y pequeñas vesículas aplanadas, los tilacoides, que comúnmente se disponen en pilas denominadas granas. El espacio dentro de todos los tilacoides constituye un solo compartimento continuo, la luz tilacoidal.

La absorción de la energía luminosa y su conversión en energía química tiene lugar en complejos proteicos, llamados fotosistemas ( II y I, respectivamente), ubicados en la membrana tilacoidal. Un fotosistema posee dos componentes íntimamente vinculados: un centro de reacción y un complejo antena.

El centro de reacción consiste en un complejo de proteínas y un par especial de moléculas de clorofilas *a* que captan la energía solar convirtiéndola en energía química. Son dos centros de reacción que están involucrados en el proceso de la fotosíntesis. El P680 en el fotosistema II o PSII y el P700 en el fotosistema I o PSI (los nombres de los centros de reacción están basados en la longitud de onda que absorben los pigmentos de clorofila).

El complejo antena, importante para el aprovechamiento de la luz, consiste en agrupaciones de varios cientos de moléculas de clorofila unidas entre sí por proteínas que las fijan fuertemente sobre la membrana tilacoidal. En cada complejo también existen cantidades variables de pigmentos accesorios, los carotenoides, que se hayan localizados en cada complejo.

Dentro del complejo antena hay varias proteínas cuya función es mantener las moléculas de pigmento en la orientación y posición precisas óptimas para la absorción de la luz y la transferencia de energía (Paniagua y Nistal, 1999).

Cuando una molécula de clorofila del complejo antena es excitada, la energía es rápidamente transferida desde una molécula a la otra, mediante transferencia energética por resonancia, hasta que alcanza al par especial de clorofilas del centro de reacción. Por lo tanto cada complejo antena actúa a modo de “embudo”, que recoge la energía luminosa y la dirige hacia un único centro de reacción específico, donde se utiliza con eficiencia.

La absorción de un cuanto de luz de 680 nm de longitud de onda por el PSII hace que una molécula de clorofila *a* entre en un estado excitado, haciendo que un electrón se mueva desde el centro de reacción P680 hacia un aceptor plastoquinona ( $Q_B$ ) en la superficie estromal; la carga positiva resultante en P680 extrae electrones del  $H_2O^{**}$  para formar  $O_2$ , que se difunde hacia el exterior, y protones, que permanecen en la luz tilacoidal y contribuyen a la fuerza protón- motriz para generar las moléculas de ATP (Alberts *et. al.*, 1996).

Después de que P680 absorbe un segundo fotón, la  $Q_B$  acepta un segundo electrón y capta dos protones del espacio estromal para generar quinona reducida ( $QH_2$ ). Esta última se disocia de su sitio de unión, en el centro de reacción del PSII y es remplazada por  $Q$  oxidada. La  $QH_2$ , se difunde al azar en la membrana tilacoidal hasta que encuentra su sitio de unión en el lado luminal del complejo citocromo b/f, en donde libera sus dos electrones y sus dos protones hacia la luz tilacoidal, estos protones se agregan a la fuerza protón-motriz, impulsando así el proceso de síntesis de ATP en el estroma.

La transferencia de electrones desde el PSII hacia el PSI requiere plastocianina, una pequeña proteína que funciona como un transportador electrónico soluble, ya que los

dos fotosistemas están separados espacialmente por la membrana tilacoidal. Entonces la plastocianina se difunde en la luz tilacoidal y transporta el electrón al P700 en el PSI.

Como en el PSII, la absorción de un fotón por P700 del PSI conduce a la extracción de un electrón. La clorofila P700 oxidada resultante es reducida por un electrón transferido desde el PSII a través de la plastocianina. El electrón cedido en la superficie luminal por la P700 se mueve hacia la superficie estromal de la membrana tilacoidal, en donde es aceptado por la ferredoxina, una proteína de hierro-azufre (Fe-S). Los electrones liberados por el PSI son transferidos desde la ferredoxina a través del transportador de electrones FAD, hasta el  $\text{NADP}^+$  para formar, junto con un protón captado desde el estroma, la molécula reducida NADPH, que se utiliza como fuente de energía y poder reductor, respectivamente, para impulsar la transformación de  $\text{CO}_2$  en almidón (Larkum *et al.*, 2003).

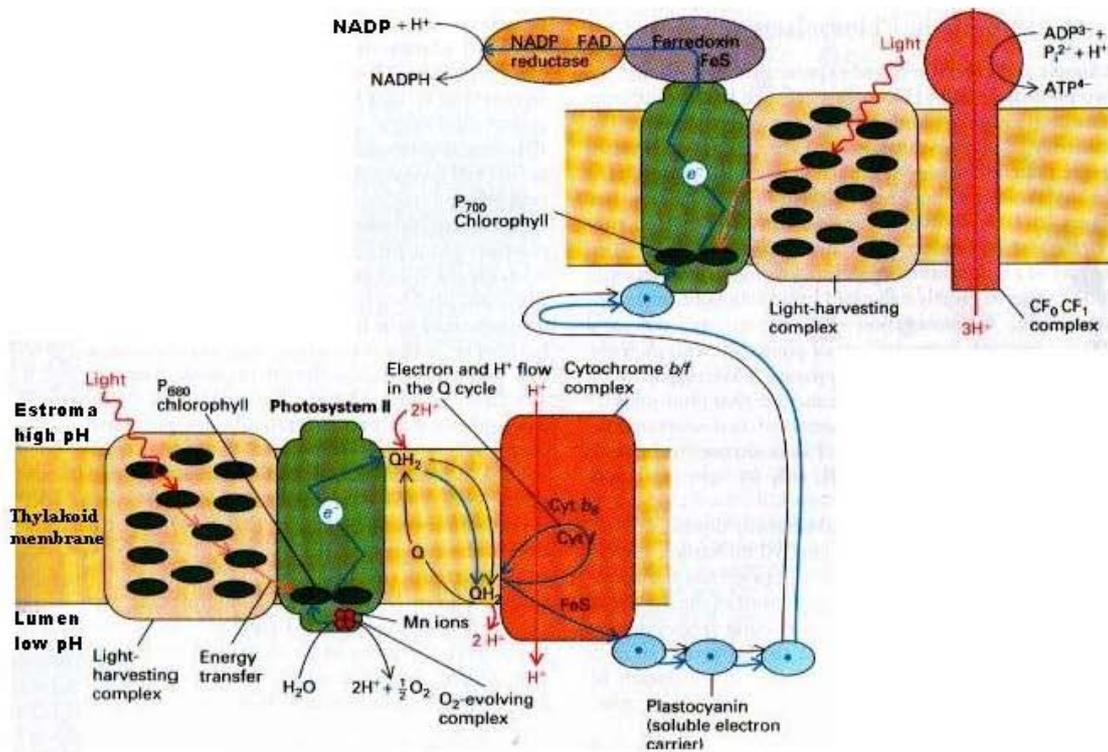


Figura 2.2. Resumen del proceso de la fotosíntesis en el alga verde que utiliza dos fotosistemas, el PSII y el PSI, durante el flujo electrónico lineal (Lodish *et al.*, 1999).

\*\* El PSII contiene dos clorofilas de centro reactivo, otras dos clorofilas, dos feofitinas, dos quinonas (llamadas  $Q_A$  y  $Q_B$ ) y un átomo de hierro no hemo. Estas moléculas están unidas a dos proteínas de PSII llamadas D1 y D2. Cuando el PSII absorbe un fotón con una longitud de onda de 680 nm, desencadena la pérdida de un electrón de una molécula de clorofila a  $P_{680}$  por lo que se genera  $P_{680}^+$ .

La escisión del  $\text{H}_2\text{O}$ , que provee los electrones para la reducción de  $P_{680}^+$  es catalizada por un complejo de tres proteínas extrínsecas (33,23 y 17 kDa) que integran el complejo

productor de oxígeno. Este complejo contiene cuatro iones manganeso (Mn) al igual que iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Ca}^{2+}$  unidos.

Los iones de Mn unidos al complejo productor de oxígeno realizan un ciclo a través de cinco estados de oxidación diferentes,  $\text{S}_0$ - $\text{S}_4$ . En este ciclo  $\text{S}$ , un total de dos moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  se escinden en cuatro protones, cuatro electrones y una molécula de  $\text{O}_2$ . Los electrones del  $\text{H}_2\text{O}$  son transferidos de a uno por vez, a través de los iones Mn y una cadena lateral de tirosinas cercada (Z en la figura 2.3.) en el complejo D1, al centro de reacción con  $\text{P}_{680}$ , en donde regeneran la clorofila reducida (Lodish *et al.*, 2003).

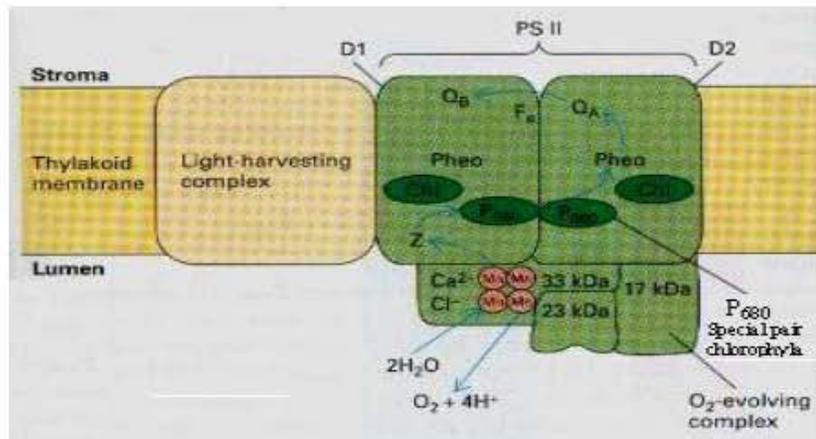


Figura 2.3. Flujo electrónico a través del centro de reacción del PSII de la membrana tilacoidal. Los electrones provienen de la oxidación del agua por complejos proteicos (Lodish H. et al, 1999).

#### 2.4 FOTOPRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO.

La habilidad del alga verde de generar fotosintéticamente hidrógeno molecular fue descubierta a principios de 1940 por Hans Gaffron, quien observó que bajo condiciones anaerobias en oscuridad, el alga verde puede usar el  $\text{H}_2$  como donador de electrones en el proceso de fijación de  $\text{CO}_2$  o desarrollar hidrógeno en condiciones de luz. Las observaciones de Gaffron se han extendido a varias especies más de algas, entre ellas *Chlamydomonas reinhardtii* y *Scenedesmus obliquus* entre otras (Gaffron y Rubin, 1942)

La producción de hidrógeno por medio del alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* requiere de un periodo de minutos a un par de horas en condiciones de anaerobiosis en oscuridad. Estas adaptaciones aparentemente inducen la biosíntesis o activación de una enzima, la hidrogenasa, la cual realiza una reacción química reversible en donde reduce los protones ( $\text{H}^+$ ) a hidrogeno molecular. Esta se localiza y lleva a cabo su función en el estroma del cloroplasto en el interior del alga verde (Melis y Happe, 2001).

La hidrogenasa es una enzima muy sensible al oxígeno; una concentración  $<2\%$  de este gas ocasiona su desactivación y por consiguiente impide se lleve a cabo el proceso de producción de hidrógeno. La privación del nutriente azufre en el alga verde causa una inhibición reversible en la actividad de la producción de oxígeno durante la fotosíntesis.

La falta de azufre en el medio de crecimiento afecta de manera negativa la biosíntesis de proteínas D1/33 kDa provocando un desacoplamiento en las funciones de oxidación del agua. Esta privación de azufre reduce la actividad fotoquímica del PSII ocasionando que la cantidad de oxígeno disminuya y sea consumido en el proceso de la respiración del alga. Por lo tanto, se obtiene un cultivo de algas en condiciones anaerobias en donde se puede efectuar la producción de hidrógeno (Happe *et al.*, 2002).

El proceso de privación de azufre con producción de hidrógeno se mantiene por un periodo de 60 horas aproximadamente, al parecer es un evento reversible y reproducible en los cultivos de *C. reinhardtii*. Posteriormente las algas vuelven a condiciones normales de fotosíntesis, donde se genera el almidón, el cual se cree que sostiene la producción de hidrógeno. Después el cultivo de algas regresa de nuevo a condiciones anaerobias para continuar con dicha producción (Melis *et al.*, 2002).

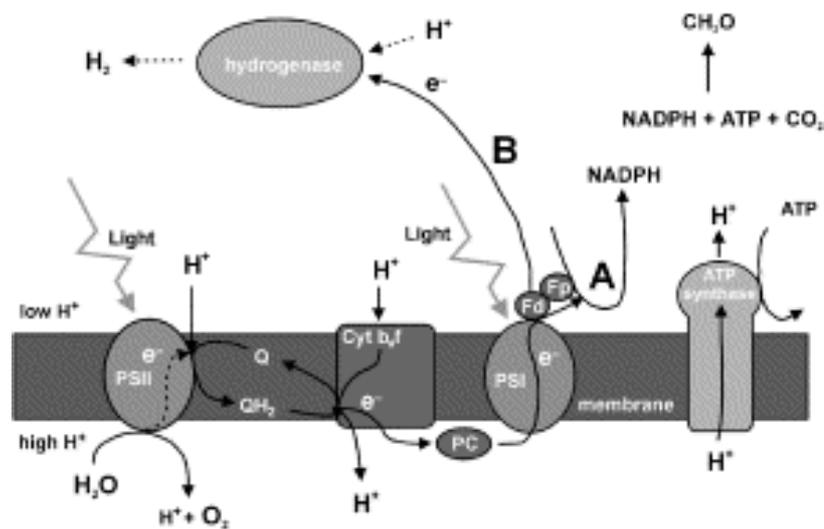


Figura 2.4. Proceso de producción de hidrógeno por *Chlamydomonas reinhardtii* (Akkerman *et al.*, 2002).

Entonces, el proceso de producción de hidrógeno fotosintético emplea los electrones generados por la oxidación del agua en el fotosistema II (proceso también llamado “biofotólisis”). Con la energía luminosa estos electrones son transferidos a través de la membrana tilacoidal por la cadena transportadora de electrones hasta la ferredoxina, quien es el donador fisiológico de electrones para la hidrogenasa, que se encarga de combinar estos electrones con protones ( $H^+$ ) del estroma para formar y liberar el hidrógeno molecular ( $H_2$ ). Durante este proceso también se genera ATP, asegurando así las funciones en el interior de la célula.

Además la ausencia de  $CO_2$  favorece la producción de  $H_2$  mediada por la luz, debido a que los electrones normalmente usados para la fijación del bióxido de carbono son empleados en el proceso de generación de gas hidrógeno (Melis, 2002).

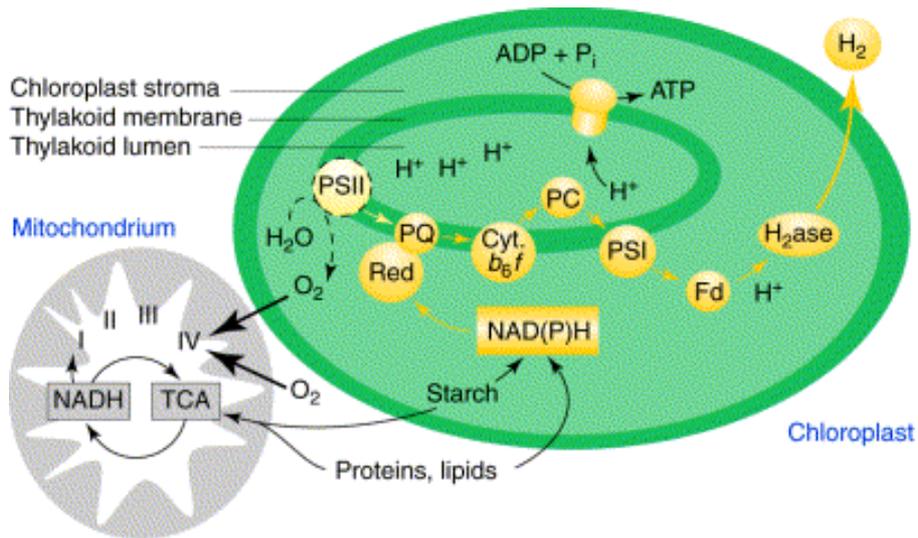


Figura 2.5. Esquema general de producción de hidrógeno en la célula del alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* (Happe *et al.*, 2002)

### 2.5 PRODUCCIÓN SIMULTANEA DE HIDRÓGENO Y OXÍGENO.

La fotoproducción simultanea de hidrógeno y oxígeno a partir del agua en el alga verde depende de la tolerancia de la hidrogenasa al oxígeno. Existen mutantes procariontes que contienen hidrogenasas que toleran la presencia del oxígeno, se ha observado que estas enzimas son susceptibles a manipulación genética con respecto a la tolerancia del oxígeno. El objetivo de este método es generar individuos mutantes de *Chlamydomonas reinhardtii* que permitan la producción de hidrógeno bajo condiciones aeróbicas. Este proceso podría ser superior en cuanto a producción, costo y eficiencia, ya que el hidrógeno se produciría continuamente, a comparación del método actual. Sin embargo este método se encuentra contemplado como una propuesta que esta siendo investigada (Ghirardi, 2000).

## CAPITULO 3

### 3.1 BACTERIAS FOTOSINTÉTICAS FOTOPRODUCTORAS DE HIDRÓGENO

Clasificación taxonómica de la bacteria púrpura sin azufre  
*Rhodobacter sphaeroides* (Garrity et al., 2001).

Filum: Proteobacteria  
Clase: Alphaproteobacteria  
Orden: Rhodobacterales  
Familia: Rhodobacteraceae  
Genero: *Rhodobacter*  
Especie: *Rhodobacter sphaeroides*

Dentro del mundo de los microorganismos existen dos tipos de procesos fotosintéticos bien diferenciados. Uno de ellos se encuentra en las algas verdes y en cianobacterias: genera oxígeno, emplea clorofila a, presenta dos fotosistemas y utiliza el agua como dador de electrones. El segundo proceso no genera oxígeno, presenta pigmentos ligeramente diferentes, las bacterioclorofilas, poseen solamente un fotosistema y no emplea H<sub>2</sub>O como dador de electrones. Este proceso es típico de las bacterias fototrofas o fotosintéticas (bacterias verdes y bacterias púrpuras) que realizan la fotosíntesis en condiciones estrictamente anaerobias (Stolp, 1996).

Como se menciona arriba, las bacterias fotosintéticas se diferencian de las cianobacterias y de los fotosintetizadores eucariotas por no utilizar el agua como fuente de electrones ni producir oxígeno. En la reacción luminosa de la fotosíntesis de las bacterias púrpuras no se produce NADPH directamente.

Las bacterias fotosintéticas no pueden reducir el NAD<sup>+</sup> directamente durante la reacción luminosa. Para sintetizar NADH o NADPH, las bacterias púrpuras y verdes deben usar dadores de electrones tales como el hidrógeno, el sulfuro de hidrógeno o compuestos orgánicos que tienen potenciales de reducción más negativos que el agua y que por tanto, son más fáciles de oxidar (son mejores dadores de electrones), cuando utilizan compuestos en azufre forman gránulos de este elemento que acumulan en el interior de la célula. Las bacterias verdes del azufre depositan los gránulos de azufre fuera de sus células

La bacterioclorofila de las bacterias fotosintéticas tiene máximos de absorción en longitudes de onda más largas. Debido a que estas bacterias crecen en zonas anaerobias profundas de los hábitats acuáticos, no son capaces de utilizar con eficiencia partes del espectro visible que usan normalmente los organismos fotosintéticos. Los pigmentos de la bacterioclorofila pueden absorber luz en la región del rojo lejano, que no utilizan los otros microorganismos fotosintetizadores (Pares y Juarez, 1997).

Las Rhodobacteraceae incluyen representantes que parecen tener un metabolismo muy flexible: todos ellos pueden utilizar sustratos orgánicos como dadores de hidrógeno para la fotosíntesis, pero algunos de ellos pueden utilizar también compuestos reducidos de azufre. Además, pueden prescindir de la luz y crecer aeróbicamente en la oscuridad en función de la materia orgánica presente en el medio (Atlas, 2001).

Las bacterias púrpuras sin azufre del genero *Rhodobacter* pueden ser móviles o no, las móviles presentan flagelos polares, estos organismos utilizan la fotosíntesis anoxigénica. El sistema fotosintético esta contenido en complejos de membrana de forma circular o vesicular, que se continua con la membrana plasmática. La célula se divide por fisión binaria, de la cual se producen células en cápsula o en forma de cadena.

Las bacterias púrpuras sin azufre son extraordinariamente flexibles en cuanto a la fuente de energía que utilizan. Normalmente crecen de forma anaeróbica como microorganismos fotoorganoheterotrofos; esto es, que captan energía lumínica y utilizan moléculas orgánicas como fuente de electrones y carbono. Aunque reciben el nombre de bacterias sin azufre, algunas especies pueden oxidar niveles muy bajos, no tóxicos de sulfuro a sulfato, crecer de forma aeróbica, aunque no oxidan azufre elemental a sulfato. En ausencia de luz, las bacterias púrpuras sin azufre pueden crecer de forma aeróbica como quimioorganoheterotrofos.

La morfología de estas bacterias fotosintéticas es muy variable, pueden ser espirales, con forma de bacilo, semicirculares o circulares e incluso pueden formar yemas. Debido a su metabolismo, este tipo de bacterias predominan más en el lodo y en el agua de lagos y estanques ricos en materia orgánica y con niveles bajos de sulfuro (Harley y Prescott, 2004).

#### *Rhodobacter sphaeroides*.

Son organismos cuya célula puede ser de forma esférica a ovoide, generalmente se encuentran en pares o como una serie de gotas, las cuales pueden estar conectadas por un filamento delgado y ligeramente desigual en tamaño.

Los cultivos de esta bacteria púrpura sin azufre pueden ser de un color café verdoso oscuro, cuando estos crecen bajo condiciones anaeróbicas al estar presente la luz. Los cultivos que crecen en presencia de luz y aire se tornan de color rojo.

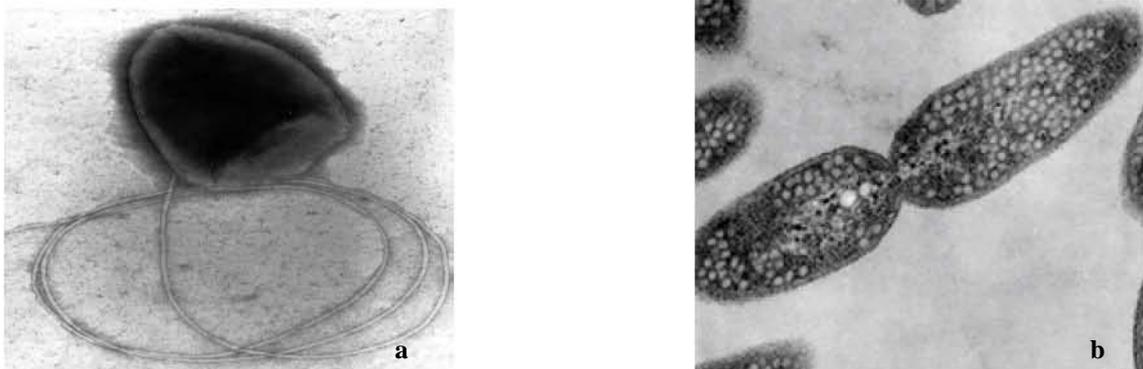


Figura 3.1. a) *Rhodobacter sphaeroides* mostrando flagelo (<http://genome.jgi-psf.org>).  
b) Células de *R. sphaeroides* alineadas en par en forma de gota (<http://www.nottingham.ac.uk/biology/contact/academics/sockett/research.phtml>).

Estos organismos crecen preferentemente de un modo fotoheterotrofo, bajo condiciones anaeróbicas, con compuestos orgánicos que sirven de fuente de carbón y electrones, como por ejemplo glucosa, fructosa, almidón, celulosa, entre otros. Además presentan un crecimiento fotoautotrófico usando hidrógeno molecular o sulfato como lentos donadores de electrones. También se ha observado crecimiento de estas bacterias en condiciones aeróbicas en obscuridad empleando compuestos orgánicos como los antes mencionados. De igual manera se ha visto un crecimiento marginal, debido a que pueden llevar a cabo, un metabolismo fermentativo en obscuridad y en anaerobiosis usando piruvato y azúcares.

El crecimiento óptimo de *Rhodobacter sphaeroides* se da entre los 30°C y los 35°C. Esta bacteria tiene la habilidad de crecer anaeróbicamente en condiciones de obscuridad empleando nitrato como donador de electrones y fuente de nitrógeno, puede fijar el N<sub>2</sub>, sintetizar bacterioclorofila y reducir metales. *R. sphaeroides* ha sido utilizada como modelo de estudio para el análisis de aspectos genéticos, fotosíntesis y en los procesos de producción de energía (Staley y Bryant, 1989).

Como se menciono anteriormente, parte del presente trabajo esta enfocado a las bacterias púrpuras sin azufre, por tanto, a continuación se explica el proceso de fotosíntesis en estos microorganismos.

### 3.2 FOTOSÍNTESIS EN LAS BACTERIAS PÚRPURAS SIN AZUFRE.

Las bacterias púrpuras presentan bacterioclorofila *a* o *b*, absorben luz en la banda correspondiente a la bacterioclorofila (400-950 nm), también absorben luz de una segunda región entre los 400 y 500 nm, debido a la presencia de los carotenoides responsables del color rojo, púrpura o marrón de las bacterias fototrofas. Estos pigmentos protegen a las bacterias del efecto tóxico de la fotooxidación y además transfieren la energía absorbida a la bacterioclorofila. Invaginaciones de la membrana proporcionan espacio para la localización del aparato fotosintético.

Un elemento esencial del aparato fotosintético es el centro de captación de la luz (CL), que incluye más del 90% de la bacterioclorofila, conjuntamente con carotenoides y muchas proteínas. Estos centros transfieren la energía luminosa a los centros de reacción. Cada centro de reacción puede estar asociado a muchos CL (entre 20 y 40). El centro de reacción denominado P870, es un complejo que incluye 4 moléculas de bacterioclorofila (dos de ellas activas fotoquímicamente), 2 moléculas de bacteriofeofitina (bacterioclorofila libre de magnesio) y una proteína con tres subunidades diferentes. Este centro de reacción se encuentra asociado a un complejo de hierro-ubiquinona. Estos dos complejos integrados en la membrana, se encuentran asociados a otro complejo, también anclado en la membrana, denominado citocromo bc<sub>1</sub>. Al aparato fotosintético pertenece también la ubiquinona y el citocromo c<sub>2</sub>, moléculas que se mueven libremente en la membrana (Margalith, 1992).

En presencia de luz, cada cuántum absorbido provoca que un electrón se transloque del par de bacterioclorofilas activas del centro de reacción a la bacteriofeofitina, vía una bacterioclorofila secundaria, pasando posteriormente al complejo ubiquinona-hierro. De aquí, el flujo de electrones sigue vía complejo citocromo bc<sub>1</sub> y citocromo c<sub>2</sub>, el cual vuelve a reducir otra vez al complejo P870.

Este transporte de electrones cíclico genera un gradiente de protones en la membrana, estimándose que por cada electrón que circula son expulsados al exterior dos protones que son utilizados para generar ATP mediante la ATP sintetasa.

La utilización de la luz por la bacteria fotosintética sin azufre tiene como resultado la generación de ATP y no la de poder reductor. Por ello la necesidad de una fuente de poder reductor usada en  $\text{NAD}^+$  para generar  $\text{NADH}$ , la fuente de poder reductor puede ser un compuesto inorgánico reducido de azufre o compuestos orgánicos como donadores de electrones (White, 2000)

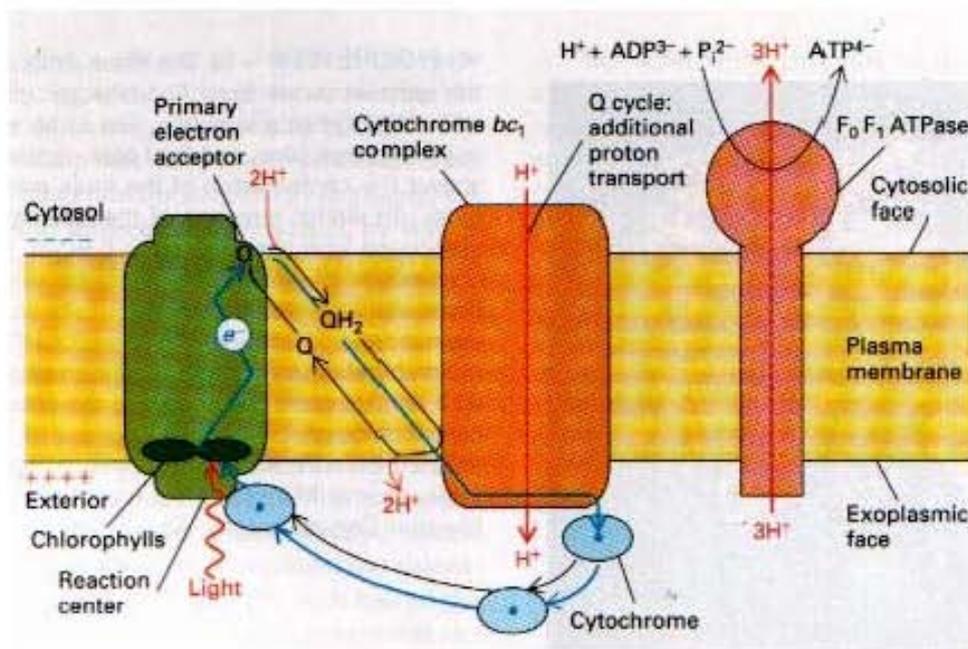


Figura 3.2. Resumen del flujo de electrones en la fotosíntesis de la bacteria púrpura sin azufre *Rhodospirillum rubrum* (Lodish *et al.*, 1999).

### Fotoproducción de hidrógeno.

La habilidad de fijar nitrógeno en *Rhodospirillum rubrum* es debido a la presencia de una enzima llamada nitrogenasa. Además esta enzima está asociada principalmente o completamente con la producción de hidrógeno, siempre y cuando no este presente el nitrógeno molecular.

El nitrógeno molecular es el sustrato natural de la nitrogenasa, pero inhibe la producción de hidrógeno por esta enzima. Cuando está presente el  $\text{N}_2$ , la reacción de fijación del nitrógeno predomina y la producción de hidrógeno no se realiza (Cammack y Frey, 2001).

La eficiencia de operación en la nitrogenasa requiere de ATP como poder reductor y de ciertos controles que regulen su actividad. Un represor o inhibidor de la nitrogenasa es el oxígeno, el cual provoca una destrucción irreversible de la enzima.

El amonio es el segundo inhibidor, utilizado frecuentemente como fuente de nitrógeno en los medios de cultivo de bacterias púrpuras sin azufre. Este reprime tanto la síntesis como la actividad de la nitrogenasa. La inhibición puede ser reversible y la enzima recobra su actividad una vez que el amonio sea consumido o removido.

La síntesis de la nitrogenasa es fuertemente estimulada por la luz, resultando en un incremento en la actividad. Se ha observado que el diseño con luz natural (es decir, ciclos alternos de luz – oscuridad), provoca una mayor estabilidad en la actividad de la enzima (Eroglu *et al.*, 1999).

La presencia de la hidrogenasa es una característica común en las bacterias fotosintéticas. Estudios *in vitro* muestran que la hidrogenasa de este tipo de bacterias son capaces tanto de producir como de consumir  $H_2$ . Sin embargo la producción de hidrógeno es atribuida principalmente a la nitrogenasa, por lo que la actividad de la hidrogenasa es insignificante en la producción del gas.

La actividad de la hidrogenasa esta en función al consumo de hidrógeno, de tal manera que ha sido aceptada generalmente como un antagonista metabólico de la nitrogenasa. Por tal motivo se ha intentado crear organismos mutantes de bacterias fotosintéticas, en los que se elimina la capacidad de sintetizar la enzima, dichos experimentos tienen como objetivo mejorar la producción de hidrógeno (Vignais *et al.*, 1985).

Con respecto al proceso de la producción biológica de hidrógeno mediante *R. sphaeroides* se realiza de la siguiente manera; como ya se ha mencionado, esta bacteria púrpura sin azufre puede utilizar compuestos orgánicos, que al ser oxidados producen  $CO_2$  y electrones, estos últimos se incorporan en la cadena transportadora de electrones del fotosistema, el cual convierte la energía luminosa en ATP. Posteriormente el citocromo  $bc_1$  transfiere los electrones a la ferredoxina y esta a su vez a la nitrogenasa, la cual utiliza parte del ATP en reducir los protones a hidrógeno molecular. Los protones también pueden ser suministrados en parte por la oxidación de los compuestos orgánicos y otros tantos son proporcionados por la acción de la ATP sintetasa.

En este caso la hidrogenasa funciona principalmente en dirección al consumo del hidrogeno, es decir, produciendo protones ( $H^+$ ) y electrones. Por tanto, la cantidad neta de producción de hidrógeno es la cantidad producida por la nitrogenasa menos la consumida por la hidrógenasa (Miyake y Kawamura, 1987)

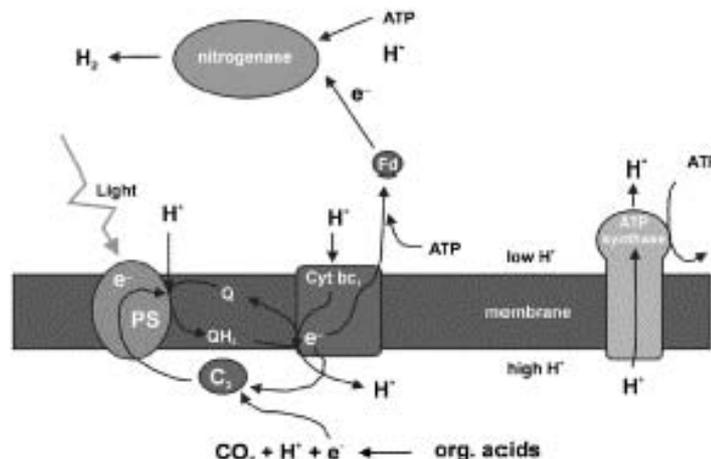


Figura 3.3. Proceso de producción de hidrógeno en *Rhodospira rubra* (Akkerman I. *et al.* 2002).

## CAPITULO 4

### **FOTOBIOREACTORES**

La luz solar es uno de los recursos más abundantes sobre la tierra, la cual puede ser aprovechada y transformada en energía química mediante los microorganismos fotosintéticos, ayudando a modificar este proceso, a través de tecnologías, para generar energéticos limpios y así contribuir significativamente a resolver dos grandes problemas: el ambiental y el energético (Grima *et. al*, 1999).

La eficiencia de conversión de energía luminosa a energéticos limpios depende en gran medida en el sistema de producción empleado. De este modo, en la fotoproducción biológica de hidrógeno se utilizan sistemas como los fotobioreactores, los cuales funcionan recolectando una determinada cantidad de energía luminosa, así como también de mantener las condiciones óptimas que permitan y favorezcan tanto el desarrollo como la capacidad de producción de hidrógeno en los microorganismos.

En el diseño de bioreactores para la fotoproducción de hidrógeno se deben considerar varias características como son; El bioreactor debe ser en cierta forma un sistema cerrado, que permita la salida del gas hidrógeno y la entrada del medio biológico a utilizar. Generalmente en este tipo de reactores se utilizan monocultivos, de esta manera se logra controlar más fácilmente parámetros como el pH y la temperatura, resultando en un mayor tiempo de vida del cultivo. La esterilización del reactor mediante vapor de agua para evitar se contamine el cultivo biológico es otro factor que se debe tomar en cuenta (Ogbonna *et al.*, 1999).

La productividad del fotobioreactor esta limitado por la cantidad de luz y la superficie de captación por área, lo cual significa que, si se tiene un proceso biológico altamente efectivo en la producción de hidrógeno, la luz debe ser distribuida lo mayor posible sobre el reactor y su volumen contenido, con lo que las células del cultivo estarán mejor expuestas a la radiación solar.

La profundidad de la zona de radiación con respecto al volumen es un factor que también se considera en el diseño de estos bioreactores. Ya que la zona de radiación depende de las dimensiones y operaciones del reactor, así como también la concentración de organismos fotosintéticos y la longitud de onda que absorbe el microorganismo.

La configuración en el diseño de fotobioreactores puede ser muy versátil y numerosa, por lo que la mayoría de los reactores se clasifican en dos tipos; dispositivos tubulares o de panel plano. Estos se caracterizan de acuerdo la orientación de los tubos o paneles, el mecanismo por el cual se suministra y distribuye el cultivo, el método utilizado enfocado a provee de luz al sistema, el arreglo de las unidades individuales con el fin abarcar más área y el tipo de materiales empleados en su construcción (Akkerman y Janssen, 2002).

#### 4.1 REACTORES TUBULARES

Los reactores tubulares consisten de largos tubos de plástico o vidrio transparente con rango en diámetro de 3 a 6 centímetros y de 1 a 10 metros de largo en promedio. El cultivo es suministrado al interior de estos tubos de manera mecánica o bombeado por un propulsor de aire. Los tubos pueden ser colocados de distintas maneras; en un plano horizontal, alineados de manera recta y doblados en forma de U, también pueden estar colocados en un plano vertical colocándolos en paralelo cerca uno de otro mediante conexiones entre sí.

Un limitante de los reactores tubulares es la longitud de los tubos, ya que estos al ser largos pueden acumular gas, tanto oxígeno como hidrógeno afectando así el proceso de producción. Para llevar a cabo el diseño a gran escala es necesario conectar un número de tubos mediante conexiones múltiples (Benemann J. 1997).

#### 4.2 REACTORES TIPO PANEL PLANO.

Los bioreactores de panel plano están diseñados en vidrio transparente de forma rectangular, con una profundidad de 1 a 5 cm en promedio. El largo y ancho en estos dispositivos puede variar, generalmente se han realizado experimentos en reactores donde sus medidas en cuanto al largo del dispositivo no son mayores al metro. Usualmente cuando se trabaja con paneles planos, estos son colocados verticalmente o inclinados frente a la emisión de luz.

Este tipo de dispositivos posee ventajas importantes en la producción en masa de microorganismos fotosintéticos y en la generación de hidrógeno, debido a que el cultivo esta correctamente orientado y expuesto a la fuente de radiación, ya sea natural o artificial.

Muchas versiones a gran escala de este tipo de reactores consisten en varias repeticiones de unidades del dispositivo, que pueden estar conectados por la parte lateral a través de un conducto de suministro y otro de salida del gas hidrógeno, por lo que de esta forma se logran recolectar el gas generado continuamente.

Cuando se trabaja con sistemas de fotobioreactores de tipo panel plano que funcionen bajo condiciones de luz natural, es importante que estos dispositivos cuenten con un mecanismo que les permita mantener regulada la temperatura. Para este tipo de dispositivos donde se emplean algas verdes o bacterias fotosintéticas se requiere una temperatura de 30°C, lo cual se consigue colocando una estructura rectangular de acrílico que contenga solo agua. Se ha observado que si la estructura adicional presenta una profundidad de 4 cm se logra mantener constante la temperatura de 30°C (Hoekema S. et. al, 2002)

## CAPITULO 5

### ***DISEÑO DEL FOTOBIOREACTOR.***

En el presente capítulo se propone el diseño y funcionamiento de un fotobioreactor híbrido de tipo panel plano, con el cual se pretende obtener un óptimo aprovechamiento de los recursos naturales como son; la energía solar y los microorganismos fotosintéticos, que comprende a algas verdes (*Chlamydomonas reinhardtii*) y a las bacterias púrpuras sin azufre (*Rhodobacter sphaeroides*), con el propósito de llevar a cabo la producción biológica de hidrógeno.

Se eligió un fotobioreactor de tipo panel plano debido a alta productividad que presenta con relación a la superficie de área utilizada para la captación de la luz solar. Los microorganismos fotosintéticos capturan la energía solar a medida que esta se consume (Alberts *et al.*, 1996). En este sentido, es la energía luminosa por la cual estos microorganismos se distribuyen ampliamente en el interior del reactor, de este modo ellos logran captar mayor cantidad de energía solar, lo que resulta en un incremento en el número de microorganismos expuestos a esta radiación enfocados al proceso de generación de H<sub>2</sub>.

Como ya se menciona con anterioridad, la mayoría de las investigaciones sobre la producción fotobiológica de hidrógeno están diseñadas a trabajar en bioreactores que utilizan en su funcionamiento sólo un monocultivo compuesto por; ya sea de algas verdes o de bacterias fotosintéticas. Son escasos los trabajos donde participan diferentes especies de microorganismos dentro de un mismo sistema o reactor. Aun así, estos trabajos involucran la participación de bacterias fotosintéticas y no fotosintéticas, y en menor medida existen trabajos con respecto a algas verdes y a bacterias fotosintéticas.

Los fotobioreactores híbridos tienen el objetivo de incrementar la producción de hidrógeno, basados en la capacidad de eficiencia de conversión de la energía con respecto a los fotobioreactores con un solo tipo de organismo.

Considerando los mecanismos biológicos con respecto al proceso de la fotosíntesis que poseen las microalgas verdes y las bacterias púrpura sin azufre en la generación del gas hidrógeno se ha podido diseñar un fotobioreactor de panel plano móvil. Sus características de estructura y función serán explicadas a continuación.

## 5.1 MODELO DEL FOTOBIOREACTOR

Las medidas totales que son empleadas en el diseño del presente fotobioreactor de tipo panel plano, están consideradas de acuerdo al rango de medidas utilizadas en diseños para este tipo de reactores en previas investigaciones realizadas. Se han realizado variaciones o modificaciones en la estructura del dispositivo que cubran los propósitos de este trabajo.

El fotobioreactor consiste de una estructura rectangular de vidrio o acrílico transparente, cuyas medidas totales son: 60 cm de largo, 40 cm de altura y 5 cm de ancho. El reactor esta conformado de tres secciones.

Sección A.- Abarca la zona superior del reactor con medidas de 60 cm de longitud, 17.5 cm de altura y 5 cm de ancho. Esta sección contendrá un volumen de 5.25 litros de medio de cultivo de microalgas verdes. En esta sección se cuenta con una entrada de suministro del sustrato biológico a utilizar, así como una salida para el gas hidrógeno generado por las algas verdes.

En la parte superior de esta sección existe un espacio vacío de 60 cm x 2.5 cm x 5cm que esta destinado para la entrada de aire, proporcionando así oxígeno y bióxido de carbono para que las algas verdes puedan efectuar la fotosíntesis en condiciones normales. Esta pequeña parte de la sección abre por intervalos de tiempo de 60 horas a partir de que se realiza la producción biológica de hidrógeno.

Sección B.- Se encuentra ubicada en la parte media del fotobioreactor, debajo de la sección A, sus medidas son 60 cm x 5 cm x 5 cm. Esta zona puede contener un volumen de 1.5 litros de cultivo y está destinada al almacenamiento de biomasa conformada por las algas verdes que perecen.

En esta sección se halla una pequeña hendidura de 1 cm de largo de la parte superior hacia abajo, que permite el paso de aire, el cual es llevado al medio de cultivo compuesto por las microalgas verdes muertas. Así en la parte inferior de esta sección se encuentra una abertura que funciona como salida para la biomasa de las algas, que es dirigida hacia la sección C.

Sección C.- Se distribuye en la parte inferior del fotobioreactor, con medidas de 60 cm x 17.5 cm x 5 cm con una capacidad en volumen de 5.25 litros. Esta división esta conectada por el lado superior con la sección B, la cual abastece de sustrato a esta sección. Cuenta además de una entrada de suministro de medio de cultivo compuesto por las bacterias púrpura sin azufre y una salida donde se recoge el gas hidrógeno generado por estos microorganismos.

El fotobioreactor es colocado de manera horizontal, pero se considera en el diseño que el reactor sea móvil, de esta manera la posición del dispositivo con respecto a la fuente de emisión puede ser ajustada para la óptima recolección de la radiación solar.

Como se ha comentado, al utilizar sistemas de fotobioreactores que trabajen en condiciones de luz natural y con este tipo de microorganismos, es necesario mantener una temperatura constante en el interior del reactor de 30°C en el interior del reactor, mientras se lleve a cabo la producción de hidrógeno.

Así, que el diseño aquí propuesto va acompañado de equipo adicional que regula la temperatura. Consta de un cajón rectangular de acrílico transparente, en donde el espacio interior del cajón está ocupado por agua que se encuentra fluyendo. Las medidas que presenta este cajón son; 60 cm de largo, 40 cm de alto y 4 cm de profundidad o ancho.

Como este modelo está contemplado para ambientes exteriores, la temperatura durante el día es regulada por el cajón arriba mencionado, mientras que por la noche se propone que la temperatura no sea regulada. Al no existir datos sobre el metabolismo de estos organismos durante la fase oscura en condiciones naturales, se cree que este reactor, al ser aplicado, arroje datos que faciliten la comprensión de este periodo de tiempo.

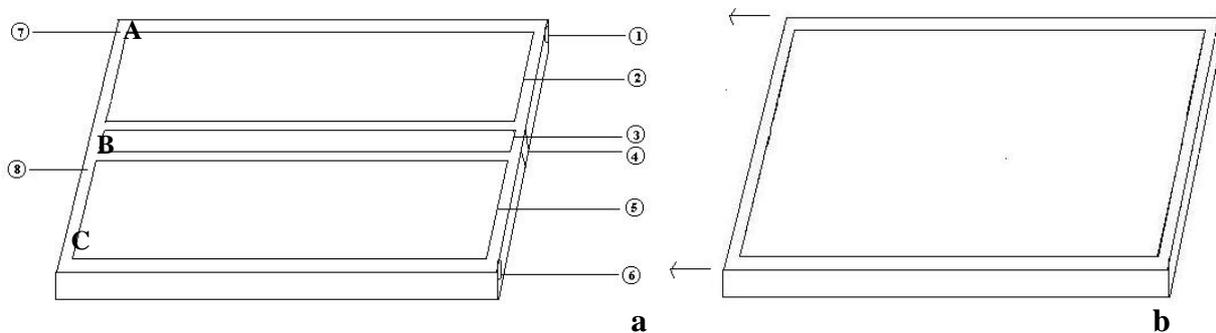


Figura 5.1. **a.** Fotobioreactor: 1)Suministro medio de cultivo algal. 2)Sección algas verdes. 3)Sección biomasa de algas. 4)Entrada aire. 5)Sección bacterias. 6)Suministro medio de cultivo bacteriano. 7)Salida de hidrógeno. 8)Salida de hidrógeno. **b.** Estructura que mantiene la temperatura del proceso de producción de  $H_2$  a 30°C.

## 5.2 CONDICIONES DE CULTIVO

A continuación se presentan los medios de cultivo que serán utilizados en el fotobioreactor, estos medios están constituidos por elementos que son aprovechados tanto por las microalgas verdes como por las bacterias púrpuras sin azufre, así estos microorganismos fotosintéticos pueden desarrollarse satisfactoriamente a su vez que realicen la producción de hidrógeno.

### Microalgas verdes

Para las microalgas verdes y en este caso en particular para *Chlamydomonas reinhardtii* el medio de cultivo en el que prosperan estos organismos es el medio Bold, el cual se describe a continuación:

### Medio basal Bold

Enseguida se indica cuáles macroelementos se utilizan para la preparación del medio y la cantidad (expresada en gramos) que debe ser agregada a 400 ml de agua destilada o desionizada. Se deben preparar las soluciones de cada sal por separado.

Na NO <sub>3</sub>	10.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	7.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3.0 g
MgSO <sub>4</sub> - 7H <sub>2</sub> O	3.0 g
CaCl <sub>2</sub> - 2H <sub>2</sub> O	1.0 g
NaCl	1.0 g

Diez ml de solución de cada macroelemento se emplean para un litro de solución final. Este medio también contiene microelementos que son suministrados de la siguiente forma.

### Solución EDTA (ácido etilendiaminotetraacético)

50 g de EDTA y 31 g de KOH que son diluidos en un litro de agua destilada.

### Solución H-Fe

4.98 g de FeSO<sub>4</sub> - 7H<sub>2</sub>O son diluidos en un litro con agua acidificada, la cual se consigue agregando 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a 999 ml de agua destilada.

### Solución H-Boro

11.42 g de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> que son diluidos en un litro de agua destilada.

### Solución H- H5

8.82 g de ZnSO<sub>4</sub> - 7H<sub>2</sub>O

1.44 g de MnCl<sub>2</sub> - 4H<sub>2</sub>O

0.71 g de MoO<sub>3</sub>

1.57 g de CuSO<sub>4</sub> - 5H<sub>2</sub>O

0.49 g de Co(NO<sub>3</sub>) - 6H<sub>2</sub>O diluido en un litro de agua acidificada.

Un ml de cada solución se agrega a un litro de solución final (Schlichting H., 1970).

Cuando las microalgas verdes son utilizadas para el proceso de fotoproducción de hidrógeno, el medio Bold es modificado. En este se sustituye uno de sus macroelementos principales; el  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  por  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , con el cual se obtiene un medio libre de azufre ([www.duke.edu/chlamy/](http://www.duke.edu/chlamy/)) y también se agrega el antibiótico Bactrim F para evitar la contaminación por otros organismos.

El medio de cultivo se maneja en condiciones de temperatura en un rango de 20 – 30°C, con un pH de 6.8 a 7.0 y expuesto a la luz natural para su crecimiento. Los primeros 100 ml de muestra del cultivo necesitan cerca de un mes para alcanzar un apreciable color verde, consecuencia de la proliferación de organismos, las siguientes muestras solo necesitan de 1 a 4 días para proliferar. (Dante y Armenta, 2004).

#### Bacterias púrpura sin azufre

Para la bacteria púrpura sin azufre *Rhodobacter sphaeroides* se utiliza un medio de cultivo modificado basado sobre el medio basal aSy (Shi y Yu, 2005) , en el cual se incluye:

1 g de extracto de levadura  
1.25 g de sulfato de amonio  
9.8 g de succinato de sodio

Estos compuestos son agregados en un litro de medio basal aSy, el cual esta constituido por:

$KH_2PO_4$	0.5 g
$K_2HPO_4$	0.6 g
NaCl	0.2 g
$MgSO_4$	0.2 g
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.05 g
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	1 mg
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0.5 mg
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.01 mg
$ZnCl_2$	0.1 mg
$CuCl_2$	0.01 mg
$H_3BO_3$	2 mg
EDTA - 2Na	2 mg
Vitamina B <sub>1</sub>	1 mg
Biotina	15 µg

Después de 72 horas de crecimiento en el medio basal aSy, (exclusivo para la bacteria púrpura sin azufre), la cepa de *Rhodobacter sphaeroides* es cosechada en su fase exponencial, posteriormente el cultivo es transferido al fotobioreactor que previamente es llenado con medio gL, procurando que se mantenga una proporción de 1:4 del cultivo de la bacteria desarrollada en el medio aSy con respecto al medio gL dentro del fotobioreactor.

El medio gL puede estar compuesto de; 1.25 g de ácido glutámico ó de 6.25 g de ácido láctico o de otros elementos como malato, glucosa o fructosa, debido a la amplia

variedad que puede utilizar como sustrato la bacteria púrpura sin azufre. La temperatura óptima en la cual se realiza el proceso es de 30 a 32 °C. El pH es ajustado con NaOH de 6.8 a 7.0 (Miyake y Miyake, 1999).

### 5.3 PROPUESTA DE SUSTRATO

El presente apartado tiene como propósito considerar la biomasa de las microalgas verdes que mueren, las cuales pueden ser utilizadas como un sustrato que aporte electrones para el proceso de producción de hidrógeno a través de la bacteria púrpura sin azufre *Rhodobacter sphaeroides*.

La biomasa conformada por las microalgas de la especie *Chlamydomonas reinhardtii* en principio esta constituida de elementos básicos como son el C, H, O, N y P, de aquí que se formen compuestos propios en la célula del alga y que sean de interés para la propuesta.

En el interior del alga verde, una de las reservas más importantes de polisacáridos es el almidón, que se encuentra en forma de granos. El almidón esta formado por numerosas cadenas de glucosa unidas entre si. Se desconoce la proporción exacta de almidón en la célula del alga, sin embargo se estima que la reserva energética esta presente de manera considerable debido a que las microalgas son fuente de alimentación para los niveles tróficos superiores, por lo que estos organismos se consideran directamente responsables de soportar la vida en los sistemas acuáticos.

Otro tipo de polisacárido que se almacena en menor proporción en el interior del alga verde *C. reinhardtii* es la celulosa, compuesto muy parecido al almidón, del cual se diferencia en la forma de unión entre las moléculas de glucosa.

En lo que respecta a la estructura del alga, la pared celular del genero *Chlamydomonas* resulta estar formada en general por glicoproteínas, que son azúcares unidos a proteínas. La fracción proteica es rica en hidroxiprolina, mientras que la fracción de carbohidratos consiste principalmente de galactosa, arabinosa, manosa y glucosa (Van der Hoek *et al.*, 2002)

En cuanto a *Rhodobacter sphaeroides*, se sabe que puede utilizar una gran variedad de sustratos como fuente de carbón y nitrógeno. De este modo, la bacteria púrpura sin azufre podría aprovechar los compuestos carbohidratados que posee el alga verde como un donador de electrones en su metabolismo para la generación de hidrógeno.

Con el uso de la biomasa algal como sustrato para la producción de hidrógeno mediante *R. sphaeroides*, se pretende sustituir en cierta medida a los sustratos empleados comúnmente en la generación de este gas energético. La propuesta va dirigida a reducir los costos de inversión en el proceso de producción, ya que se evita el gasto en los sustratos convencionales empleados por la bacteria fotosintética.

#### 5.4 FUNCIONAMIENTO DEL BIOREACTOR.

Se pretende que el fotobioreactor aquí planteado funcione en ciclos de luz – oscuridad natural, de tal forma que el dispositivo pueda aprovechar la energía solar y las condiciones ofrecidas en ambientes exteriores, mejorando el diseño con datos obtenidos al hechar a andar el modelo.

Los microorganismos considerados para tal sistema se pueden comportar de la siguiente manera:

Las algas de *Chlamydomonas reinhardtii* que están ubicadas en la sección A pueden llevar a cabo la producción de hidrógeno durante el día a través de la fotosíntesis. Pero además se ha observado que estas algas efectúan dicha producción durante la noche en condiciones anaeróbicas, debido al uso de energía acumulada en forma de almidones.

Las algas verdes pueden realizar una producción de hidrógeno sostenida durante un tiempo promedio de 60 horas, posteriormente la producción comienza a decaer al no cubrir los requerimientos en el contenido de almidón para continuar el proceso de producción de hidrógeno.

Basados en lo anterior, la sección A presenta un espacio de 2.5 cm que abre por intervalos de 60 horas durante un tiempo de 24 horas, permitiendo el paso tanto de oxígeno como de bióxido de carbono. Este periodo de tiempo está contemplado para que las algas restablezcan la fotosíntesis en condiciones normales y se pueda acumular de nuevo energía de reserva. Al término de las 24 horas las algas regresan a condiciones de anaerobiosis para proseguir con el proceso de producción del gas hidrógeno.

Las algas que mueren en la sección A conservan todavía algunos almidones y otros carbohidratos en su estructura celular. Posteriormente estas algas pasan a la sección B, donde se almacenan temporalmente como biomasa para las bacterias púrpura sin azufre. El paso de aire en la sección B con relación al tiempo permite que bacterias libres en el aire realicen el proceso de descomposición de las algas, produciendo compuestos como nitratos y azúcares simples, proporcionando una fuente de electrones para la bacteria fotosintética. En el caso de que la sección B no presentara la entrada de aire, esta biomasa produciría amoníaco, que provocaría un paro en la producción de hidrógeno.

Por otra parte la biomasa constituida de algas verdes también puede ser suministrada como biomasa seca, de este modo la biomasa inicial puede almacenarse durante más tiempo sin pasar por el proceso de descomposición. De esta forma se contaría con un sustrato fijo en el proceso de producción de hidrógeno a través de esta bacteria fotosintética.

En la sección C se encuentran las bacterias púrpura sin azufre que realizan la producción de hidrógeno en condiciones anaeróbicas y en presencia de luz. Al inicio de dicho proceso estas bacterias fotosintéticas utilizarán como sustrato el medio gL antes mencionado, después se podrá sustituir este medio cuando se tenga acumulada la biomasa rica en carbohidratos de las algas en proporción a los requerimientos para la producción de hidrógeno.

En condiciones de anaerobiosis y oscuridad las bacterias de *Rhodobacter sphaeroides* pueden utilizar también la biomasa de algas, pero esta les servirá de manera distinta a la de generación de hidrógeno. Esta biomasa proporcionará electrones que serán utilizados para la obtención de energía en forma de ATP que es necesaria para llevar a cabo sus funciones metabólicas. En este sentido la biomasa de las algas verdes podría funcionar como un regulador nocturno que mantiene la producción de hidrógeno durante el día.

### 5.5 DETECCIÓN DEL HIDRÓGENO OBTENIDO.

Cuando se produce hidrógeno en dispositivos de fotobioreactores a partir de microorganismos, se debe estar seguro de que se obtiene hidrógeno como producto del proceso de conversión de energía solar, por lo cual se emplea el siguiente método de detección para este gas en este tipo de sistemas.

Para detectar el hidrógeno producido en el fotobioreactor, se conecta un tubo delgado de cristal de la salida de recolección del gas hidrógeno del dispositivo a un colorímetro. Este debe estar en un rango de 28 – 90% de transmitancia y de 0.050 a 0.550 de absorbancia; la longitud de onda usada en el colorímetro es de 630 nm. El hidrógeno reacciona sobre un catalizador en una solución que se torna de violeta a café en presencia del hidrógeno (Dante y Armenta, 2004).

### 5.6 EFICIENCIA DE CONVERSIÓN

Una manera de expresar la eficiencia de conversión de la energía solar a hidrógeno mediante fotobioreactores que trabajan con determinados microorganismos fotosintéticos, es con la siguiente expresión:

$$\eta = \frac{33.61 * \rho_{H_2} * V_{H_2}}{I * A * t}$$

Se ha utilizado el calor de combustión del hidrógeno (145,000 J/g),  $\rho_{H_2}$  es la densidad y  $V_{H_2}$  el volumen de hidrógeno producido, I es la radiación solar, A es el área de captación solar y t es el tiempo de producción (H. Koku, *et al*, 2002). Los reportes revisados indican eficiencias del orden de 1 a 10%, aunque hay unas tan altas como 35%.

### 5.7 ESTIMACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO

En el caso de las bacterias púrpuras sin azufre se sabe que sólo aprovechan la radiación de longitud de onda entre 400 y 950 nm, que equivale al 65.8% de toda la radiación solar. Considerando un promedio anual de radiación solar de 20 MJ/m<sup>2</sup> día se estima una producción de:

$$P=20 \text{ MJ/m}^2 * 10000 \text{ m}^2/\text{ha} * 0.658 * 0.1 * 1 \text{ mol}/0.29 \text{ MJ} * 2 \text{ g/mol} * 1 \text{ ton}/1 \times 10^6 \text{ g.}$$

$$P= 0.0908 \text{ ton/ha por día.}$$

Donde 0.29 MJ/mol es el valor calorífico molar del hidrógeno, 0.1 es el equivalente al 10% de la eficiencia teórica de conversión de luz solar a hidrógeno.

En el caso de las microalgas verdes, que solo aprovechan radiación solar entre 400 y 700 nm, es decir, 43% de toda la radiación solar, entonces se tiene:

$$P=20 \text{ MJ/m}^2 * 10000 \text{ m}^2/\text{ha} * 0.43 * 0.1 * 1 \text{ mol}/0.29 \text{ MJ} * 2 \text{ g/mol} * 1 \text{ ton}/1 \times 10^6 \text{ g.}$$

$$P= 0.0593 \text{ ton/ha por día}$$

$$P_t = .1501 \text{ ton/ha por día}$$

### 5.8 PURIFICACIÓN DEL HIDRÓGENO

El hidrógeno producido mediante procesos biológicos comúnmente tiene una concentración del 60 – 90%. Existen algunas impurezas como CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> que acompañan al producto de salida. El CO<sub>2</sub> puede ser absorbido y removido por una solución de KOH. Para remover el O<sub>2</sub> se utiliza una solución de pirogalol alcalino.

Otro factor importante que debe considerarse, es la presencia de humedad en la mezcla de gases, la cual tiene que ser reducida o removida, ya que afecta de manera negativa la combustión del hidrógeno. La solución es pasar la mezcla a través de una unidad de secado donde se elimina esta humedad. Finalmente el hidrógeno puede ser utilizado en distintas aplicaciones como ya se ha mencionado anteriormente (Das y Veziroglu, 2001).

## CAPITULO 6.

### ***PLANTA PROTOTIPO.***

A continuación se presenta el diseño de una planta prototipo de producción biológica de hidrógeno. Esta planta funciona principalmente por la acción de los dispositivos de fotobioreactor híbrido, planteado anteriormente.

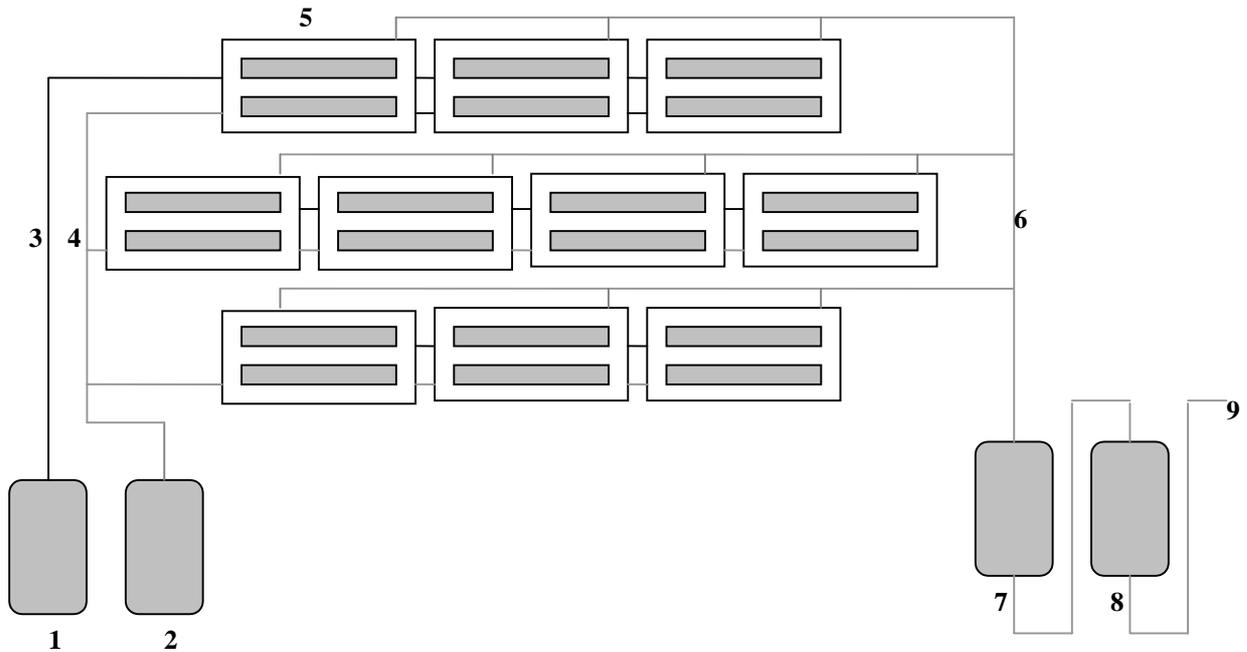


Figura 6.1. Diseño de la planta prototipo. 1)Contenedor sustrato algas. 2)Contenedor sustrato bacterias. 3)Línea de distribución del medio algal. 4)Línea de distribución del medio bacterial. 5)Fotobioreactor. 6)Línea de recolección del gas H<sub>2</sub>. 7)Purificación del gas H<sub>2</sub>. 8)Cisterna de presurización. 9)Distribución de H<sub>2</sub>.

La planta de producción de hidrógeno está compuesta de varios fotobioreactores, y su capacidad y diseño depende de la cantidad de energético que se desee obtener con relación al espacio disponible, considerando las medidas totales para cada reactor.

La planta cuenta con dos contenedores que suministran el medio a los fotobioreactores que están colocados de manera lineal. Para las algas verdes el suministro es de manera constante, mientras que para las bacterias fotosintéticas el suministro de sustrato puede ser sustituido por la biomasa de las algas.

La adición de un mecanismo móvil en el diseño de la planta, hace posible que los fotobioreactores se puedan orientar en dirección a la emisión de luz. Cada bioreactor puede ser conectado por los lados con otro fotobioreactor, un lado anterior de donde esta conectado por un tubo que lleva el sustrato y un lado posterior permitiendo la salida del hidrógeno producido.

Una vez que se obtiene la mezcla que contiene el hidrógeno en cada fotobioreactor esta viaja a través de un tubo conectado en el lado posterior, depositando el hidrógeno en una cámara de purificación, después el hidrógeno obtenido pasa por una cisterna de presurización en donde se almacena y distribuye en cilindros especiales, para que finalmente sea utilizado como combustible.

Se toma en cuenta que la planta prototipo trabaja con 10 unidades de fotobioreactores, cubriendo un área de 10 m<sup>2</sup>. Además se contempla un periodo de producción de 30 días, de tal manera que sea posible realizar un análisis económico.

### *6.1 ANÁLISIS ECONÓMICO.*

Para poder llevar a cabo el análisis económico de la planta productora de hidrógeno mediante los organismos fotosintéticos antes mencionados, es necesario realizar un sistema de costos, por lo que es necesario conocer los conceptos básicos usados en la contabilidad de costos.

Los sistemas de costos van dirigidos a crear técnicas o métodos que puedan determinar el costo de un proyecto, proceso o producto utilizado tanto por entidades legales como por miembros de una sociedad.

La contabilidad de costos es la encargada de estudiar estos sistemas de costos, ya que esta basada en una fase del proceso de contabilidad, mediante la cual se registran, analizan e interpretan los detalles de costo de material, mano de obra, cargos indirectos ajenos a la producción, pero que son necesarios para producir o vender un producto o artículo.

Los objetivos de la contabilidad dependen de las necesidades de información manifestadas por la administración o el encargado de coordinar el proyecto y son empleadas principalmente para:

- Determinar los costos de producción para efectos de valuación de los inventarios de los productos cuasi o completamente terminados.
- Proporcionar información para ejercer una adecuada planeación así como el control de operaciones y actividades del proceso.
- Analizar la información acumulada que sirva en la planeación y toma de decisiones a corto y largo plazo (Anderson y Raiborn, 1988)

En resumen se puede decir que; la contabilidad de costos es la medición significativa de los resultados para determinar el costo unitario de cada producto o servicio.

Si bien el concepto principal de la contabilidad es el “costo”, que se entiende como el precio pagado o valor real de cualquier cosa que se entrega a cambio de los recursos o servicios que se adquieren, este presenta una característica principal, puede ser susceptible de manipulación aritmética, ya que las mediciones monetarias de los costos pueden ser sumadas, restadas o divididas, así el calculo para obtener el costo se obtiene

dividiendo los costos de producción acumulados entre el total de la producción terminada (Alatraste, 1994)

Los costos comúnmente se clasifican, de acuerdo con su asociación con los productos, en directos o indirectos. Los primeros se refieren a que son fácilmente identificables y están relacionados con los materiales y la mano de obra. Los segundos son aquellos que no pueden identificarse fácilmente con departamentos o productos especiales.

Existen dos sistemas básicos de costos que están basados de acuerdo con las características de producción:

- Por orden fabricación, en donde se fabrica el producto o artículo a solicitud del cliente y con especificaciones dadas por el mismo.
- Por procesos, en este sistema se tiene una producción continua y en mayores cantidades, se aplica en empresas o industrias cuyo producto pueda expresarse en unidades como toneladas, barriles litros, etc ( Moriarity y Allen, 1990).

## *6.2 ANÁLISIS DE LA PLANTA PROTOTIPO DE PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE HIDRÓGENO.*

En el presente análisis económico de fotoproducción biológica de hidrógeno mediante el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* y la bacteria púrpura sin azufre *Rhodobacter sphaeroides*, esta basado sobre el sistema de costos por orden de fabricación.

Se ha establecido un criterio que complementa la elaboración de dicho análisis, a fin de facilitar la obtención del valor total estimado del producto. El diseño sugiere establecer una distribución determinada de los costos divida por las siguientes categorías (Melis, 2002).

- 1) Materiales del fotobioreactor.
- 2) Nutrientes minerales para los microorganismos.
- 3) Mano de obra.
- 4) Suministro de agua.
- 5) Renta o costo por disposición de área.
- 6) Energía.
- 7) Otros.

Como se menciona arriba, se estima que el análisis sea realizado sobre la base de 30 días de producción, de modo que los componentes de las respectivas categorías también están contemplados para el mismo periodo de tiempo, exceptuando la categoría 1.

- 1) Dentro de esta categoría se cuenta con un punto de referencia, el costo actual de los materiales para ensamblar un fotobioreactor se encuentra en un precio promedio de \$ 1000 por metro cuadrado, el costo depende del diseño del reactor así como de la cantidad de biomasa necesaria para producir determinado volumen de hidrógeno (Melis, 2002).
- El diseño de la planta prototipo se requiere de 10 unidades, por lo que el costo de estos dispositivos es de \$10,000. Sin embargo este costo final es dividido por 12, cifra que representa el numero de meses de tiempo promedio estimado en el que se puede mantener en funcionamiento el reactor (propuesta por el autor).

De este modo se tiene:

Unidades de Fotobioreactor	Área m <sup>2</sup>	Valor por total de reactores	Costo total por mes.
10	10	\$ 10.000	\$ 833.33

Tabla 6.1. Gastos de fabricación de fotobioreactores.

- 2) El precio de los nutrientes para el medio de cultivo de algas verdes y bacterias fotosintéticas fue obtenido a partir de una cotización de precios sobre los reactivos empleados en dichos cultivos.

Reactivos	Presentación	Precio
Na NO <sub>3</sub>	500 g	\$ 183.50
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	500 g	\$ 105.00
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	500 g	\$ 115.50
MgSO <sub>4</sub> - 7H <sub>2</sub> O	500 g	\$ 79.00
CaCl <sub>2</sub> - 2H <sub>2</sub> O	500 g	\$ 104.50
NaCl	500 g	\$ 52.00
EDTA	500 g	\$ 127.00
KOH	500 g	\$ 104.50
FeSO <sub>4</sub> - 7H <sub>2</sub> O	500 g	\$ 172.50
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 L	\$ 92.50
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	500 g	\$ 109.00
ZnSO <sub>4</sub> - 7H <sub>2</sub> O	500 g	\$ 75.00
MnCl <sub>2</sub> - 4H <sub>2</sub> O	500 g	\$ 195.50
MgCl <sub>2</sub> - 6H <sub>2</sub> O	500 g	\$ 68.00
MoO <sub>3</sub>	100 g	\$ 257.60
CuSO <sub>4</sub> - 5H <sub>2</sub> O	500 g	\$ 117.00
Co(NO <sub>3</sub> ) - 6H <sub>2</sub> O	250 g	\$ 757.50
CoCl <sub>2</sub> - 6H <sub>2</sub> O	250 g	\$ 792.00
CuCl <sub>2</sub>	100 g	\$ 393.00
Extracto levadura	50 g	\$ 128.00
NH <sub>3</sub> SO <sub>4</sub>	500 g	\$ 75.00
Acido glutámico	250 g	\$ 245.50
Acido láctico	500 ml	\$ 363.00
NaOH	500 g	\$ 102.00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub>	100 g	\$ 313.50
<b>Total</b>		<b>\$ 5,127.60</b>

Tabla 6.2. Gasto de reactivos, según cotización de: Reactivos y Productos Químicos Finos S.A de C.V.

- 3) Considerando que la construcción de los fotobioreactores es modular, es decir, el dispositivo en sí consta de varios componentes en el ensamblado, los materiales se pueden reemplazar y/o darles mantenimiento (propuesta por el autor).

Mano de obra Por unidad	Número de unidades	Costo total
\$ 100	10	\$1000

Tabla 6.3. Gasto de la mano de obra en la construcción y mantenimiento de las unidades de fotobioreactor.

- 4) El suministro de líquido es principalmente agua destilada, que se utiliza en la preparación de los medios de cultivo para las especies de microorganismos fotosintéticos ya mencionadas.

Volumen por reactor	Número de reactores	Volumen total en 1 mes
9 litros	10	90 litros

Tabla 6.4. Cantidad de litros de agua utilizada en la preparación de los medios de cultivo.

Cantidad requerida de H <sub>2</sub> O destilada	Unidad	Costo unitario	Costo total
90	Litros	\$ 1.25	\$ 112

Tabla 6.5. Gasto mensual del consumo de agua destilada.

- 5) En esta categoría se propone un gasto de \$ 500. Costo que cubre el área utilizada por los diez dispositivos empleados.
- 6) En cuanto a energía, se contemplan \$ 500. Esta puede ser ocupada en aparatos que estén relacionados en la construcción o mantenimiento de los reactores.

- 7) Por otros se consideran artículos de limpieza, herramienta etc. y se destina un costo de \$ 1000.

Reuniendo los costos por categoría asignada para el modelo de producción biológica de H<sub>2</sub> a través de una planta prototipo, se tiene:

Categoría	Costo (\$)
Materiales del fotobioreactor.	833.33
Nutrientes minerales.	5,127.60
Mano de obra.	1,000.00
Suministro de agua.	112.00
Renta o costo por disposición de área.	500.00
Energía.	500.00
Otros.	1,000.00
<b>Total</b>	<b>9,072.93</b>

Tabla 6.6. Total de gastos mensuales de acuerdo con la suma de las categorías designadas.

Basado en los datos sobre los costos en el proceso de generación de hidrógeno y la producción mensual de la planta prototipo, entonces se puede obtener el precio promedio de producción del metro cubico de H<sub>2</sub>.

Donde:

- Se tiene una producción total de: .1501 ton/ H<sub>2</sub>/ ha/día, efectuada por ambos microorganismos fotosintéticos.
- Equivalente a: .1667 m<sup>3</sup>H<sub>2</sub>/ m<sup>2</sup>/ día.

Considerando que la planta prototipo cubre un área de 10 m<sup>2</sup> con una producción de H<sub>2</sub> durante un periodo de 30 días.

Entonces:

- (.1667) (10) = 1.667 m<sup>3</sup>H<sub>2</sub>/ m<sup>2</sup>/ día.
- (1.667) (30) = 50 m<sup>3</sup>H<sub>2</sub>/ m<sup>2</sup>/ día.

Así, el costo de producción del hidrógeno se obtiene de dividir el costo total del proceso de generación de H<sub>2</sub> entre la producción de hidrógeno producido en la planta prototipo.

De modo que:

- El costo promedio estimado del m<sup>3</sup> de H<sub>2</sub> es de: \$181.45

Ahora bien, ya que se tiene el costo de producción del gas H<sub>2</sub>, es necesario determinar un porcentaje de ganancia sobre el precio de producción. El costo final obtenido es el precio unitario y puede estar dirigido a proveedores o consumidores directos.

De modo que se pueden aplicar dos porcentajes de ganancia sobre el valor de producción (propuesta por el autor), esto es:

- 1) Si se agrega el 50% sobre el costo de producción se tiene: \$ 272.17
- 2) Con un 100% sobre el costo de producción: \$ 362.9

1) Considerando este porcentaje, el hidrógeno biológico sería competitivo con respecto al producido por reformación catalítica. A este precio el H<sub>2</sub> puede ser distribuido en áreas cercanas, donde no sea necesaria una infraestructura muy elaborada de transportación.

2) Al comparar el costo de m<sup>3</sup> de H<sub>2</sub> biológico, este resulta ser aun más caro con relación al producido por reformación catalítica. Sin embargo su precio se encuentra a la par al compararlo con el H<sub>2</sub> producido mediante la electrólisis. Como se muestra en la tabla 6.1. Utilizando este porcentaje de ganancia se podría aumentar la producción de gas, pues se construirían más fotobioreactores en un área mayor. Así también, la creación de una red de distribución sería posible si mantiene el porcentaje asignado.

Método producción de H <sub>2</sub>	Costo por m <sup>3</sup> de H <sub>2</sub>
Reformación catalítica.	\$ 267.50
Hidrogeno biológico.	
Según 50% de ganancia	\$ 272.17
Según 100% de ganancia	\$ 362.90
Electrólisis	\$ 375.50

Tabla 6.1. Comparación del precio del gas H<sub>2</sub> por distintos métodos de producción.

## **DISCUSIÓN**

El diseño del fotobioreactor híbrido, se puede considerar como un sistema sofisticado de conversión de la luz solar a hidrógeno a través de la fotosíntesis. Es un sistema altamente eficiente, pues aprovecha recursos naturales como son; los microorganismos fotosintéticos usados en el dispositivo, agua y luz solar.

Si bien, los sistemas fotosintéticos de generación de hidrógeno se encuentra todavía en investigación, la comprensión del proceso de producción de hidrógeno a partir de los microorganismos aquí tratados y su relación directa en el diseño de fotobiorreactores, permite que trabajos como este aporten bases para el desarrollo de dispositivos, en donde se espere obtener una producción continua de este energético.

El sistema de fotobioreactor híbrido anteriormente expuesto, considera dos especies de microorganismos fotosintéticos, en donde organismos de una especie (en este caso las algas verdes), sirven de manera directa como sustrato en el proceso de generación de hidrógeno en la segunda especie (bacterias púrpuras sin azufre).

El modelo puede mejorar el procedimiento producción de este gas, si se compara con el de Miura y colaboradores (1997) donde emplean especies marinas de ambos géneros modificadas genéticamente. En su estudio, someten a un proceso previo de fermentación, los componentes carbohidratados que se originan como reserva energética durante la fotosíntesis de las algas verdes, para producir posteriormente ácidos orgánicos, aprovechados por las bacterias fotosintéticas; sin embargo en sus resultados, las algas producen una cantidad insignificante de hidrógeno durante la noche, además las bacterias solo aprovechaban un 40% de estos ácidos.

Al poner en funcionamiento nuestro reactor se esperaría una mayor producción del H<sub>2</sub>, debido a que se obtendría gas hidrógeno durante la noche, contemplando también que los organismos empleados en el presente sistema, no son modificados genéticamente para aumentar su eficiencia de producción. El diseño de panel plano del fotobioreactor, mantiene trabajando a un mayor número de organismos por unidad de área en la generación de hidrógeno.

Como concluye Kokum (2002) en su estudio sobre el metabolismo de *Rhodobacter sphaeroides*, esta bacteria fotosintética puede utilizar como sustratos en la generación de H<sub>2</sub>, derivados de glucosa, almidón y celulosa, componentes orgánicos que están presentes en la célula del alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* y que por consiguiente pueden servir como un proveedor de electrones en la producción de hidrógeno por bacteria fotosintética.

Así, al sustituir el sustrato convencional para las bacterias fotosintéticas, por el de biomasa compuesta de algas verdes, se espera; 1) Incrementar la producción de H<sub>2</sub>, debido a que se contaría con una fuente regular de electrones y 2) Disminuir el costo total del proceso de producción de H<sub>2</sub>, pues se evitan gastos de consumo, utilizados anteriormente en el sustrato convencional.

El análisis de costos elaborado para la planta prototipo, se realizó tomando en cuenta precios de mercado vigentes, lo que refleja que para el proceso de generación de

hidrógeno, son bajos los costos de inversión. Así, el presente estudio puede contemplar la posibilidad de aplicar este modelo, de primera intención, para fines de investigación que permitan estandarizar el método de producción de hidrógeno y posteriormente considerarlo como un método de producción a gran escala, donde es muy probable que los costos de venta para este gas energético sean comercialmente competitivos frente a otro tipo de combustibles.

Solo resta enfatizar la importancia social, económica y ambiental, de generar hidrógeno como un energético limpio en su producción como en su combustión. En un futuro cercano, si en nuestro país se impulsa este tipo de proyectos, las condiciones de un ambiente limpio, nuestra calidad de vida y el desarrollo tecnológico se verían beneficiados. Con esto se pretende hacer uso, cada vez en menor medida, de los combustibles fósiles.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adler I. y N. Hinke. 2003. La era del Hidrógeno. *Ciencias*, **70**: 47-49.
- Akkerman I. y M Janssen. 2002. Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design, *Journal of Hydrogen Energy*. **27**: 1195-1208.
- Alatríste S. 1994. **Técnica de los costos**. Porrúa editorial. México. 442 pp.
- Alberts B., D. Bray y J. Lewis. 1996. **Biología molecular de la célula**. Ediciones Omega. Barcelona, España. 1326 pp.
- Atlas R. 2001. **Principles of microbiology**. Mosby editions. New York. 1298 pp.
- Anderson H. y M. Raiborn. 1988. **Conceptos básicos de contabilidad de costos**. 1ra. edición. CECSA editorial. México. 802 pp.
- Baykara R. y E. Bilgen. 1988. **Solar hydrogen by hybrid process of water thermolysis and electrolysis**, in T.N. Veziroglu and A.N. Hydrogen Energy Progress. Protsenko Editions. Vol. VII. 818 pp.
- Benemann J. 1997. Feasibility analysis of photobiological hydrogen production, *International Association for Hydrogen Energy*. **22**: 979-987.
- Bockris J., N. Veziroglu y D. Smith. 1994. **Hidrógeno solar: la energía limpia del futuro**. Editorial Cuatro Vientos. Santiago de Chile. 174 pp.
- Bruderly D. 1990. **Hydrogen: The clean fuel of tomorrow is available today, air and waste management**. Academic Press. Pittsburgh, Pennsylvania. 238 pp.
- Cammack R. y M. Frey 2001. **Hydrogen as a fuel: learning from nature**. Taylor and Francis editions. New York. 267 pp.
- Contreras A., J. Carpio, M. Morelo y N. T. Vezoroglu. 1999. Solar hydrogen: an energy system for sustainable development in Spain. *International Journal of Hydrogen Energy*, **24**: 1041-1052.
- Cotización de reactivos. Empresa "Reactivos y Productos Químicos Finos, S.A de C.V."
- Curtis H. y S. Barnes. 2000. **Biología**. 6<sup>ta</sup> edición. Ediciones Medica Panamericana. Buenos Aires. 1426 pp.
- Dante C. 2005. Hypotheses for direct PEM fuel cells applications of photobioproduced hydrogen by *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Hydrogen Energy*, **30**: 421-424.
- Dante C. y S. Armenta. 2004. Temporal phenomena of hydrogen photobioproduction. *International Journal of Hydrogen Energy*, **29**: 1219-1226.
- Das D. y N. Veziroglu. 2001. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*. **26**: 13-28.
- Davis G. 1990. Energy for planet earth. *Scientific American*, **263**: 55-62.
- Deffis C. 1999. **Energía. Fuentes primarias: utilización ecológica**, Árbol Editorial. México. 265pp.
- Eroglu I., K. Aslan, U. Gündüz, M. Yücel y L.Türker. 1999. Substrate consumption rates for hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* in a column photobioreactor. *Journal Biotechnology*. **70**: 103-113.
- Fanchi R. 2000. **Energy: technology and directions for the future**. Elsevier Academic Press. London. 491 pp.
- Fanchi R. 2004. **Energy: technology and directions for the future**. Elsevier Academic Press. London. 524 pp.
- Gaffron H. y J. Rubin. 1942. Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. *Journal General Physiology*: **26**: 219-240.

- Garrity M., M. Winter y B. Saeles. 2001. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2<sup>nd</sup> edition . Springer-Verlag editions. New York. 787 pp.
- Ghirardi M. y Z. Liping. 2000. Microalgae: A green source of renewable H<sub>2</sub>. *Trends in Biotechnology*. **18**: 506-511.
- Grima M., A. Fernández, G. Camacho y Y. Chisti. 1999. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*. **70**: 231-247.
- Hallen P. y J. Benemann. 2002. Biological hydrogen production: fundamentals and limiting processes. *International Journal of Hydrogen Energy*. **27**: 1185-1193.
- Happe T., A. Hemschemeir., M. Winkler y A. Kaminski. 2002. Hydrogenases in green algae: do they save the algae's life and solve our energy problems?. *Trends in Plant Science*. **7**: 246-250
- Harley P. y M. Prescott. 2004. **Microbiología**. 5<sup>ta</sup> edición. Mc Graw Hill. España. 1413 pp.
- Hawkes F., R. Dinsdale, D. Hawkes e I. Hussy. 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. *International Association for Hydrogen Energy*, **27**: 1339-1347
- Hoekema S., M. Bijmans y M. Janssen. 2002. A pneumatically agitated flat-panel photobioreactor with gas re-circulation: anaerobic photoheterotrophic cultivation of a purple non-sulfur bacterium. *International Journal of Hydrogen Energy*, **27**: 1331-1338.
- Hoffmann P. 1981. **The forever fuel: the story of hydrogen**. West View Press. Boulder, Colorado. 271 pp.
- Iwasaki W. 2003. A consideration of power density and hydrogen production and utilization technologies. *International Journal of Hydrogen Energy* **28**: 1325– 1332
- Jacobsson S. y A. Johnson. 2000. The diffusion of renewable energy technology: an analytical framework and key issues for research, *Energy Policy*. **28**: 625-640.
- Johnston B., M. Mayo y A. Khare. 2004. Hydrogen: the energy source for the 21<sup>st</sup> century. *Technovation* **25**: 569–585.
- Keidric C. 1989. **The science of photobiology**. 2<sup>nd</sup> edition. Plenum Press. New York. 417 pp.
- Kelley H. y J. Hagler. 1978. **Storage, transmission and distribution of Hydrogen, hydrogen energy systems**: Proceedings of the 2<sup>nd</sup> World Hydrogen Energy Conference, held in Zurich. Pergamon Press. Switzerland. Vol.1.630 pp.
- Klass D. 1998. **Biomass for renewable energy, fuels and chemicals**. Academic Press. California, USA. 651 pp.
- Kokum H. 2002. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. *International Journal of Hydrogen Energy* **27**: 1315-1329.
- Kondo T. y M. Arakawa. 2002. Hydrogen production by combining two types of photosynthetic bacteria with different characteristics. *International Journal of Hydrogen Energy* **27**: 1303-1308
- Laurinavichene T. e I. Tolstygina. 2002. Dilution methods to deprive *Chlamydomonas reinhardtii* cultures of sulfur for subsequent hydrogen photoproduction. *International Journal of Hydrogen Energy*, **27**: 1245-1249.
- Larkum W., E. Douglas y A. Raven. 2003. **Advances in photosynthesis and respiration. photosintesis in algae**. Vol. 14. Kluwer Academic Publishers. London. 456 pp.
- Lodish H., A. Berk y S. Lawrence. 2002. **Biología celular y molecular**. 4ta. edición. Editorial Médica Panamericana. España. 1081 pp.
- Lucena B. 1998. **Energías alternativas y tradicionales: sus problemas ambientales**. Ediciones Talasa. España. 127 pp.

- Manzini F., J. Islas y M. Martínez. 2001. Reduction of greenhouse gases using renewable energies in Mexico 2025. *International Journal of Hydrogen Energy*. **26**: 145-149.
- Margalith P. 1992. **Pigment microbiology**. Ediciones Chapman y Hall . London. 156 pp.
- McLanagan S. 1992. Towards a hydrogen economy: the storage and transmission of hydrogen. *International Journal of Ambient Energy*. **13**: 49-52.
- Melis A. 2002. Green alga hydrogen production: progress, challenges and prospects. *Journal of Hydrogen Energy*. **27**: 1217-1228.
- Melis A. y T. Happe. 2001. Hydrogen production. Green algae as a source of energy. *Plant Physiology*. **127**: 740-748.
- Melis A., L. Zhang, M. Forestier, M. Ghirardi y M. Seibert. 2002. Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*. **122**: 127-136.
- Miura Y., T. Akano y K. Fukatsu. 1995. Hydrogen production by photosynthetic microorganisms. *Energy Conversion and Management*. **36**: 903-906.
- Miyake J. y S. Kawamura. 1987. Efficiency of light energy conversion to hydrogen by photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides*. *International Journal of Hydrogen Energy*. **12**: 147-149.
- Miyake J. y M. Miyake. 1999. Biotechnological hydrogen production: research for efficient light energy conversion. *Journal of Biotechnology*, **70**: 89-101.
- Momirlan M. y T. Veziroglu. 2004. The properties of hydrogen as fuel tomorrow in sustainable energy system for a cleaner planet. *International Journal of Hydrogen Energy*. **30**: 795-802.
- Moore R. 1983. Economic feasibility of advanced technology for hydrogen production from fossil fuels. *Journal Hydrogen Energy*. **8**: 905-911
- Moriarity S. y C. Allen. 1990. **Contabilidad de costos**. Editorial CECSA. México. 969 pp.
- Nakada E. y S. Nishikata. 1999. Photosynthetic bacterial hydrogen production combined with a fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, **24**: 1053-1057.
- Ogbonna C., T. Soejima y H. Tanaka. 1999. A integrated solar and artificial light system for internal illumination of photobioreactors. *Journal of Biotechnology*. **70**: 289-297.
- Ortega M. 1984. **Catálogo de algas continentales recientes de México**. UNAM. México. 561 pp.
- Paniagua R. y M. Nistal. 1999. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 361 pp.
- Pares R. y A. Juárez. 1997. **Bioquímica de los microorganismos**. Editorial Reverte. España. 380 pp.
- Praxair, México, cotización por teléfono.
- Pentecost A. 1984. **Introduction to freshwater algae**. Richmond Publishing, England. 247 pp.
- Piorno H. 1997. **Energías renovables. Aproximación a su estudio**, 2<sup>da</sup> edición, Editorial Talasa. Salamanca. 177 pp.
- Pohl H. 1995. **Hydrogen and other alternative fuels for air and ground transportation**. John Wiley and Sons Editions. New York. 206 pp.
- Pottier J., F. Blondin y A. Garat. 1988. **Large scale storage and transmission of gaseous hydrogen**, Proc. 7<sup>th</sup> World Hydrogen Energy Conference. Vol.2. Pergamon Press. Moscow. 1108 pp.

- Perspectiva Ambiental. 2003. Hidrógeno solar, *Asociación de Maestros Rosa Sensat. Fundación Tierra*. Barcelona, España. **27**: 1-34.
- Riffkin J. 2002. **La economía del hidrógeno**. Paidós. Barcelona, España. 324 pp.
- Schlichting H. 1970. Selected media for culturing algae. Department of Botany, North Carolina. State University. Ralleigh, North Carolina. 11 pp.
- Sebastián P. 2003. Mexican participation in IEA program on production, storage and utilization of hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy* **28**: 595
- Shi X. y H. Yu. 2005. Optimization of glutamate concentration and pH for H<sub>2</sub> production from volatile fatty acids by *Rhodospirillum rubrum*. *Letters in Applied Microbiology*. **40**: 401-406
- Selover T. 1991. **Handbook of properties of condensed phases of hydrogen and oxygen**. Hemisphere. New York. 276 pp.
- Staley T. y P. Bryant. 1989. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Vol 3. Board editorial. London. 787 pp.
- Steinberg M. y H. Cheng. 1988. **Modern and prospective technologies for hydrogen production from fossil fuels**, in T.N. Veziroglu and A.N. Protsenko Editors. Hydrogen Energy Progress VII. Pergamon Press. Oxford. Vol 2. 740 pp.
- Stolp H. 1996. **Microbial ecology: organisms, habitats, activities**. Syndicates of the University of Cambridge. Great Britain. 308 pp.
- Toledo M. 1988. La diversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo*. **81**: 17-30.
- Van der Hoek C., D. Mann y H. Jahns. 2002. **Algae: a introduction to phycology**. Cambridge University Press. Germany. 623 pp.
- Veziroglu T. 1997. **Hydrogen power, theoretical and engineering solutions**, Proceedings of the hypothesis II symposium, held in Grimstad, Norway, 18-22 August 1997. Dordrecht: Kluwer Academic. Germany. 630 pp.
- Vignais P., A. Colbeau, J. Willison y Y. Jouanneau. 1985. Hydrogenase, nitrogenase and hydrogen metabolism in photosynthetic bacteria. *Advances in Microbial Physiology*. **26**: 154-234.
- Vijayaraghavan K. y S. Mohd. 2004. Trends in biological hydrogen production: a review. *International Journal of Hydrogen Energy*. In Press, Corrected Proof.
- Weaver P., S. Lien y M. Seibert. 1980. Photobiological production of hydrogen. *Solar Energy*. **24**: 3-45.
- White D. 2000. **The physiology and biochemistry of prokariotes**. 2<sup>da</sup> edición. Oxford University Press. New York. 565 pp.
- Whitford L. y G. Schumacher. 1984. **A manual of fresh-water algae**. Sparks Press. New York. 337 pp.
- [www.duke.edu/chlamy/](http://www.duke.edu/chlamy/)  
<http://genome.jgi-psf.org>  
<http://www.nottingham.ac.uk/biology/contact/academics/sockett/research.phtml>  
<http://personal.telefonica.terra.es/web/ayma/atlas.htm>