



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ARRANQUE Y OPERACIÓN DE UNA PLANTA PROTOTIPO PARA LA  
GENERACIÓN DE HIDRÓGENO A PARTIR DE DESECHOS  
ORGÁNICOS DE FRUTAS Y VERDURAS A CONDICIONES  
EXTREMO-TERMOFÍLICAS**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**MARISOL YAZMÍN MORALES PÉREZ**



**MÉXICO, D.F. 21 DE ENERO AÑO 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Adriana Guadalupe Mejía Chávez

**VOCAL:** Jorge Aburto Anell

**SECRETARIO:** Alejandra Castro González

**1er. SUPLENTE:** Aleida Mina Cetina

**2° SUPLENTE:** Beatriz Ruiz Villafan

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, POSGRADO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA, CIUDAD UNIVERSITARIA, UNAM. SE AGRADECE EL APOYO OTORGADO POR PAPIME 100810 PARA LA COMPRA DE MATERIALES DEL PROTOTIPO.**

**ASESORA DEL TEMA:**

---

Dra. Alejandra Castro González

**SUSTENTANTE:**

---

Marisol Yazmín Morales Pérez

# ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ABREVIATURAS.....	xi
RESUMEN .....	xii
INTRODUCCIÓN .....	xiii
OBJETIVOS .....	xvi
CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES .....	1
1.1 Energías renovables .....	1
1.1.1 Bioenergía y biomasa .....	6
1.1.2 Tipos de biocombustibles.....	8
1.2 El hidrógeno como vector energético .....	13
1.3 Propiedades del hidrógeno.....	15
1.4 Procesos para la obtención del hidrógeno .....	17
1.5 Seguridad en el manejo del hidrógeno .....	22
1.6 Usos del hidrógeno .....	26
CAPÍTULO 2 FUNDAMENTOS.....	29
2.1 Degradación anaerobia .....	29
2.2 Fermentación oscura.....	32
2.3 Parámetros de control de fermentación oscura.....	36
2.3.1 Temperatura.....	36
2.3.2 Control del pH .....	38
2.3.3 Tiempo de retención hidráulica .....	39
2.3.4 Presión parcial de H <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub> .....	39
2.3.5 Materias primas.....	39
2.3.6 Nutrientes.....	40
2.3.7 Tipos de inóculo .....	40
2.3.8 Agitación mecánica .....	40
2.4 Condiciones para el incremento de la producción de hidrógeno .....	41
2.4.1 Temperatura.....	41

2.4.2 Control de pH.....	43
2.4.3 Tiempo de retención hidráulica .....	45
2.4.4 Presión parcial .....	47
2.4.4.1 Presión parcial del H <sub>2</sub> .....	47
2.4.4.2 Presión parcial del CO <sub>2</sub> .....	47
2.4.5 Materias primas.....	48
2.4.5.1 Sustratos puros.....	48
2.4.5.2 Sustratos complejos.....	49
2.4.6 Nutrientes.....	51
2.4.7 Tipo de inóculo.....	52
2.4.7.1 Cultivos puros .....	52
2.4.7.2 Cultivos mixtos.....	57
2.4.7.3 Estiércol de cerdo .....	57
2.4.8 Agitación .....	58
2.5 Biogás .....	59
2.6 Almacenamiento y uso del hidrógeno .....	63
2.6.1 Métodos tradicionales de almacenamiento de H <sub>2</sub> .....	64
2.6.1.1 Almacenamiento por compresión.....	64
2.6.1.2 Almacenamiento por licuefacción .....	65
2.6.2 Métodos de almacenamiento de H <sub>2</sub> en desarrollo.....	65
2.6.2.1 Adsorción en sólidos porosos .....	65
2.6.2.2 Almacenamiento por hidruros metálicos .....	69
2.6.3 Pilas de combustible y sus aplicaciones .....	71
2.6.3.1 Aplicaciones estacionarias.....	72
2.6.3.2 Aplicaciones móviles.....	73
2.6.3.3 Aplicaciones portátiles .....	74
CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA.....	75
3.1 Fermentador oscuro .....	75
3.2 Parámetros de evaluación.....	77
3.3 Inóculo y sustrato .....	78
3.3.1 Preparación y caracterización del sustrato .....	78

3.3.2 Preparación y caracterización del inóculo .....	79
3.4 Condiciones de operación .....	80
3.5 Instalación .....	80
3.5.1 Control de la temperatura .....	82
3.5.2 Alimentación de sustrato e inóculo.....	82
3.5.3 Manejo del biogás .....	83
3.5.3.1 Medición del volumen de biogás.....	83
3.5.2 Análisis de biogás .....	84
CAPÍTULO 4 RESULTADOS .....	86
4.1 Arranque.....	86
4.2 Operación.....	88
4.3 Influencia del pH.....	90
4.4 Influencia del TRH.....	92
4.5 Influencia del sustrato .....	95
4.6 Inóculo.....	101
4.7 Eficiencia del sistema .....	101
4.8 Parámetros de operación .....	111
4.9 Discusión de resultados .....	112
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS .....	119
5.1 Conclusiones.....	119
5.2 Sugerencias.....	120
Referencias .....	121

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b>	Fotografía de turba y carbón	2
<b>Figura 1.2</b>	Fotografía de un parque de viento en Oaxaca de Juárez	4
<b>Figura 1.3</b>	Fotografía de planta generadora de energía geotérmica en Cerro Prieto	6
<b>Figura 1.4</b>	Fotografía de biomasa acondicionada: briquetas y aserrín	9
<b>Figura 1.5</b>	Isótopos del hidrógeno	16
<b>Figura 1.6</b>	Distribución de la producción de H <sub>2</sub> por fuente de energía primaria	18
<b>Figura 1.7</b>	Fotografía del aterrizaje y explosión del Hindenburg en Nueva Jersey en 1937	23
<b>Figura 1.8</b>	Usos y aplicaciones del hidrógeno	26
<b>Figura 2.1</b>	Fases de la degradación anaerobia y sus poblaciones bacterianas	30
<b>Figura 2.2</b>	Volumen de biogás acumulado en función del tiempo a diferentes temperaturas	36
<b>Figura 2.3</b>	Concentración de H <sub>2</sub> en función del tiempo a diferentes temperaturas	37
<b>Figura 2.4</b>	Volumen total de H <sub>2</sub> producido por Kg de sustrato inicial (ST) a diferentes temperaturas	37
<b>Figura 2.5</b>	Producción acumulada de H <sub>2</sub> en función del tiempo, a diferente pH inicial	38
<b>Figura 2.6</b>	Producción de H <sub>2</sub> en función del pH a temperatura mesofílica (37°C)	43
<b>Figura 2.7</b>	Producción de H <sub>2</sub> en función del pH a temperatura extremotermofílica (70°C)	44
<b>Figura 2.8</b>	Contenido de H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> y CO <sub>2</sub> en el biogás con un TRH de 24h	46
<b>Figura 2.9</b>	Efecto del TRH en el rendimiento de H <sub>2</sub> y CH <sub>4</sub> (pH 7 y 70° C)	46
<b>Figura 2.10</b>	Efecto de la aspersion de CH <sub>4</sub> en la fase líquida durante la producción de H <sub>2</sub> a condiciones mesofílicas	48

<b>Figura 2.11</b>	Producción de H <sub>2</sub> con diferente pH y velocidad de agitación	58
<b>Figura 2.12</b>	Usos del biogás	61
<b>Figura 2.13</b>	Imágenes MET de nanoestructuras de carbono	66
<b>Figura 2.14</b>	Imágenes MEB de zeolitas con altos valores de microporos a 1 μm y 100nm respectivamente	67
<b>Figura 2.15</b>	Estructura cristalina del MgH <sub>2</sub>	70
<b>Figura 3.1</b>	Diseño del reactor anaerobio	75
<b>Figura 3.2</b>	Dimensiones del reactor	76
<b>Figura 3.3</b>	Fotografía del fermentador oscuro en experimentación	77
<b>Figura 3.4</b>	Fotografía de los principales componentes de los residuos de frutas y verduras a alimentar al fermentador	78
<b>Figura 3.5</b>	Fotografía del arreglo final para el experimento	80
<b>Figura 3.6</b>	Baño recirculador	82
<b>Figura 3.7</b>	Bomba de alimentación	82
<b>Figura 3.8</b>	Potenciómetro	83
<b>Figura 3.9</b>	Medidor de flujo de biogás	84
<b>Figura 3.10</b>	Espectrómetro de masas BELmass	84
<b>Figura 3.11</b>	Fotografía del arreglo de almacenamiento de biogás para su análisis	84
<b>Figura 4.1</b>	pH respecto al tiempo	90
<b>Figura 4.2</b>	Composición del biogás en función del pH	91
<b>Figura 4.3</b>	Concentración de hidrógeno en el biogás en función del pH	92
<b>Figura 4.4</b>	TRH respecto al tiempo	93
<b>Figura 4.5</b>	Composición del biogás respecto al TRH	94
<b>Figura 4.6</b>	Concentración de hidrógeno en el biogás en función del TRH	95
<b>Figura 4.7</b>	Composición del sustrato 1	95
<b>Figura 4.8</b>	Composición del sustrato 2	96
<b>Figura 4.9</b>	Concentración de hidrógeno de acuerdo al tipo de sustrato utilizado	97
<b>Figura 4.10</b>	Concentración de sólidos respecto al pH	98
<b>Figura 4.11</b>	Composición del biogás en función de los STT	99

<b>Figura 4.12</b>	Composición del biogás en función de los STV	100
<b>Figura 4.13</b>	Composición del biogás en función de los STF	101
<b>Figura 4.14</b>	Producción de biogás respecto al tiempo	102
<b>Figura 4.15</b>	Volumen de gas acumulado respecto al tiempo	103
<b>Figura 4.16</b>	Composición del biogás respecto al tiempo	104
<b>Figura 4.17</b>	Resultados de STT con respecto al tiempo del arranque y la operación	106
<b>Figura 4.18</b>	Resultados de STV con respecto al tiempo del arranque y operación	107
<b>Figura 4.19</b>	Resultados de STF con respecto al tiempo del arranque y operación	107
<b>Figura 4.20</b>	Porcentaje de remoción respecto al tiempo	108
<b>Figura 4.21</b>	Porcentaje de remoción en función del pH	109
<b>Figura 4.22</b>	Porcentaje de remoción respecto al TRH	110

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.1</b>	Tipos de biocombustibles	8
<b>Tabla 1.2</b>	Ventajas del uso de biomasa en la producción de biocombustibles	12
<b>Tabla 1.3</b>	Principales propiedades físicas y químicas del hidrógeno	17
<b>Tabla 1.4</b>	Medidas de seguridad en una instalación de hidrógeno	25
<b>Tabla 2.1</b>	Rendimientos en la producción de H <sub>2</sub> por lotes a partir de diferentes sustratos	50
<b>Tabla 2.2</b>	Rendimientos de H <sub>2</sub> por diferentes cultivos puros durante la fermentación oscura	56
<b>Tabla 2.3</b>	Componentes del biogás en función del sustrato utilizado	60
<b>Tabla 2.4</b>	Principales características de diversos métodos de almacenamiento de H <sub>2</sub>	63
<b>Tabla 3.1</b>	Especificaciones del reactor fermentador oscuro	76
<b>Tabla 3.2</b>	Especificaciones del motor	77
<b>Tabla 3.3</b>	Análisis en la fase gaseosa del reactor	78
<b>Tabla 3.4</b>	Análisis en la fase líquida del reactor	78
<b>Tabla 3.5</b>	Caracterización físico-química del sustrato diluido	79
<b>Tabla 3.6</b>	Caracterización físico-química del inóculo sin diluir	80
<b>Tabla 3.7</b>	Parámetros de operación durante la fermentación oscura	80
<b>Tabla 3.8</b>	Especificaciones del baño recirculador	82
<b>Tabla 3.9</b>	Especificaciones de la bomba peristáltica	82
<b>Tabla 3.10</b>	Especificaciones del potenciómetro	83
<b>Tabla 3.11</b>	Especificaciones del flujómetro	84
<b>Tabla 3.12</b>	Especificaciones del espectrómetro BELmass	85
<b>Tabla 4.1</b>	Resumen de condiciones en la etapa de arranque	86
<b>Tabla 4.2</b>	Resumen de condiciones en la operación del experimento	88
<b>Tabla 4.3</b>	Caracterización físico-química del sustrato 1	96
<b>Tabla 4.4</b>	Caracterización físico-química del sustrato 2	96

<b>Tabla 4.5</b>	Azúcares libres en la zanahoria	97
<b>Tabla 4.6</b>	Influencia del pH y la agitación en la producción de hidrógeno	105
<b>Tabla 4.7</b>	Porcentajes de remoción de los STT, STV y STF respecto al pH	109
<b>Tabla 4.8</b>	Condiciones de operación durante la producción de hidrógeno	111
<b>Tabla 4.9</b>	Comparación de diversas investigaciones para la producción de hidrógeno	112

## ABREVIATURAS

**AGV:** Ácidos grasos volátiles

**BAL:** Bacterias ácido lácticas

**DQO:** Demanda química de oxígeno

**EOC:** Estructuras orgánico covalentes (por sus siglas en ingles COFs)

**EOM:** Estructuras orgánico metálicas (por sus siglas en inglés MOFs)

**ER:** Energía renovable

**FER:** Fuentes de energía renovable

**kJ:** kilo Joules

**MEB:** Microscopía electrónica de barrido (por sus siglas en inglés SEM)

**MET:** Microscopía electrónica de transmisión (por sus siglas en inglés TEM)

**pH:** Potencial hidrógeno

**RCA:** Reactor continuo agitado (por sus siglas en ingles CSTR)

**rpm:** revoluciones por minuto

**RSD:** residuos sólidos domésticos

**RSU:** residuos sólidos urbanos

**SDF:** Sólidos disueltos fijos

**SDV:** Sólidos disueltos volátiles

**SDT:** Sólidos disueltos totales

**SSF:** Sólidos suspendidos fijos

**SST:** Sólidos suspendidos totales

**SSV:** Sólidos suspendidos volátiles

**STT:** Sólidos totales totales

**STF:** Sólidos totales fijos

**STV:** Sólidos totales volátiles

**SV:** Sólidos volátiles

**TRH:** Tiempo de retención hidráulica

**WGS:** Water-gas shift reaction

## RESUMEN

El presente estudio muestra el arranque y operación de una planta prototipo para la generación de hidrógeno por fermentación oscura. El proceso se llevó a cabo por 62 días en un reactor continuo agitado (RCA) de acero inoxidable con capacidad de 60 L.

El inóculo utilizado en el experimento fue estiércol de cerdo procedente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. El reactor fue alimentado con residuos orgánicos de frutas y verduras de varias cafeterías y establecimientos de Ciudad Universitaria a una temperatura extremo-termofílica de 70°C generando durante todo el experimento un volumen de biogás de 64.5L.

El pH varió a lo largo del experimento, sin embargo, las mayores concentraciones de hidrógeno en el biogás se reportaron en un rango de pH de 5 a 5.5, con un pH óptimo de 5.5. En cuanto al tiempo de retención hidráulica (TRH), el óptimo fue de 2.5 días, manteniendo una agitación de 46 rpm. Así, a estas condiciones se obtuvo la mayor concentración de H<sub>2</sub> en el biogás con un 17.55% y un rendimiento de 3.91 mL H<sub>2</sub>/ g sólido total volátil agregado (STV<sub>agregado</sub>).

Se analizaron 2 tipos de sustrato, el sustrato 1 con 58% de zanahoria y el sustrato 2 con 5% de zanahoria en su composición. Debido a que la sacarosa es el carbohidrato más abundante en la zanahoria, el sustrato con mayor cantidad de zanahoria presenta también un mayor contenido de sacarosa en su composición.

La mayor producción de hidrógeno se obtuvo usando el sustrato 1 (58% de zanahoria). Tal comportamiento, supone que la producción de hidrógeno depende de la población bacteriana y de la facilidad para degradar el sustrato. En este caso, las bacterias degradaron mejor los sustratos ricos en sacarosa, produciendo así una mayor cantidad de hidrógeno. La cantidad óptima de sólidos totales (STT) en el sustrato para este experimento fue de 3.33% ó bien 33.3 g/L, produciendo una concentración máxima de 17.55% de H<sub>2</sub>.

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento acelerado de la población ha generado un aumento en las necesidades energéticas para cubrir la demanda de servicios, consumo y transformación de recursos. Cerca del 80% de la demanda energética mundial la cubren los combustibles fósiles. En México, los hidrocarburos participan en un 90.3%. Sin embargo, la formación de núcleos urbanos también implica la producción de basura y desechos. Según el INEGI, en el 2012 se generaron 41,062.5 miles de toneladas de residuos sólidos urbanos (RSU) a nivel nacional, de las cuales 21,524.9 miles de toneladas (cerca del 50%) pertenecían a la fracción orgánica de tales residuos.

Todos estos factores tienen una fuerte repercusión ambiental. La calidad del suelo y agua se ha visto afectada por el manejo inadecuado y la disposición final de toda clase de desechos (domésticos, agrícolas, ganaderos e industriales). No obstante, el problema más grave se encuentra en la contaminación atmosférica. El uso desmedido de los combustibles fósiles ha ocasionado fenómenos como la lluvia ácida, la depleción de la capa de ozono y el calentamiento global.

La mayoría de las emisiones contaminantes ( $\text{SO}_2$ , NO, CO,  $\text{CO}_2$ , S, Pb) provienen del sector industrial y de transporte. Por lo tanto, los esfuerzos a nivel mundial se enfocan en sustituir a los combustibles fósiles por biocombustibles que no contribuyan en dichas emisiones y que se obtengan a través de fuentes de energía renovables. Entre estos biocombustibles, el hidrógeno se perfila como un vector energético muy prometedor, ya que presenta un alto contenido de energía y durante su combustión sólo genera vapor de agua, convirtiéndolo así en un biocombustible amigable para el medio ambiente.

El hidrógeno se obtiene a partir de métodos químicos, electrolíticos y biológicos. Dentro de los métodos biológicos, la fermentación oscura parece ser el proceso más favorable, ya que puede llevarse a cabo a tasas de producción más altas y bajo costo. En este proceso pueden usarse gran variedad de sustratos orgánicos y

aguas residuales, incluyendo biomasa de desecho (como la fracción orgánica de la basura) para la generación del biogás y específicamente, la producción de H<sub>2</sub>.

Durante la fermentación oscura participan principalmente bacterias anaerobias sobre sustratos ricos en hidratos de carbono y sin necesidad de luz para generar biogás. Las bacterias pueden provenir de un inóculo puro, o bien, de un inóculo mixto procedente de aguas residuales, lodos digeridos o estiércol de animales.

Las excretas de animales, particularmente las de cerdo y aves de corral, ocasionan graves problemas de contaminación debido a la facilidad con que sus componentes se integran al agua y suelo, así como los olores que generan. Por lo tanto, una de las estrategias de solución a esta problemática es la utilización de excretas como fuente de inóculo para la fermentación oscura. A través del control de ciertos factores como la temperatura, el TRH, la agitación y la presión parcial de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> en el proceso de fermentación es posible destruir la presencia de microorganismos patógenos y favorecer la producción de H<sub>2</sub> en el biogás.

Este trabajo tiene como finalidad la producción de hidrógeno a partir de desechos de frutas y verduras de varias cafeterías y negocios locales en Ciudad Universitaria, UNAM. El uso de estos desperdicios como sustrato presenta varios beneficios: por un lado, se atiende a la problemática energética con materia prima de bajo costo y, por otro, se reducen los volúmenes de desecho, dando uso sostenible a los recursos naturales.

Los microorganismos son capaces de generar H<sub>2</sub> en un rango de temperatura de 15-85°C, sin embargo, el trabajar a condiciones extremotermofílicas (65-80°C) presenta varias ventajas. Se ha reportado que el rendimiento de producción es más alto a condiciones extremo-termofílicas que a mesofílicas o termofílicas (Yokoyama y col., 2007a). Además, a esta temperatura se favorece la destrucción de microorganismos patógenos y consumidores de H<sub>2</sub>. De acuerdo a lo citado, en esta investigación se evaluará la producción de H<sub>2</sub> a 70 °C.

En cuanto al pH óptimo, los resultados obtenidos han sido variables. Algunos investigadores reportan un rango óptimo entre 5.2 y 6.0 (Oh y col., 2004; Zhang y

col., 2008a), mientras que otros lo amplían a 7.5. Por su parte, Liu y col., (2008a) hicieron un estudio donde se evaluó el efecto del pH en la producción de H<sub>2</sub>, operando a condiciones extremo-termofílicas (70°C) y usando residuos sólidos domésticos (RSD) como sustrato. El rango de pH evaluado fue de 4-8.5, obteniendo una producción máxima de 257± 25mLH<sub>2</sub>/g STV<sub>agregado</sub> a un pH de 7. El trabajar a este pH (7) combinado con un TRH corto inhibe el crecimiento de bacterias metanogénicas y favorece la producción de H<sub>2</sub> (Kotsopoulos y col., 2009). Por lo tanto, el pH de operación durante el proceso será 7.

Ya que el TRH interviene en la selección de las bacterias presentes en el inóculo, es necesario mantener TRH cortos a fin de eliminar la metanogénesis. Se ha reportado que las bacterias metanogénicas requieren un TRH mayor a 3 días para permanecer dentro del reactor (Kim y col., 2004). Sin embargo, para la hidrólisis de residuos sólidos domésticos (RSD) a pH neutro, el TRH no debe ser menor a 2 días (Liu y col., 2008 c). En base a ello, el TRH deseado será de 2 días.

Debido a la demanda energética actual, los problemas ambientales por el uso desmedido de combustibles fósiles, así como la contaminación generada por el manejo inadecuado de los residuos orgánicos, surge la necesidad de encontrar combustibles alternativos que sean amigables al medio ambiente y sean obtenidos a partir de procesos eficientes. Considerando las problemáticas mencionadas, el hidrógeno se ve como el futuro portador energético y dentro de este escenario, uno de los procesos a estudiar por su versatilidad en el uso de sustratos es la fermentación oscura. Por lo tanto, la producción de hidrógeno por fermentación oscura es un tema en el que vale la pena profundizar, de acuerdo a ello se establece el objetivo del presente trabajo.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Realizar el arranque y operación de una planta prototipo para la generación de hidrógeno a partir de desechos de frutas y verduras a condiciones extremo-termofílicas y parámetros operacionales previamente establecidos que favorecen dicha producción.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Analizar la cantidad de biogás producido y su composición a condiciones extremo-termofílicas.
- Evaluar la producción de hidrógeno usando como inóculo estiércol de cerdo.
- Evaluar la producción de hidrógeno usando como sustrato desechos orgánicos de frutas y verduras de Ciudad Universitaria, UNAM.
- Obtener la mayor producción de hidrógeno en el biogás.
- Aplicar técnicas de inhibición para microorganismos metanogénicos.

# CAPÍTULO 1

## ANTECEDENTES

### 1.1 Energías renovables

La energía es una contribución fundamental para el desarrollo social y económico. Como resultado de la generalización de la agricultura, actividades domésticas e industriales, la demanda de la energía ha aumentado notablemente, especialmente en los países emergentes. Esto ha producido un crecimiento acelerado en los niveles de emisiones de gases de efecto invernadero y un aumento en los precios de los combustibles, convirtiéndose así, en el impulso principal de los esfuerzos para utilizar fuentes de energía renovable de manera más eficiente (Baños y col., 2011).

La energía se produce de diferentes fuentes y es almacenada en distintas formas. Las fuentes se pueden clasificar en primarias o secundarias. Se denominan primarias aquéllas de las que puede obtenerse la energía directamente y secundarias si es necesario recurrir a otra fuente. Asimismo, las fuentes de energía se clasifican en renovables y no renovables. Son renovables si su energía se sigue produciendo en la actualidad y si su consumo se repone. Por el contrario, son no renovables aquéllas que se encuentran en cantidad limitada, que hoy en día no se producen y cuyo consumo acabará por agotar la reserva (Juana y col., 2003).

#### **Fuentes de energía no renovable: Combustible fósil**

Los restos de bosques, de animales y materia orgánica en general, acumulados durante millones de años bajo grandes capas de tierra a altas presiones y temperaturas, fueron descomponiéndose lentamente mediante la acción de microorganismos anaerobios y han dado lugar a lo que hoy se denomina combustibles fósiles: carbón, petróleo y gas natural. El tipo de combustible fósil formado depende de la clase de material descompuesto, de las condiciones en que se ha producido y del tiempo transcurrido.

El carbón se ha formado en medio ácido y saturado de agua, principalmente a partir de materia vegetal. En un principio se forma la turba para después de miles de años transformarse en carbón. En la Figura 1.1 se observan ambos minerales, la turba se caracteriza por su color pardo oscuro con aspecto terroso y de poco peso, la cual al arder produce un humo denso (RAE, 2001). El carbón es el combustible fósil más abundante y ampliamente distribuido sobre la Tierra, no obstante, presenta un alto contenido de azufre.



Figura 1.1 Fotografía de turba y carbón (Mena, 2013)

Las formaciones de petróleo y gas natural van asociadas. El material de origen es principalmente sedimento marino o de grandes lagos, acumulado a gran profundidad, más de 500 metros y sometido a temperatura elevada. Las condiciones de alta presión y de temperatura hacen que se inicien procesos químicos de descomposición, resultando en la producción de gas natural (metano) y en petróleo como residuo.

Las fuentes de energía fósil no son renovables, se crearon hace millones de años y su utilización conlleva su agotamiento. Por tanto, es necesario desarrollar tecnologías y procedimientos para utilizar otras fuentes de energía renovable (Juana y col., 2003).

### **Fuentes de energía renovable (FER)**

Las FER producen energía constantemente, de forma que la energía consumida se renueva de manera continua; en consecuencia, su utilización es ilimitada (Juana y col. 2003). Las energías renovables (ER) son todas aquellas que residen

en fenómenos de la naturaleza, procesos o materiales susceptibles de ser transformados en energía aprovechable, que se regeneran naturalmente y que se encuentran disponibles de forma periódica, como la energía solar, eólica, hidroeléctrica, mareomotriz, geotérmica y la biomasa (Baños y col., 2011).

## **Energía solar**

El sol es una masa de materia gaseosa caliente que irradia una temperatura efectiva de unos 6000°C. El sol produce constantemente energía radiante, que llega directamente a la Tierra. Esta radiación que llega del sol es la principal fuente de energía y, sin ella, no sería posible la vida (Juana y col., 2003).

En muchas partes del mundo, la radiación solar directa es considerada como una de las mejores fuentes posibles de energía. Las principales formas de convertir la radiación solar en energía son el diseño solar activo y pasivo. El diseño solar pasivo se basa en el diseño óptimo de edificios y hogares que captan la energía del sol con el fin de reducir la necesidad de luz artificial y calefacción (Charron y Athienitis, 2006). El diseño solar activo usa otra fuente de energía para mover el fluido calefactor. Se basa en calentar agua convirtiendo la radiación solar en calor, usando paneles fotovoltaicos y celdas solares para transformar así la radiación solar. Para el diseño de sistemas de energía solar pasivos y activos, son necesarios los datos de radiación para el estudio de ubicación. Sin embargo, la utilización de dichos sistemas solares ofrece serias dificultades por su estacionalidad, alternancia día-noche, dependencia de otras condiciones atmosféricas y costo, que dista aún de ser competitivo con los combustibles fósiles (Juana y col. 2003).

La tecnología solar de calentamiento de agua para uso doméstico surgió desde finales del Siglo XIX y se ha extendido por varios países, en algunos de los cuales su uso es obligatorio, como es el caso de Israel. En México, se producen calentadores solares desde 1942, con altos índices de calidad y eficiencia ya que la mayor parte del territorio de México registra altos niveles de insolación durante

la mayor parte del año, equivalentes a 5 kWh/m<sup>2</sup>-día promedio, lo que se traduce en un alto potencial de aprovechamiento de la energía solar (CONUEE, 2009a).

## **Energía eólica**

El viento se origina por el variado calentamiento de las zonas de la atmósfera, dando lugar a masas de aire de diferente densidad, lo que hace descender a las más densas y elevarse a las más ligeras. Sobre ese movimiento también inciden el de rotación de la Tierra y la configuración orográfica de su superficie (Juana y col., 2003). La energía del viento es transformada en energía mecánica de rotación ya sea para accionar directamente máquinas (molinos de viento) o para mover aerogeneradores para la producción de energía eléctrica.

Actualmente, el viento es una de las fuentes más prometedoras de energía alternativa. Recientemente, Hernández-Escobedo y col., (2011) demostraron que el viento es un fenómeno periódico en grandes zonas geográficas como México. Estados como Oaxaca (en la región del Istmo de Tehuantepec), Zacatecas e Hidalgo, poseen un alto potencial para el aprovechamiento de la fuerza de los vientos (CONUEE, 2009b). La Figura 1.2 muestra un parque de viento instalado en el Estado de Oaxaca, éste parque forma parte del corredor eólico del Istmo, el cual se compone de 11 centrales con capacidad de generar 938 MW de energía eléctrica (GEO, 2012).



Figura 1.2 Fotografía de un parque de viento en Oaxaca de Juárez (GEO, 2012)

Muchos investigadores están en continuo desarrollo de nuevas estrategias para optimizar el diseño y operación de los sistemas de energía eólica (Henriksen,

2010). No obstante, los sistemas de energía eólica no pueden ser técnicamente viables en todos los lugares debido a la baja velocidad del viento y al hecho de que es más impredecible que la energía solar. Áreas en las que los vientos son fuertes y más constantes, como en alta mar y sitios de elevada altitud, son preferidos como lugares para parques eólicos.

Hoy en día, ciertos trabajos han analizado a detalle cómo determinar la disponibilidad de energía eólica que tiene un lugar, de acuerdo a datos históricos de la velocidad del viento y su capacidad de satisfacer un objetivo de demanda (Nigim y Parker, 2007).

### **Energía hidroeléctrica y mareomotriz**

La energía hidroeléctrica es el poder que se deriva de la fuerza del agua en movimiento mediante el uso de la fuerza gravitacional de la caída o corrientes de agua, la cual puede ser aprovechada para fines útiles. Tomando en cuenta el hecho de que el agua es mucho más densa que el aire, incluso una corriente de agua de flujo lento o moderado del fondo del mar, puede producir cantidades considerables de energía. Hay varias formas de energía hidráulica que se utilizan actualmente o que están en desarrollo. Grandes categorías incluyen la energía mareomotriz, que se refiere principalmente a la energía transportada por las olas del mar y mareas.

En las últimas décadas ha habido un creciente interés en el área de desarrollo y control de modelos de plantas hidroeléctricas (Kishor y col., 2007). La instalación de tales plantas no genera emisiones de gases de efecto invernadero, ni consumen combustibles fósiles, sin embargo tienen un fuerte impacto ambiental en el ecosistema.

### **Energía geotérmica**

El aprovechamiento geotérmico es la extracción mediante pozos profundos del calor almacenado a grandes profundidades en los yacimientos acuíferos de alta temperatura (300-400 °C), para su empleo en la producción de electricidad.

Mediante sistemas de prospección (pozos exploratorios profundos) se puede determinar si el volumen de agua hirviente es suficientemente grande y si tiene la temperatura conveniente y las condiciones adecuadas para explotar comercialmente el yacimiento geotérmico. En cuanto al funcionamiento de una central geotérmica, una vez detectado el yacimiento, se perforan pozos adicionales para la extracción del vapor que será remitido a la central de generación mientras que al agua hirviente asociada se reinyecta en el yacimiento (EGM, 2004).

En la Figura 1.3 se observa la planta generadora de energía geotérmica Cerro Prieto, localizada en Baja California Norte. La producción geotérmica industrial de la planta comenzó en 1973 con 75 MW (EGM, 2004). Actualmente, México ocupa el tercer lugar en cuanto al aprovechamiento de la energía geotérmica, detrás de Estados Unidos y Filipinas (CONUEE, 2009c).



Figura 1.3 Fotografía de la planta generadora de energía geotérmica Cerro Prieto (EGM, 2004)

### **1.1.1 Bioenergía y biomasa**

La bioenergía es la energía renovable disponible a partir de materiales provenientes de fuentes biológicas (Renewables, 2010). En el contexto energético, el término biomasa se emplea para denominar a una fuente de energía renovable basada en el uso de la materia orgánica, formada por vía biológica en un pasado inmediato o de los productos derivados de ésta. También tienen consideración de

biomasa la materia orgánica de las aguas residuales y los lodos de depuradora, así como la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (RSU).

La biomasa tiene carácter de energía renovable ya que su contenido energético procede en última instancia de la energía solar fijada por los vegetales en el proceso fotosintético. Esta energía se libera al romper los enlaces de los compuestos orgánicos en el proceso de combustión, dando como productos finales dióxido de carbono y agua. Por este motivo, los productos procedentes de la biomasa que se utilizan para fines energéticos se denominan biocombustibles.

La combustión de biomasa produce CO<sub>2</sub>, pero una cantidad análoga a la emitida es captada previamente por las plantas durante su crecimiento, por lo que su combustión no supone un incremento neto de este gas en la atmósfera.

### **Fuentes de biomasa**

La biomasa abarca todo un conjunto heterogéneo de materias orgánicas. Como fuentes de biomasa para la obtención de energía se pueden mencionar la biomasa natural, la biomasa residual, los excedentes de cosechas agrícolas y los cultivos energéticos. La biomasa natural es la base del consumo energético de los pueblos en vías de desarrollo; por ejemplo, la leña ha sido utilizada tradicionalmente por el hombre para calentarse y cocinar. Sin embargo a medida que aumenta la población y su demanda de energía, se ejerce mayor presión sobre los ecosistemas naturales, llegando en ocasiones a un sobreconsumo, lo que genera situaciones de desertización.

La biomasa residual es la que surge como consecuencia de cualquier proceso en la que ésta se consume. Se produce en explotaciones agrícolas, forestales o ganaderas, así como los residuos de origen orgánico generados en las industrias y en los núcleos urbanos. La presión del sector agrario ha hecho que en ocasiones se destinen los excedentes de algunos productos agrícolas a su transformación en biocarburantes, pero son los cultivos energéticos los que tienen como destino producir biomasa transformable en biocombustibles. Éstos son ya una realidad en

países como Brasil y EE.UU., que enfocan la producción de caña de azúcar y maíz a la obtención de bioetanol (Fernández, 2008).

### 1.1.2 Tipos de biocombustibles

La biomasa es una excelente alternativa energética, como se puede observar en la Tabla 1.1. A partir de ella se obtiene una gran diversidad de productos que se adaptan a todos los campos de utilización actual de los combustibles tradicionales. Así, mediante procesos específicos, se pueden obtener combustibles sólidos, líquidos o gaseosos que pueden ser aplicados para cubrir las necesidades energéticas de confort, transporte, cocina, industria y electricidad, o servir de materia prima para la industria.

**Tabla 1.1 Tipos de biocombustibles (Fernández, 2008)**

SÓLIDOS		LÍQUIDOS	GASEOSOS
Materia de origen agrícola, forestal e industrial	Materia Acondicionada	Biohidrocarburos (bioetanol y biodiesel)	Gas de gasógeno
Leña sin procesar y carbón vegetal	Astillas		(combustión parcial de leña o carbón)
Restos de poda y aclareos de masas forestales	Briquetas y pellets	Aceites vegetales y esteres	Biogás
Cáscaras de frutos secos y huesos	Triturados finos (menores de 2mm)	Aceites de pirólisis	Hidrógeno
Restos de las industrias del corcho, madera y muebles			

Aunque una parte importante de la biomasa se utiliza directamente, el uso energético moderno de los biocombustibles sólidos requiere un acondicionamiento especial. Las formas más generalizadas de utilización de este tipo de combustibles son: astillas, aserrín, pellets y briquetas. Las astillas se obtienen de

restos leñosos de las operaciones de poda de árboles y corte de madera. Son un material adecuado para ser empleado en hornos cerámicos, de panadería, viviendas individuales y calefacción centralizada de núcleos rurales o pequeñas industrias.

Las briquetas son cilindros de 50 a 130 mm de diámetro y de 5 a 30 mm de longitud; tienen una densidad elevada (entre 1000 y 1300 kg/m<sup>3</sup>) y se fabrican por medio de prensas, en las que el material (aserrín) es sometido a altas presiones y calor, produciendo en su interior procesos termoquímicos que generan productos adherentes favoreciendo así la cohesión del material. La Figura 1.4 muestra el acondicionamiento de la biomasa a briquetas y aserrín.



Figura 1.4 Fotografía de biomasa acondicionada: briquetas y aserrín (Fernández, 2008)

Los pellets son cilindros más pequeños. Se preparan mediante prensas de granulación, similares a las que se usan en la fabricación de los piensos compuestos. La compactación se consigue de forma natural o mediante la adición de elementos químicos que no contengan elementos contaminantes en la combustión. La materia prima, al igual que en el caso de las briquetas, debe tener poca humedad y baja granulometría.

El carbón vegetal se obtiene mediante la combustión lenta y parcial de biomasa leñosa con un cierto contenido en humedad a una temperatura variable (entre 250 y 600°C). El contenido calórico del carbón vegetal (cisco) es de unas 6,000 a 8,000 Kcal/kg según su contenido en cenizas. En el proceso de transformación

del carbón, se forman también un conjunto de aceites pesados y de productos de naturaleza diversa que se aglutinan con la denominación de breas o “aceites de pirólisis”, y que pueden utilizarse para fines energéticos en sustitución de combustibles líquidos. La denominación de biocombustibles líquidos se aplica a una serie de productos de origen biológico utilizables como combustibles de sustitución de los derivados del petróleo o como aditivos de éstos para su uso en motores; los más desarrollados hasta ahora son el biodiésel y el bioetanol (Fernández, 2008).

El biodiésel es un combustible renovable que se obtiene por la transesterificación de aceites vegetales (girasol, soya, canola, palma y coco) y grasas animales (vaca, búfalo), así como de aceites reciclados (frituras). Posee propiedades muy parecidas a las del gasóleo de automoción en cuanto a densidad y número de cetano, mientras que presenta un punto de inflamación superior. Por ello, el biodiésel puede mezclarse con el gasóleo para su uso en motores, e incluso sustituirlo totalmente si estos últimos se modifican convenientemente (García y García, 2008). Una ventaja ecológica, en comparación con el diésel de origen fósil, es que reduce las emisiones de gases que provocan el efecto de invernadero. Por ejemplo, el uso de una tonelada de biodiesel evita la producción de 2.5 toneladas de CO<sub>2</sub> y sobre todo, si se usa sólo en los motores, elimina las emisiones de SO<sub>2</sub> del diésel, evitando las lluvias ácidas (CONUEE, 2010).

El bioetanol se produce por la fermentación de los azúcares contenidos en la materia orgánica de plantas y cereales (maíz, sorgo, cebada, caña de azúcar), aunque también es posible a partir de residuos agrícolas, forestales, urbanos e industriales. En este proceso se obtiene el alcohol hidratado, con un contenido aproximado del 5% de agua, que tras ser deshidratado se puede utilizar como combustible. El empleo de estos residuos presenta un bajo costo, aunque en el caso de los residuos sólidos urbanos (RSU) la presencia de componentes no deseados puede hacer necesario un proceso de separación previo a la fermentación, con el incremento en el costo de la producción de bioetanol (García y García, 2008).

Entre los biocombustibles gaseosos que se pueden obtener a partir de la biomasa están el gas de gasógeno, el biogás y el hidrógeno. De estos dos últimos se profundizará más adelante en las secciones 2.5 y 1.4. Al someter la biomasa (o el cisco y la brea resultantes de la pirólisis) a altas temperaturas (entre 800 y 1,500°C) en ausencia de oxígeno, se originan productos gaseosos, con un poder calorífico bajo (de 1,000 a 1,200 Kcal/m<sup>3</sup>), compuesto principalmente de N<sub>2</sub>, CO, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> en proporciones variables. Este proceso se realiza en los llamados gasógenos, que se utilizan con fines térmicos o, en combinación con motores, para producir energía mecánica o eléctrica. En principio, el destino del gas de gasógeno suele ser la producción de calor por combustión directa en un quemador o la generación de electricidad por medio de un motor o turbina. En la actualidad, los procesos de gasificación avanzada, basados en sistemas de lecho fluidizado, son los más prometedores para la generación de electricidad, con una alta eficiencia en base a ciclos combinados de turbina de gas y ciclo de vapor. Por ello es muy importante la obtención de gases limpios.

El biogás, es un combustible gaseoso que se produce por la degradación de la biomasa, en condiciones anaerobias, a razón de unos 300 L/kg materia seca, con un valor calórico de unos 5,500 Kcal/m<sup>3</sup>. La composición del biogás es variable, pero está formado principalmente por CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> y en menor proporción, por N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S (trazas) (Fernández, 2008). Una de las ventajas del biogás es que se almacena fácilmente y que puede ser distribuido a través de la infraestructura ya existente del gas natural (Nielsen y col., 2009). Por último se encuentra el hidrógeno, que es considerado actualmente como un “vector energético” de enorme potencial; puede ser obtenido por métodos termoquímicos, electrolíticos y biológicos. Su combustión produce sólo agua y una gran cantidad de energía (27 Kcal/g), por lo que resulta idóneo para múltiples aplicaciones en la industria, transporte y el hogar (Fernández, 2008).

La biomasa es una de las fuentes de energía renovables más prometedoras, pero se requiere más investigación para demostrar que la generación de energía a partir de biomasa es técnica y económicamente viable. Existen centrales de

energía a partir de biomasa en más de 50 países alrededor del mundo y suministran una creciente cuota de electricidad. Los países europeos están ampliando su porcentaje total de energía de biomasa, tales como Austria (7% de la generación de energía renovable), Finlandia (20%) y Alemania (5%) (Renewables, 2010).

Por lo tanto, el uso de biomasa para generar biocombustibles presenta varias ventajas ambientales y socioeconómicas. La Tabla 1.2 muestra las ventajas más importantes frente al uso de combustibles fósiles.

Tabla 1.2 Ventajas del uso de biomasa en la producción de biocombustibles (Fernández, 2008; SAGARPA ,2014)

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Balance neutro de emisiones de CO <sub>2</sub> , principal responsable del efecto invernadero.	Poseen baja densidad energética frente a los combustibles fósiles, por lo que se requiere mayor cantidad de biomasa, así como sistemas de almacenamiento y transporte más grandes.
Al tener escaso o nulo contenido en azufre, se evita la formación de óxidos de azufre, causantes de la lluvia ácida.	
Las emisiones de biocarburantes usados en motores contienen menos partículas sólidas y menor toxicidad que las procedentes de carburantes convencionales.	La producción de cultivos energéticos puede llevar a la ocupación de tierras boscosas o selváticas, causando un efecto negativo en la biodiversidad e incluso la deforestación.
Recuperación de elementos minerales con valor fertilizante (P y K) en las cenizas de la combustión.	Dedicar tierra cultivable a la producción de biocombustibles puede disminuir la destinada a producir alimentos para humanos y animales, impactando así su cantidad y elevando su precio.
Disminuye la dependencia externa del abastecimiento de combustibles.	
Favorece el desarrollo del sector agrícola.	
Su aprovechamiento energético supone convertir un residuo en un recurso.	

En la utilización de biomasa para cualquiera de los procesos, conviene siempre hacer un cuidadoso balance de la energía empleada y de la energía final obtenida (Juana y col., 2003). La sustentabilidad del proceso debe ser evaluada de acuerdo a ciertos indicadores clave como son: precio, eficiencia, emisiones de

gases de efecto invernadero, disponibilidad, limitaciones, uso de suelo y agua, así como el impacto social esperado (Evans y col., 2010).

## **1.2 El hidrógeno como vector energético**

Hasta la fecha, las necesidades mundiales de energía dependen en gran medida de los combustibles fósiles como el petróleo, carbón y gas natural. Como el agotamiento de los combustibles fósiles es inevitable, hay una urgencia de buscar la fuente de reemplazo de la energía (Hawkes y col., 2007). Además el uso extensivo de combustibles fósiles ha creado un problema ambiental. Los productos de la combustión están causando graves problemas globales, tales como el efecto invernadero, la depleción de la capa de ozono, lluvia ácida y por supuesto, la contaminación (Valdez-Vázquez y col., 2005). Por estas razones, las investigaciones están buscando combustibles alternativos que combatan los problemas mencionados, manteniendo los niveles de desarrollo y de bienestar alcanzados por algunos países y su generalización a aquéllos que todavía están a la puerta de una sociedad desarrollada. Una de estas alternativas energéticas es el hidrógeno.

El hidrógeno ha fascinado a generaciones de personas durante siglos, incluyendo visionarios como Julio Verne quien fue el primero en proponer el hidrógeno como combustible del futuro en su novela “La isla misteriosa” en 1874.

El interés en el hidrógeno surgió después de la Primera Guerra Mundial, pero no fue hasta 1970 que la General Motors acuñó el término “economía de hidrógeno”, dicho término implica la sustitución futura de los combustibles fósiles por el H<sub>2</sub>, descansando sobre él el desarrollo tecnológico de la humanidad. (Dunn, 2002; Linares y Moratilla, 2007). Durante los últimos años, la comunidad científica ha visto en el hidrógeno el portador energético idóneo y un potencial combustible para ser usado en el transporte, ya que se trata de un gas con un elevado calor de combustión (572 kJ/mol) que puede ser compatible con el medio ambiente, debido a que su único producto de combustión es el agua (Lubitz y Tumas, 2007). Sin embargo, el hidrógeno no puede ser un sustituto inmediato de los combustibles

fósiles, debido a que no hay hidrógeno molecular en la Tierra. Éste no puede extraerse, sino que debe ser manufacturado, y este proceso requiere energía. El hidrógeno no es, por lo tanto, una fuente de energía renovable o alternativa, sino un promisorio vector energético.

Existen varias razones por las que se apuesta al hidrógeno como vector energético, una de ellas es su elevada eficiencia energética, ya que la energía química del hidrógeno puede ser convertida de forma directa en electricidad, sin necesidad de emplear un ciclo termodinámico intermedio (pilas de combustible). Por otro lado, debido a que es un portador de energía y puede ser obtenido a partir de diversas fuentes de energía primaria (ER, nuclear y carbón), su producción evitaría la presión política por parte de los productores y a su vez provocaría una reducción en la dependencia energética entre los países.

Por último, como se mencionó anteriormente, la ausencia de emisiones de CO<sub>2</sub> durante la combustión del H<sub>2</sub> permite la producción de electricidad limpia. Ésta puede ser aplicada en el sector de transporte, que es responsable del 25% de dichas emisiones en todo el mundo. No obstante, para que la economía del hidrógeno pueda ser una realidad, es preciso que el hidrógeno se produzca a partir de recursos autóctonos o muy extendidos, aceptables para el medio ambiente y que las tecnologías de uso final ganen una cuota de mercado significativa que les permita reducir sus precios.

Afortunadamente, tanto las fuentes como los procedimientos de obtención son muy variados, aunque durante el paso intermedio de la producción es necesario tener un balance económico y energético. Debido a que el hidrógeno es un elemento muy ligero, y esto dificulta su almacenamiento, también deben considerarse en el balance global los costos de dicho almacenamiento, tales como la energía necesaria para comprimirlo, licuarlo, etc. (Linares y Moratilla, 2007).

Por lo tanto, el desarrollo de tecnologías de hidrógeno, se dirige hoy en dos sentidos: producirlo eficientemente a gran escala, y almacenarlo de forma compacta y segura (Das y Veziroglu, 2001; Lin y Hung, 2008).

Tradicionalmente el hidrógeno puede ser producido por termoquímica, métodos electrolíticos y biológicos. Hoy en día, la producción biológica de hidrógeno (haciendo uso de microorganismos) es considerada un método amigable con el medio ambiente, económicamente sustentable y con ventajas potenciales sobre otros procesos porque tiene requerimientos bajos de energía y una reducción en la inversión inicial de costos (Das y Veziroglu, 2001).

La biomasa renovable es el recurso más versátil no basado en petróleo que se genera a partir de varias industrias como materiales de desecho. Materiales lignocelulósicos tales como la madera, alimentos y materiales a base de almidón, aguas residuales industriales y domésticas, así como residuos industriales de biodiésel podrían ser una fuente potencial para la producción biológica de hidrógeno y rentables en el proceso de producción de energía (Okamoto y col., 2000).

### **1.3 Propiedades del hidrógeno**

El químico inglés Henry Cavendish (1731-1810) fue el primero en obtener hidrógeno puro. Debido a que el elemento produce agua cuando se quema en el aire, el químico francés Lavoisier le dio el nombre de hidrógeno, que significa “productor de agua” (del griego *hydro*, agua; *gennaio*, producir).

El hidrógeno es el elemento más abundante en el universo, y es el combustible nuclear que el sol y otras estrellas consumen para producir energía. Aunque alrededor del 70% del universo es el hidrógeno, este elemento constituye sólo el 0.87% de la masa de la tierra. La mayor parte del hidrógeno de nuestro planeta se encuentra asociado al oxígeno. El agua, que contiene 11% de hidrógeno en masa, es el compuesto de hidrógeno más abundante. El hidrógeno es también una parte importante del petróleo, la celulosa, el almidón, las grasas, los alcoholes, los ácidos y una extensa variedad de otros materiales (Brown y col., 2004).

## Isótopos del hidrógeno

El isótopo de hidrógeno más común,  $^1\text{H}$  tiene un núcleo que consiste en un solo protón. Este isótopo, llamado protio, constituye el 99.9844% del hidrógeno presente en la naturaleza.

Se conocen otros dos isótopos de hidrógeno: el deuterio  $^2\text{H}$ , cuyo núcleo contiene un protón y un neutrón, y el tritio  $^3\text{H}$ , en cuyo núcleo hay un protón y dos neutrones. El deuterio  $^2\text{H}$ , constituye el 0.0156% del hidrógeno de origen natural y no es radioactivo. Mientras que el tritio  $^3\text{H}$ , es radioactivo y se forma continuamente en las capas altas de la atmósfera en reacciones nucleares inducidas por los rayos cósmicos, sin embargo debido a su corta vida media (12.3 años) sólo existen trazas de este isótopo en la naturaleza.

La Figura 1.5 presenta el modelo atómico de los isotopos del hidrógeno.

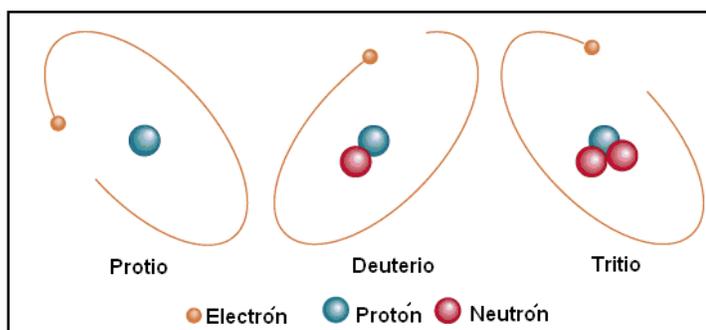


Figura 1.5 Isótopos del hidrógeno (González, 2013)

El hidrógeno elemental existe a temperatura ambiente en forma de gas incoloro, inodoro e insípido compuesto de moléculas diatómicas. Debido a que el  $\text{H}_2$  es no polar y tiene solo dos electrones, las fuerzas de atracción entre moléculas son extremadamente débiles. En consecuencia, el punto de fusión ( $-259.2^\circ\text{C}$ ) y el punto de ebullición ( $-252.8^\circ\text{C}$ ) del  $\text{H}_2$  son muy bajos (Brown y col., 2004).

En la Tabla 1.3 se resumen las propiedades físicas y químicas más importantes del  $\text{H}_2$ .

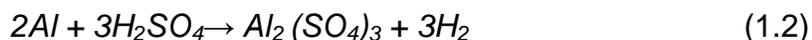
**Tabla 1.3 Principales propiedades físicas y químicas del hidrógeno (Christen, 1986; Lozano y Vigata, 1985)**

Propiedades físicas y químicas del hidrógeno gaseoso	
Inflamabilidad, apariencia, color y olor	Gas inflamable, incoloro e inodoro
Densidad de gas (0°C, 1 Atm.)	0.08235 kg/m <sup>3</sup>
Peso molecular	2.016 g/mol
Punto de ebullición (1 Atm.)	- 252.8 °C
Punto de fusión	-259.2 °C
Punto de inflamación	-18.15 °C
Punto de autoignición	571.2 °C
Temperatura crítica	-239.9 °C
Presión crítica	13 atm.
Solubilidad en agua vol. /vol. (15.6°C, 1 Atm.)	19.2 ml/L H <sub>2</sub> O
Límite superior de Inflamabilidad/volatilidad	75.05%
Límite Inferior de Inflamabilidad/volatilidad	4.0%
Toxicidad	No tóxico

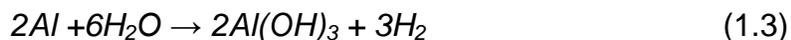
#### 1.4 Procesos para la obtención del hidrógeno

La producción del hidrógeno es muy diversa porque puede producirse a partir de una amplia variedad de fuentes de energía tanto tradicionales como renovables. Existen muchas rutas para la producción de hidrógeno, pero no todas son de igual importancia económica (Züttel y col., 2008).

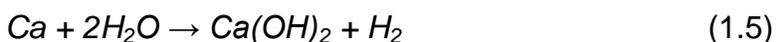
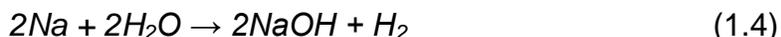
El hidrógeno suele prepararse a nivel laboratorio por la acción de soluciones diluidas de ácidos fuertes (HCl y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) sobre metales moderadamente activos (Zn, Al, Fe y Mg). Las ecuaciones representativas de dichas reacciones son las siguientes:



En el caso del Al, no sólo se genera hidrógeno cuando es tratado con un ácido, sino que también lo hace cuando se usa una base (reacción 2.3).



Los metales de la familia IA y de la parte baja de la familia IIA son tan reactivos que reaccionan con el agua para producir hidrógeno. Las reacciones típicas son:



El Na, K, Rb y el Cs reaccionan tan vigorosamente con el agua a temperatura ambiente que el hidrógeno puede inflamarse por el calor liberado, a diferencia del Ca y el Li que reaccionan de manera más lenta (Matus, 2009; Anguera y Mendoza, 2010).

Dentro de los procesos clásicos para la obtención de hidrógeno a escala industrial, están aquellos que utilizan hidrocarburos. Mucho del hidrógeno para uso industrial es producido a partir de carbón, gas natural y petróleo, ya sea como producto o como subproducto de un proceso que implica una conversión química (Züttel y col., 2008). En la Figura 1.6 se observa que aproximadamente el 96% de la producción mundial de hidrógeno se obtiene a partir de materias primas fósiles (Botas y col., 2005).

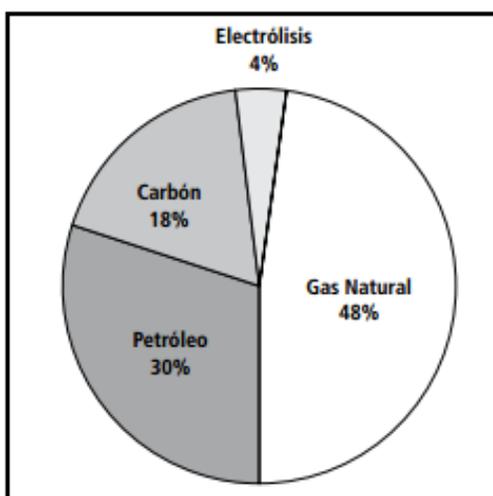
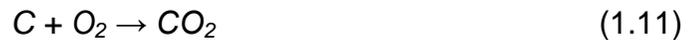
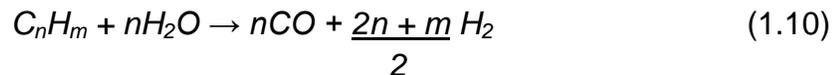
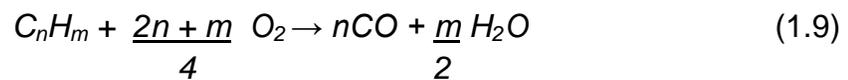


Figura 1.6 Distribución de la producción de H<sub>2</sub> por fuente de energía primaria (Laborde y Rubiera, 2010)

El método de reformado con vapor de gas natural o naftas ligeras, es un proceso en el que se producen grandes cantidades de hidrógeno comercial circulando mezclas de hidrocarburo y vapor de agua sobre un catalizador de níquel a temperaturas elevadas, entre los 700° y 1,100°C (Matus, 2009; Anguera y Mendoza, 2010). Las reacciones principales se describen a continuación:



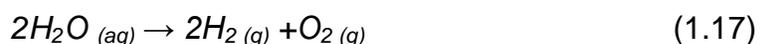
Otro método para la obtención de H<sub>2</sub> es a partir de oxidación de fracciones petrolíferas pesadas o carbón (Botas y col., 2005).



Como se puede ver, el gas de síntesis consiste en mezclas de hidrógeno, monóxido de carbono (productos principales), dióxido de carbono, vapor de agua añadido en exceso y otros productos formados en reacciones secundarias. La proporción entre los distintos componentes depende tanto de las materias primas empleadas como del proceso de obtención. Es necesario eliminar los componentes restantes hasta conseguir el hidrógeno de suficiente pureza para las

posteriores aplicaciones, que pueden ser tan exigentes como algunas celdas de combustible que requieren valores de pureza muy altos.

Un proceso alternativo que actualmente supone el 4% de la producción mundial de hidrógeno es la electrólisis del agua (Botas y col., 2005). Para realizarlo es necesaria una celda electrolítica en la cual se lleve a cabo la reacción química. Como se observa en la reacción 1.17, el agua se descompone en hidrógeno y oxígeno al pasar una corriente eléctrica continua (tensión mínima de ~1.47 V a 25 °C), entre dos electrodos separados sumergidos en una solución acuosa de un electrolito.



En los procesos electrolíticos se utiliza energía eléctrica para descomponer las moléculas de agua en H<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>; sin embargo, el gas resultante posee menos energía de la requerida para producirlo. Por lo que se sugiere que la energía proceda de la red eléctrica, o bien, de diferentes clases de energía renovable tales como la energía solar fotovoltaica, eólica, solar de alta temperatura, hidroeléctrica, geotérmica, entre otras (Anguera, 2010; Laborde y Rubiera, 2010). Otra vía en desarrollo son los ciclos termoquímicos que consisten en una combinación de reacciones químicas a alta temperatura produciendo la rotura de la molécula de agua en hidrógeno y oxígeno (Botas y col., 2005). Entre los métodos novedosos para la obtención de hidrógeno son los tratamientos por vía biológica a través de microorganismos, dentro de tales procesos se enmarcan los que requieren luz y aquellos que pueden ser llevados en oscuridad (Laborde y Rubiera, 2010).

La fotólisis es un proceso que requiere luz. En este caso, el hidrógeno puede ser producido directamente a través del proceso de disociación del agua mediante la capacidad fotosintética de algas y cianobacterias. La producción del biohidrógeno se da por medio de la absorción directa de la luz y la transferencia de electrones a las enzimas hidrogenasas y/o nitrogenasas. Bajo condiciones anaerobias o de energía excesiva, los electrones en exceso son liberados por los microorganismos utilizando la enzima hidrogenasa que convierte los iones de hidrógeno a gas hidrógeno (Turner y col., 2008). Los protones y electrones extraídos mediante las

reacciones de disociación del agua son recombinados con la hidrogenasa del cloroplasto para formar el gas de hidrógeno molecular (Hankamer y col., 2007).

En el proceso de disociación del agua, también se produce oxígeno, si éste no se elimina del sistema, no es posible operar de forma continua, ya que el oxígeno es un inhibidor potente de la actividad enzimática de la Fe-hidrogenasa (Kapdan y Kargi, 2006; Laborde y Rubiera, 2010). Para evitar la acumulación de oxígeno y así la supresión del hidrógeno, el trabajo de investigación se ha dirigido a identificar o producir algas y bacterias menos sensibles al oxígeno y separar la secuencia del hidrógeno y oxígeno. Con el agua como abundante sustrato, la fotólisis directa a través del proceso de disociación del agua demuestra un futuro alentador. Sin embargo, existen desafíos a tratar, tales como la necesidad de gran superficie para colectar la luz, el diseño eficaz de los reactores y la dificultad para lograr la producción continua de hidrógeno bajo condiciones aerobias (DOE, 2007).

La fotofermentación es un proceso en el que los microorganismos púrpuras son capaces de generar hidrógeno a partir de sustratos orgánicos. A pesar de que los rendimientos de hidrógeno a partir de bacterias fotosintéticas son relativamente bajos, la vía fermentativa es un proceso versátil en el tipo de alimento para los microorganismos (Redwood y col., 2009; Wang y col., 2010).

En contraste con las algas verdes, las bacterias púrpuras fotosintéticas son incapaces de disociar el agua por su estructura fotosintética simple. Sin embargo, estas bacterias pueden usar ácidos orgánicos simples (acético, láctico y butírico) como donadores de electrones bajo condiciones anaerobias. Los electrones extraídos de los sustratos orgánicos se bombean a través de transportadores de electrones y los protones son conducidos a través de la membrana; así se desarrolla un gradiente electroquímico y se sintetiza ATP. El exceso de energía ATP reduce los protones en el gas de hidrógeno y de esta manera, los ácidos orgánicos derivados de los sustratos pueden ser en última instancia, transformados en hidrógeno y dióxido de carbono (Akkerman y col., 2003).

La fermentación oscura en condiciones anaerobias parece ser la más favorable entre los procesos de bioproducción de hidrógeno. Puede llevarse a cabo a tasas de producción más altas y bajo costo, usando varios sustratos orgánicos y aguas residuales (Hallenbeck y Ghosh, 2009). Durante la fermentación oscura se utilizan principalmente bacterias anaerobias (aunque también se han usado algunas algas), sobre sustratos ricos en hidratos de carbono sin la necesidad de luz (Kapdan y Kargi, 2006).

Los compuestos orgánicos requeridos para la fermentación pueden ser corrientes de residuos provenientes de sistemas productivos, lo que convierte al proceso no sólo en un sistema con capacidad de generar un gas combustible, sino como una vía de valorización de los residuos orgánicos. Se abordará este proceso más adelante, en la sección 2.2.

### **1.5 Seguridad en el manejo del hidrógeno**

No existe ningún combustible cuya utilización esté exenta de ciertos riesgos. Todo combustible tiene la capacidad de liberar energía; mientras mayor sea la energía que libere, mejor combustible es. No obstante, de ser así, éste llega a ser una sustancia potencialmente peligrosa, por lo cual es necesario aumentar las medidas de seguridad en el manejo de cualquier combustible.

Como ya se mencionó anteriormente, el hidrógeno es el más ligero de todos los elementos. Su densidad es de sólo un catorceavo de la densidad del aire. Por desgracia, basta una chispa para encenderlo. La Figura 1.7 muestra el desastroso incendio y explosión que sufrió el dirigible alemán Hindenburg cuando aterrizaba en Lakehurst, Nueva Jersey el 6 de mayo de 1937. Después de este incidente se dejó de usar el hidrógeno como gas de flotación, fue sustituido por helio (el cual no es inflamable) y su uso se redujo a fines publicitarios. No obstante, un estudio concluido en 1999 demostró que el accidente fue causado por la inflamabilidad del recubrimiento de la lona del dirigible y que el hidrógeno no causó ninguna de las muertes (Hill y Kolb, 1999; Brown y col., 2004; Linares y Moratilla, 2007).



Figura 1.7 Fotografía del aterrizaje y explosión del Hindenburg en Nueva Jersey en 1937 (Brown y col., 2004)

La entalpía del enlace H—H (436 KJ/mol) es alta para un enlace sencillo. En comparación, la entalpía del enlace Cl—Cl es de sólo 242 kJ/mol. Debido a que el enlace del H<sub>2</sub> es fuerte, casi todas las reacciones son lentas a temperatura ambiente. Sin embargo, es fácil activar la molécula mediante el calor, irradiación o catálisis. Por lo general, el proceso de activación produce átomos de hidrógeno que son muy reactivos. Una vez activado, el H<sub>2</sub> reacciona de forma muy rápida y exotérmica con una variedad de sustancias (Hill y Kolb, 1999; Brown y col., 2004).

En la reacción 1.18 se observa que cuando se enciende H<sub>2</sub> en el aire, se lleva a cabo una vigorosa reacción que forma H<sub>2</sub>O:



El aire que contiene tan sólo 4% de H<sub>2</sub> en volumen es potencialmente explosivo. La combustión de mezclas de hidrógeno y oxígeno es de uso común en los motores de cohete de combustible líquido, como los de los transbordadores espaciales. El hidrógeno y el oxígeno se almacenan a temperaturas bajas en forma líquida. La destrucción del transbordador espacial *Challenger* 1986 se debió a la explosión de sus tanques de combustible de hidrógeno y oxígeno, provocada por el mal funcionamiento de un cohete propulsor de combustible sólido (Hill y Kolb, 1999; Brown y col., 2004).

Atendiendo a las propiedades físicas del hidrógeno, a continuación se mencionan ciertas particularidades en el uso de hidrógeno frente a otros combustibles, desde el punto de vista de la seguridad.

Las ventajas del hidrógeno son:

- Debido a que el  $H_2$  tiene baja densidad y alta volatilidad se considera un buen combustible en espacios abiertos ya que tiende a difundirse rápidamente a la atmosfera y evita la acumulación de dicho gas.
- No es tóxico, por lo que si no hay combustión, su riesgo a la salud humana se limita al desplazamiento del  $O_2$ .
- Tiene baja densidad energética por unidad de volumen, por lo que la energía liberada por la combustión de un cierto volumen de  $H_2$  a una cierta presión es menor que la de otros combustibles (esta propiedad que dificulta el almacenamiento de hidrógeno, es una ventaja desde el punto de vista de la seguridad).
- Como el  $H_2$  tiene altos límites inferiores de inflamabilidad y detonación, es más difícil que se produzca la combustión con concentraciones pobres.
- Tiene alta temperatura de combustión espontánea.

Las desventajas del hidrógeno son:

- El  $H_2$  posee alta densidad energética por unidad de masa, esto lo convierte en buen combustible y a su vez en objeto de riesgo.
- Como el hidrógeno tiene altos rangos de inflamabilidad y detonación, es más peligroso que otros combustibles en mezclas ricas en combustible.
- Tiene una muy baja energía de activación comparado con otros combustibles, es decir, hay que añadir muy poca energía a una mezcla potencialmente inflamable para que se inicie la combustión. Esto es una gran ventaja en procesos de combustión y sobre todo en procesos electroquímicos (como el de las pilas de combustible), pero es una gran desventaja desde el punto de vista de seguridad, ya que cualquier chispa puede activar la reacción no deseada.

- Debido al pequeño tamaño de su molécula, el hidrógeno se fuga fácilmente, por lo que las instalaciones de almacenamiento y distribución de hidrógeno deben estar especialmente bien selladas y correctamente inspeccionadas para detectar las fugas.
- Su baja temperatura de licuefacción complica funcionalmente el almacenamiento y uso del hidrógeno líquido, así como las medidas de seguridad.
- Su llama es invisible a la luz del día, lo cual supone un peligro extra.
- El hecho de que el hidrógeno es invisible e inodoro hace que los escapes sean indetectables con los sentidos, por lo que se requiere tener equipos de detección.

Por algunas de las propiedades antes mencionadas, se puede concluir que el hidrógeno es un combustible menos seguro que otros, cuando se trabaja en espacios confinados. En la Tabla 1.4 se enuncian medidas importantes para extremar la seguridad al trabajar en una instalación con hidrógeno.

**Tabla 1.4 Medidas de seguridad en una instalación de hidrógeno (Linares y Moratilla, 2007)**

Consideraciones
Asegurar la extracción colocando un extractor en la parte más alta del lugar de trabajo y así favorecer una buena ventilación.
Trabajar en lugares con volúmenes grandes para facilitar la dispersión del gas.
Ubicar los tanques de H <sub>2</sub> en el exterior de los edificios.
Emplear equipos de seguridad intrínseca, es decir, aquellos que no producen chispas al ambiente.
Instalar detectores de concentración de hidrógeno, que tengan alarmas cuando se superen niveles establecidos.

## 1.6 Usos del hidrógeno

En el mundo se producen cada año alrededor de 50 millones de toneladas de hidrógeno. La Figura 1.8 muestra los principales usos comerciales del hidrógeno, entre ellos destacan el químico, el metalúrgico y para la manufactura electrónica, pero solamente una porción insignificante de todo el hidrógeno producido se usa actualmente como combustible de transporte, por ejemplo para la lanzadera espacial de la NASA. Casi la mitad se emplea para elaborar fertilizantes basados en amoníaco. También se utiliza hidrógeno en la fabricación de metanol y el agua oxigenada, así como para "hidrogenar" los aceites orgánicos comestibles derivados de la soya, los cacahuates, los cereales y el pescado, y a su vez, para refrigerar motores y generadores. Un sector que lleva años utilizando el hidrógeno es la industria petroquímica. Lo emplea como materia prima de una amplia gama de productos derivados del petróleo y también para reducir la cantidad de partículas, aromáticos y sobre todo, azufre, presentes en la gasolina y el gasóleo (Laborde y Rubiera, 2010).

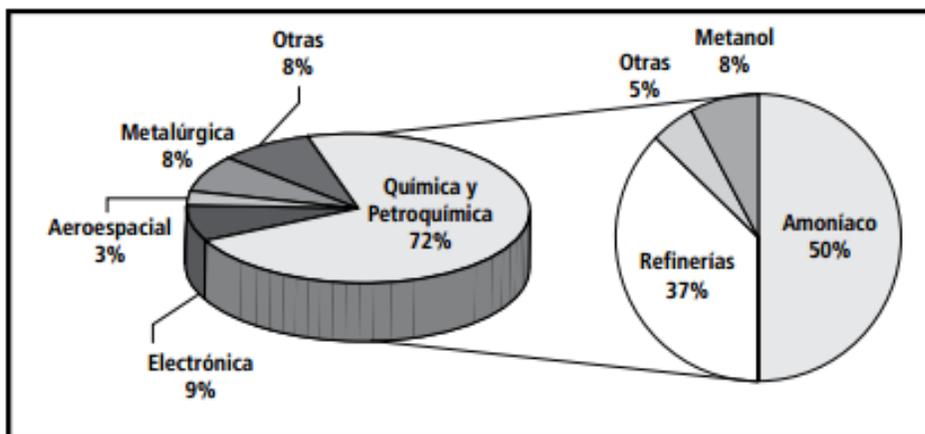


Figura 1.8 Usos y aplicaciones del hidrógeno (Laborde y Rubiera, 2010)

En la industria de soldadura, el hidrógeno ha sido cada vez más utilizado como un gas combustible en los procesos de llama y como gas de protección en los procesos de soldadura por arco. A pesar de que su uso se había reducido en los últimos años, el desarrollo en la tecnología de soldadura ha dictado un incremento en el uso de hidrógeno, en particular por razones económicas. Algunas de las

ventajas del uso de hidrógeno en los procesos de llama es que su recuperación (a partir de agua) es barata. Por otra parte, tiene excelentes propiedades térmicas y eléctricas que promueven su uso en mezclas con otros gases de protección (Suban y col., 2001).

Otra aplicación del hidrógeno es en las celdas de combustible. Utilizando hidrógeno puro y el aire, las pilas de combustible convierten la energía química del combustible directamente en electricidad con una alta eficiencia y producen sólo agua, eliminando así todas las emisiones locales. Las pilas de combustible no se limitan a hidrógeno como combustible, puede ser operado con otros combustibles.

Sin embargo, el uso de combustibles que contienen carbono está asociado con aumento de la complejidad del sistema y las emisiones de CO<sub>2</sub>. En contraste, la operación de celdas de combustible con hidrógeno puro tiene como ventaja simplicidad en el sistema y una mayor eficiencia energética.

Las celdas de combustible a partir de hidrógeno pueden tener una aplicación portátil. La principal ventaja de un sistema de celdas de combustible para aplicaciones portátiles es la flexibilidad y el tamaño de los dispositivos de conversión y almacenamiento de energía. Además, el diseño modular de la celda de combustible puede ser utilizado para ajustar el sistema a las necesidades de potencia del dispositivo. Algunos aparatos portátiles en los que se pueden emplear celdas de combustible a partir de hidrógeno, son: cámaras de video, teléfonos celulares e inalámbricos, baterías, sistemas de reproducción de audio, grabadoras, por solo mencionar algunos.

También pueden ser usadas en la industria automotriz. La creciente preocupación mundial acerca de los problemas ambientales causados por el uso intensivo de combustibles fósiles para el transporte, así como su disponibilidad limitada, ha dado lugar a la investigación y desarrollo de tecnologías de propulsión y transmisión más eficientes y limpias. Casi todos los fabricantes de automóviles tienen ya prototipos que funcionan con pilas de combustible, existiendo muchos proyectos internacionales de demostración. En este sentido, los mayores éxitos se

dan en autobuses urbanos o vehículos industriales dedicados a reparto, debido a que las autonomías conseguidas son escasas. Por otra parte, la ausencia de emisiones la hace especialmente recomendable para el uso urbano, quedando disimuladas en este uso las normalmente bajas prestaciones de aceleración.

Sin embargo, también existen numerosas aplicaciones con bajos requerimientos de costos. La energía de las celdas, también puede proporcionar electricidad a los lugares donde no hay conexión a la red eléctrica como para el transporte de luz, bicicletas eléctricas, sillas de ruedas, cortacésped, aspiradoras, entre otros (Züttel y col., 2008).

## CAPÍTULO 2

### FUNDAMENTOS

#### 2.1 Degradación anaerobia

La degradación anaerobia es la descomposición de materia orgánica mediante microorganismos en ambientes libres de oxígeno molecular. En este proceso intervienen diferentes grupos microbianos para transformar la materia orgánica en “biogás” (principalmente CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>) y otros productos estables e inertes; ambos poseen un valor energético considerable (Pain y Hephherd, 1985). Se trata de un proceso complejo, ya que depende de las interacciones de varias subpoblaciones microbianas (en su mayoría bacterias) que coexisten manteniendo un equilibrio ecológico. Se encuentra ampliamente en la naturaleza en ambientes anóxicos como ríos, sedimentos, suelos pantanosos e incluso en el intestino de mamíferos (Montes, 2008).

Una ventaja que presenta la degradación anaerobia es su versatilidad en el uso de materias primas, como son: aguas residuales industriales y domésticas, residuos agrícolas y de la industria alimentaria, así como los residuos sólidos urbanos (RSU). La degradación anaerobia es una tecnología que además de generar biogás con fines energéticos, provee una serie de beneficios al medio ambiente (Liu, 2008):

- Da tratamiento a los residuos y así reduce la contaminación.
- Disminuye la emisión de olores (el 99% de compuestos volátiles formados se oxidan y evita el riesgo de enfermedades) (Smet y col., 1999).
- Destrucción de microorganismos patógenos del suelo (Bendixen, 1994; Lund y col., 1996; Sahlstrom, 2003).
- Mejora la calidad del suelo y reduce el uso de fertilizantes artificiales (Tafdrup, 1995).

Como se ve en la Figura 2.1, la degradación anaerobia se caracteriza por varias etapas, diferenciándose cada una por el tipo de sustrato degradado.

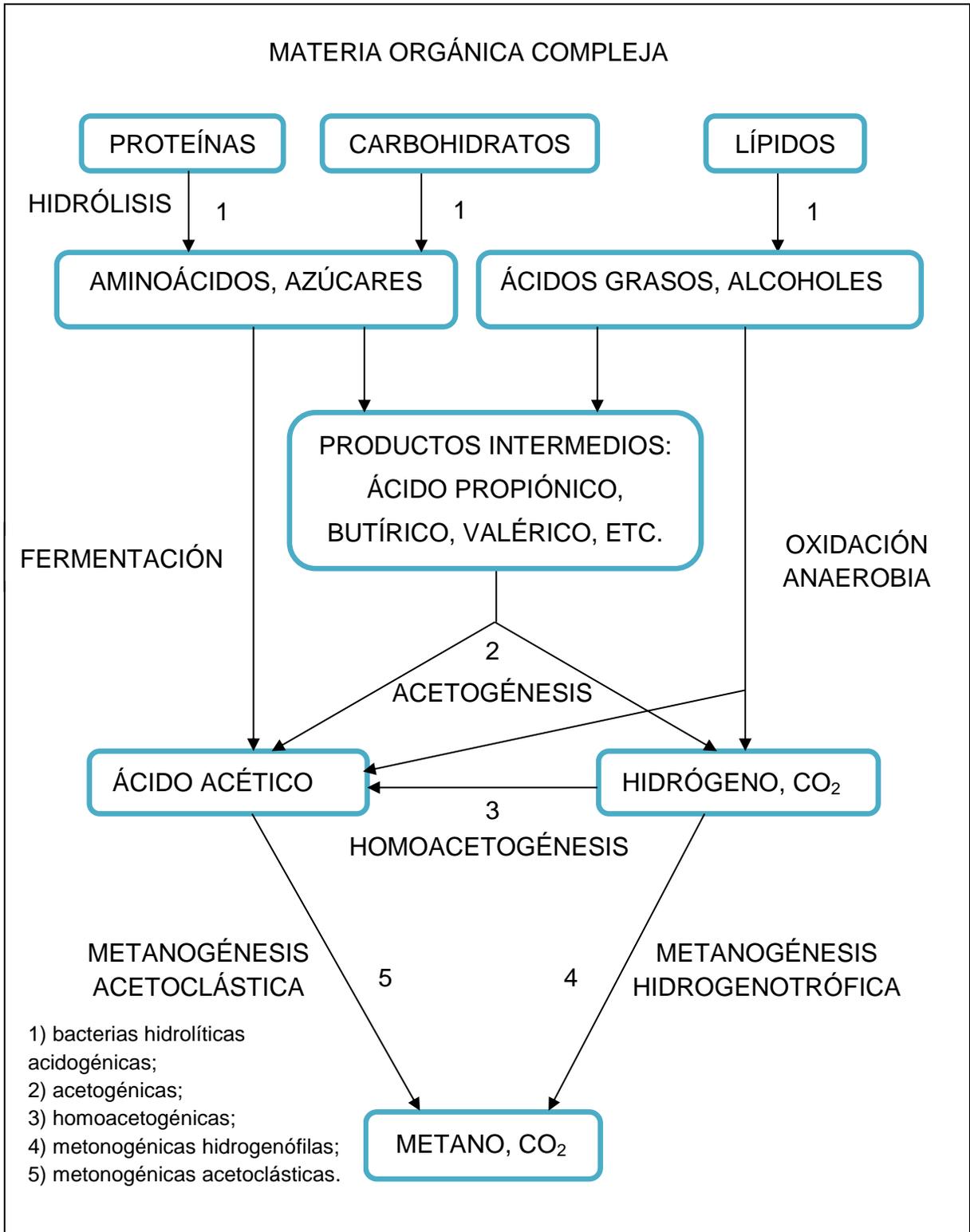


Figura 2.1 Fases de la degradación anaerobia y sus poblaciones bacterianas (Montes, 2008)

A continuación se describe brevemente cada etapa que compone el proceso de degradación anaerobia (Middlebrooks y col., 1982; Montes, 2008):

a) Hidrólisis: en esta etapa los compuestos orgánicos complejos como lípidos, proteínas y carbohidratos, son despolimerizados por acción de enzimas hidrolíticas en moléculas más sencillas y solubles, como azúcares, ácidos grasos de cadena larga, aminoácidos, alcoholes, etc. Las bacterias responsables de este proceso son las bacterias hidrolíticas-acidogénicas.

b) Acidogénesis: los compuestos orgánicos sencillos generados en la etapa anterior son utilizados por las bacterias generadoras de ácidos. Como resultado, se produce su conversión en ácidos orgánicos volátiles (ácido acético, propiónico, butírico y valérico), alcoholes y otros subproductos importantes para etapas posteriores ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$ ). Algunas bacterias acidogénicas encontradas en reactores anaerobios pertenecen a las especies de *Butyrivibrio*, *Propionibacterium*, *Clostridium spp*, *Bacteroides*, *Ruminococos*, *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus*, *Streptococos* y *Enterobacterias*.

c) Acetogénesis: las bacterias acetogénicas son microorganismos que viven en estrecha colaboración con las bacterias metanogénicas. Estos microorganismos son capaces de transformar los ácidos grasos resultantes de la etapa anterior en los sustratos propios de la metanogénesis (ácido acético,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$ ). Como ejemplos de bacterias acetogénicas, cabe mencionar a *Syntrophobacter wolinii*, que descompone el ácido propiónico; o *Syntrophomonas wolfei*, que descompone el ácido butírico. En el grupo de bacterias acetogénicas se incluyen las homoacetogénicas, capaces de producir ácido acético a partir de  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$ , perteneciente a los géneros *Acetobacterium*, *Acetoanaerobium*, *Acetogenium*, *Clostridium* o *Eubacterium*.

d) Metanogénesis: constituye la etapa final del proceso, en el que compuestos como el ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono son transformados a  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ; es fundamental para conseguir la eliminación de materia orgánica.

Se distinguen dos tipos principales de microorganismos, los que degradan el ácido acético (bacterias metanogénicas acetoclásticas) y los que consumen hidrógeno (metanogénicas hidrogenófilas). La principal vía de formación del metano es la primera, con un 70% del metano producido. A pesar de ser esa la vía más importante, sólo los microorganismos de los géneros *Methanosarcina* y *Methanothrix* son capaces de producir metano a partir de acético. Otros géneros a los que pertenecen microorganismos metanogénicos, en este caso hidrogenófilos, son *Methanobacterium*, *Methanococos*, *Methanobrevibacter* o *Methanogenium*, entre otros. A diferencia de lo que ocurre con la fase acidogénica, el metabolismo de estas bacterias es más lento y además, son mucho más sensibles al cambio en condiciones ambientales, tales como pH y temperatura (Moreno, 1991).

## **2.2 Fermentación oscura**

Los principales procesos para la obtención de hidrógeno vía biológica son: la fotólisis del agua usando algas y cianobacterias, la fotofermentación de compuestos orgánicos a partir de bacterias fotosintéticas y la fermentación oscura que transforma los compuestos orgánicos mediante bacterias anaerobias (Escamilla-Alvarado y col., 2011). La fermentación oscura permite la obtención de hidrógeno a partir de compuestos orgánicos, teniendo como característica principal la ausencia de luz para llevar a cabo el proceso. Este método se ha estudiado intensamente en los últimos años debido a las ventajas que ofrece su aplicación a nivel industrial gracias a la ausencia de luz, la cual facilita el diseño de los reactores y permite mantener una producción de gas en sistemas continuos (Valdéz-Vázquez y col., 2005).

La fermentación oscura es muy similar a la degradación anaerobia, sin embargo para obtener una producción constante y con altos rendimientos es necesario evitar la etapa de metanogénesis. Ésto se logra con la inhibición de las bacterias metanogénicas. Puede ser, manteniendo un pH bajo (5.5-6.5), por la adición de sustancias como acetileno (Sprott y col., 1982), choque térmico (Han y Shin, 2004;

Kyazze y col., 2006; Mohan y col., 2008) o control biocinético (Valdéz-Vázquez y Poggi-Varaldo 2009).

La biomasa vegetal se compone principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina; estos biopolímeros se encuentran unidos entre sí por medio de enlaces covalentes, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Wals. La lignina es resistente al ataque de microorganismos y su función es proteger las cadenas de celulosa y hemicelulosa que confieren resistencia y rigidez a la pared de las células vegetales (Bastawde, 1992; Uffen, 1997; Bridgewater, 2006).

Aun así, la materia orgánica puede ser degradada por hongos y bacterias a través de enzimas que rompen el biopolímero en segmentos hasta obtener monosacáridos (hexosas y pentosas) que puedan ser asimilados por la célula para sus funciones metabólicas (Beg y col., 2001; Lynd y col., 2002; Rojas-Rejon y col., 2010). En la naturaleza y en los procesos biológicos, la degradación de la biomasa vegetal está limitada por la especificidad de las enzimas liberadas por los microorganismos del medio, por la accesibilidad a los enlaces celulosa y hemicelulosa, y por el grado de cristalinidad de estos enlaces (Kirk y col., 2002).

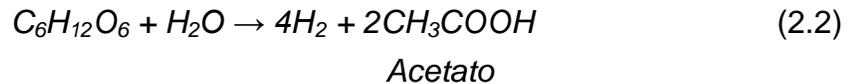
El hidrógeno es producido por los microorganismos como una forma de mantener el equilibrio redox durante la fermentación. La mayoría del hidrógeno en el biogás se obtiene a través del metabolismo anaerobio del piruvato, formado durante el catabolismo de varios sustratos (ecuación 2.1) (Hallenbeck y Beneman, 2002).



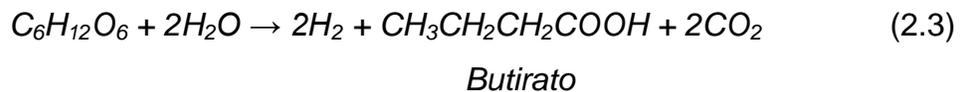
El piruvato, generado mediante la glucólisis (vía Embden-Meyerhof) es usado en ausencia de oxígeno para producir acetil-CoA y generar ATP y ferredoxina reducida. Así, a partir de ellos se producen moléculas de H<sub>2</sub> acompañadas de otros productos de la fermentación.

La producción de H<sub>2</sub> a partir de glucosa está determinada por la proporción de butirato/acetato (Reith y col., 2003). Cuando el producto final es el ácido acético,

se obtiene un rendimiento máximo teórico de 4 moles de hidrógeno por mol de glucosa (ecuación 2.2).



Y cuando el producto final es el butirato, se produce un rendimiento máximo teórico de 2 moles de H<sub>2</sub> por mol de glucosa (ecuación 2.3).



Por lo tanto, el rendimiento máximo teórico de H<sub>2</sub> está asociado con el acetato como producto final de la fermentación. En la práctica, los rendimientos altos se relacionan con la mezcla de acetato y butirato como productos de la fermentación; y los bajos rendimientos son asociados con el propionato y productos finales reducidos como alcoholes y ácido láctico (Levin y col., 2004). Durante la fermentación oscura se produce una mezcla de gases que contiene principalmente H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, aunque también puede haber CH<sub>4</sub>, CO y H<sub>2</sub>S en función de las condiciones y materia prima utilizada (Hussy y col., 2003; Datar y col., 2004; Najafpour y col., 2004; Kotsopoulos y col., 2006; Temudo y col., 2007).

En este proceso pueden participar una gran variedad de microorganismos. Los principales grupos de microorganismos conocidos como generadores de H<sub>2</sub> son *Enterobacter*, *Bacillus* y *Clostridium* (Levin y col., 2004). Entre los microorganismos reconocidos como mayores productores de H<sub>2</sub> se encuentran los del género *Clostridia*, como *C. pasteurianum*, *C. butyricum* y *C. beijerinckii* (Kapdan y Kargi, 2006).

A nivel industrial se han ganado muchos años de experiencia e investigación en el campo de la conversión de sustratos orgánicos a metano. La extrapolación de este conocimiento puede facilitar la instalación de sistemas de tratamiento de residuos orgánicos destinados a la producción de hidrógeno. Los sistemas de degradación anaerobia en los que actualmente se cuenta con una fase de acidificación podrían

modificarse para obtener hidrógeno en esta primera fase y, de este modo, aumentar la rentabilidad de dichos procesos. Sin embargo, las dificultades surgen debido a que los sistemas de producción de hidrógeno son más complejos que los destinados a la producción de metano.

La fermentación destinada a la producción de hidrógeno ha demostrado que en muchas ocasiones los sistemas presentan inhibición y desviaciones de las poblaciones microbianas presentes hacia el consumo del hidrógeno producido, en lugar de mantener una producción relativamente estable y en operación continua (Hawkes y col., 2002).

En la actualidad la fermentación oscura se ha llevado a cabo principalmente en sistemas de cultivo sumergido (Liu y col., 2006; Ueno y col., 2007). Este tipo de procesos tiene como inconveniente la utilización de grandes volúmenes de agua. En contraste, la fermentación en sustrato sólido tiene como principales ventajas que no requiere agitación continua, hay ausencia de aguas residuales de proceso y los volúmenes del reactor son más reducidos. No obstante, la fermentación en sustrato sólido necesita de un control más complejo para mantener la homogeneidad completa en el sistema (Cannel y Moo-Young, 1980; Poggi-Varaldo y col., 1997).

Algunos de los beneficios que tiene el uso de la fermentación oscura son el bajo costo de la biomasa y la utilización de subproductos de la agricultura como materia prima. Los sustratos más utilizados para la producción de H<sub>2</sub> vía fermentativa son glucosa, sacarosa y almidón. Sin embargo, actualmente algunos estudios han comenzado a utilizar residuos orgánicos como sustrato, tales como residuos lignocelulósicos de la silvicultura, la agricultura y la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (RSU) (Das y Veziroglu, 2001; Hallenbeck, 2005; Kapdan y Kargi, 2006; Levin y col., 2007). Por lo tanto, la producción de hidrógeno por fermentación oscura a partir de residuos orgánicos es viable y amigable con el medio ambiente (Kondo y col., 2002).

## 2.3 Parámetros de control de fermentación oscura

El funcionamiento y operación de los reactores anaerobios dependen de varios factores asociados a las condiciones ambientales, químicas y de operación del proceso. Se ha reportado que la temperatura, pH, tiempo de retención hidráulica, presión parcial de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, agitación, adición de compuestos inorgánicos, así como el tipo de inóculo y sustrato, son los principales parámetros que afectan el proceso de fermentación oscura.

### 2.3.1 Temperatura

Los microorganismos son capaces de producir hidrógeno en un rango de temperatura de 15-85°C (Kanai y col., 2005). Éste puede ser formado a temperaturas mesofílicas (25-40°C), termofílicas (40-65°C), extremotermofílicas (65-80°C) o hipertermofílicas (>80 °C) dependiendo del tipo de bacterias presentes (Levin y col., 2004).

Gilroyed y col., (2008) realizaron la fermentación con estiércol de ganado a un pH fijo de 5.2 en lotes. El experimento se llevó a cabo en un rango de temperatura 36 a 60 °C y según los datos obtenidos (Figura 2.2) concluyeron que la temperatura influye en el volumen de biogás producido.

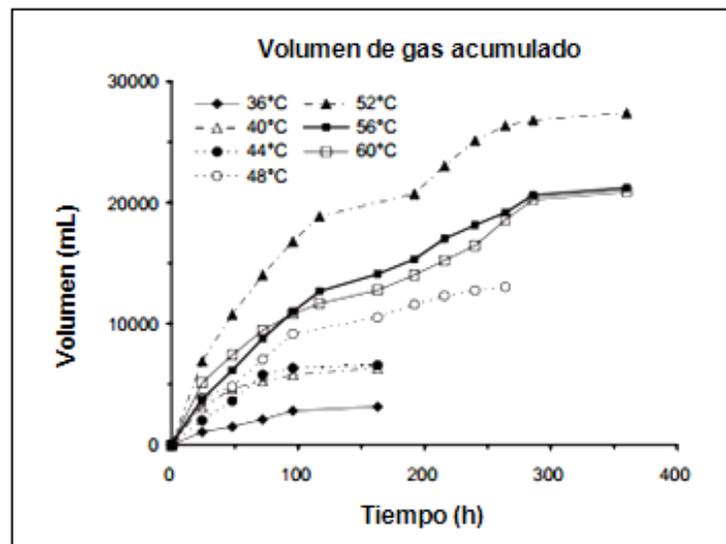


Figura 2.2 Volumen de biogás acumulado en función del tiempo a diferentes temperaturas (Gilroyed y col., 2008)

Por otro lado, también se deduce que trabajar a cierta temperatura afecta la concentración de hidrógeno en el biogás, así como el volumen total de H<sub>2</sub> producido durante la fermentación, como se puede observar en las Figuras 2.3 y 2.4. En este caso, a las condiciones establecidas, la temperatura óptima fue de 52 °C.

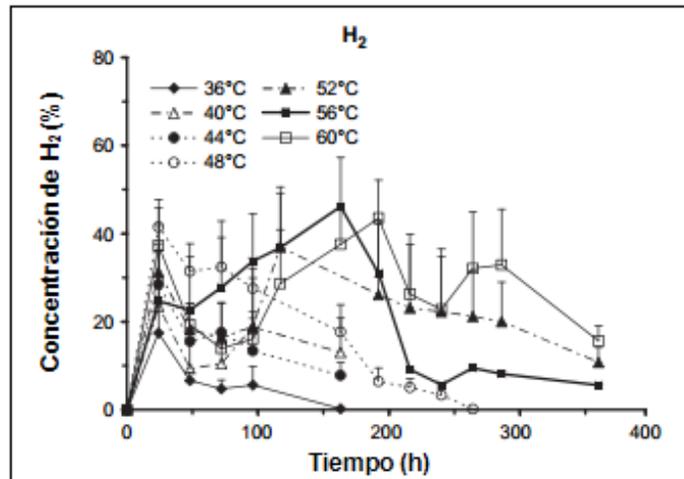


Figura 2.3 Concentración de H<sub>2</sub> en función del tiempo a diferentes temperaturas (Gilroyed y col., 2008)

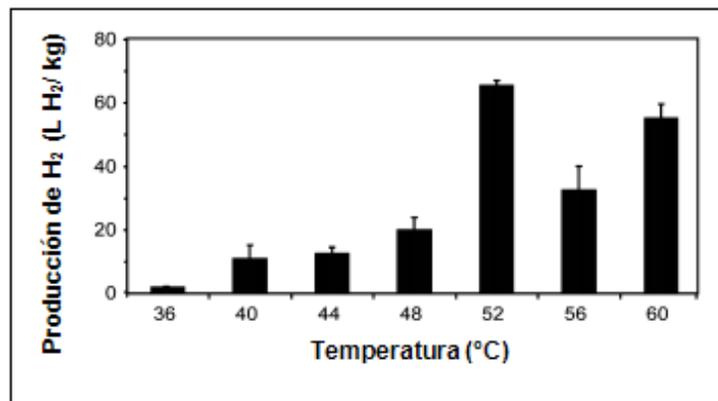


Figura 2.4 Volumen total de H<sub>2</sub> producido por Kg de sustrato inicial (ST) a diferentes temperaturas (Gilroyed y col., 2008)

Aplicar calor a un sistema anaerobio tiene como fin acelerar las reacciones bioquímicas implicadas en el proceso. Por lo tanto, el control de la temperatura es de suma importancia ya que afecta la actividad de las bacterias productoras de hidrógeno así como la tasa de producción (Van Groenestijn y col., 2002; Nath y col., 2006).

### 2.3.2 Control del pH

El pH del sistema ha sido reconocido como uno de los factores ambientales más importantes que influyen en las vías metabólicas y en la producción del biohidrógeno. El valor de pH tiene un efecto fundamental sobre la actividad enzimática en los microorganismos, ya que cada enzima se activa sólo en un intervalo de pH específico y tiene una actividad máxima en su pH óptimo (Lay y col., 1997; Venkata, 2009).

Varios estudios concluyen que llevar a cabo el proceso fuera del pH óptimo hace que el proceso de fermentación se desplace a la formación de solventes (Temudo y col., 2007) o que la fase de adaptación de las bacterias se prolongue (Cheng y col., 2002; Liang, 2003). Luo y col., (2010a) trabajaron con vinaza de yuca para investigar el efecto del pH inicial en la producción de H<sub>2</sub>. Durante el experimento se usó un cultivo mesófilo proveniente de lodos anaerobios operando por lotes y en condiciones termofílicas (60° C).

De acuerdo a lo realizado por Luo y col., (2010a) se puede observar que el pH inicial en el experimento tiene un impacto en la producción de H<sub>2</sub>. A estas condiciones de operación, el pH inicial óptimo fue de 6 (Figura 2.5).

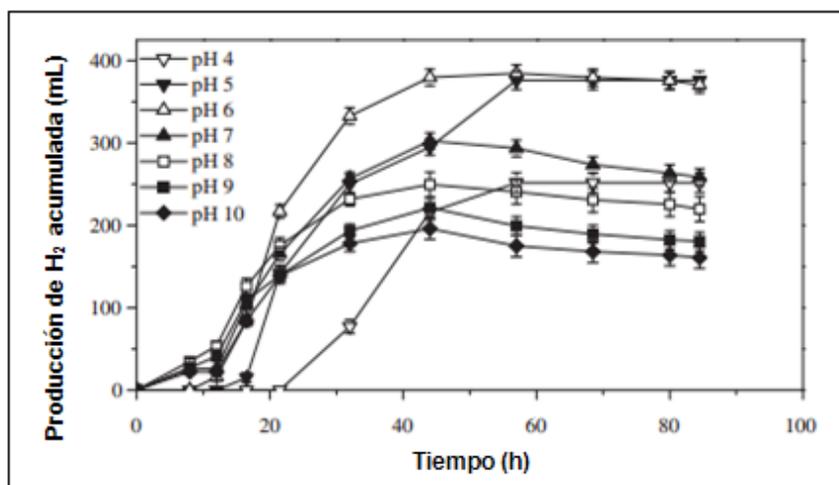


Figura 2.5 Producción acumulada de H<sub>2</sub> en función del tiempo, a diferente pH inicial (Luo y col., 2010a)

### **2.3.3 Tiempo de retención hidráulica**

El tiempo de retención hidráulica (TRH) puede utilizarse como una herramienta para seleccionar ciertas poblaciones microbianas. El principio de la selección se basa en la capacidad de recuperación de las bacterias (tasas de crecimiento) frente a la dilución mecánica creada por un flujo continuo (Lo y col., 2009).

### **2.3.4 Presión parcial de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>**

La presión parcial de H<sub>2</sub> es un factor muy importante especialmente para la síntesis continua de H<sub>2</sub> (Hawkes y col., 2007). Las rutas de síntesis de dicho gas son muy sensibles a las concentraciones de H<sub>2</sub> y están sujetas a la inhibición de productos finales. Cuando la concentración de H<sub>2</sub> aumenta, la síntesis de H<sub>2</sub> disminuye y las vías metabólicas se desplazan a la producción de sustratos más reducidos como lactato, etanol, acetona, butanol o alanina (Tamagnini y col., 2002).

En el caso del CO<sub>2</sub>, altas concentraciones de CO<sub>2</sub> pueden favorecer la producción de fumarato o succinato. La formación de tales productos contribuye al consumo de electrones y causa una disminución en la producción de H<sub>2</sub> (Tanisho y col., 1998). Se ha informado que la presión parcial del CO<sub>2</sub>, en comparación con la presión parcial del H<sub>2</sub>, presenta un mayor efecto de inhibición en la fermentación oscura (Liu y col., 2006).

### **2.3.5 Materias primas**

Existe una amplia gama de sustratos que pueden ser utilizados en la fermentación oscura. Pueden usarse como materia prima desde azúcares simples, biomasa rica en carbohidratos, o incluso residuos sólidos más complejos como los de la industria de alimentos, residuos orgánicos y lodos anaerobios (Lo y col., 2008, 2009; Ntaikou y col., 2010; Luo y col., 2011).

### **2.3.6 Nutrientes**

Recientes investigaciones indican que el nitrógeno, hierro, fosfato, carbonato y otros minerales (traza) son suplementos necesarios para las materias primas (a base de carbohidratos) durante el proceso de fermentación oscura. La adición de éstos, tiene como fin obtener un cultivo celular óptimo y mejorar la producción de hidrógeno (Yokoi y col., 2001). Se detallará el efecto de cada uno de ellos en la siguiente sección.

### **2.3.7 Tipos de inóculo**

Los microorganismos del género *Clostridium* y *Enterobacter* son los más utilizados como inóculo en la producción fermentativa de H<sub>2</sub> (Zhang y col., 2006b; Zhang y col., 2008b; Wang y Wan 2009). La mayoría de los estudios que han usado cultivos puros para la producción de H<sub>2</sub> (vía fermentativa) se han llevado a cabo por lotes y usando glucosa como sustrato (Wang y Wan, 2009). Otro tipo de inóculo muy utilizado en la fermentación oscura son los cultivos mixtos provenientes de lodos anaerobios, lodos de aguas residuales municipales, compost y suelo (Li y Fang, 2007).

### **2.3.8 Agitación mecánica**

El factor de mezclado o agitación cumple varias funciones, entre ellas destacan:

- Contacto continuo entre los microorganismos y el alimento suministrado.
- El alimento provisto es uniformemente distribuido, evitando así posibles obstrucciones en las entradas y salidas del reactor.
- Homogeneidad térmica, previniendo la estratificación de la mezcla.
- Mantiene a niveles mínimos la concentración de productos finales e intermedios, así como a los posibles inhibidores del metabolismo bacteriano (Montes, 2008).

## 2.4 Condiciones para el incremento de la producción de hidrógeno

Dentro de los parámetros establecidos en la sección anterior, existen ciertas condiciones que favorecen la producción de H<sub>2</sub> durante la fermentación oscura, a continuación se detalla cada uno de éstos.

### 2.4.1 Temperatura

Como se ha mencionado anteriormente, los microorganismos son capaces de producir H<sub>2</sub> a temperaturas de 15-85°C (Kanai y col., 2005), pero un análisis de estudios indicó que alrededor del 73% de los estudios se llevó a cabo con cultivos mesofílicos (Li y Fang, 2007).

Chang y Lin (2004) estudiaron la capacidad de producción de H<sub>2</sub> de cultivos mixtos a temperaturas de 15 a 34 °C y encontraron que el rendimiento y la tasa de producción específica de H<sub>2</sub> aumentan a medida que lo hace la temperatura. Se logró un rendimiento de 359 mmol/L día entre 30-34 °C y una producción de 1.42 mol H<sub>2</sub>/mol glucosa entre 28-32 °C. Sin embargo, ambos valores obtenidos a temperatura ambiente son más bajos comparados con los obtenidos a una temperatura constante de 35± 1°C, donde se alcanzaron valores de 574 mmol/L día y 1.70 mol H<sub>2</sub>/ mol glucosa, respectivamente. Minnan y col., (2005) también reportaron que el incremento de temperatura de 25°C a 35–36°C mejora la actividad de producción de H<sub>2</sub>. Estudios que usaron cultivos mesófilos indicaron que aunque las bacterias productoras de H<sub>2</sub> son capaces de funcionar a temperatura ambiente, el aumento en la temperatura a un rango mesofílico siempre mejora la producción de H<sub>2</sub>. No obstante si la temperatura aumenta más allá del rango mesofílico, se puede causar una disminución en la producción de H<sub>2</sub>; ésto depende probablemente de las características fisiológicas de cada cultivo microbiano (Lee y col., 2006).

A condiciones mesofílicas, Lay y col., (2003) reportaron una producción de H<sub>2</sub> de 50 mLH<sub>2</sub>/g STV<sub>agregado</sub> a partir de la fermentación en lotes de residuos sólidos domésticos (RSD). Okamoto y col., (2000) encontraron una producción de H<sub>2</sub> de

19.3-96 mLH<sub>2</sub>/g STV<sub>agregado</sub> a partir de una fracción individual de residuos sólidos domésticos (RSD), como arroz y zanahoria a condiciones mesofílicas y por cultivo en lotes. Valdez-Vázquez y col., (2005) reportaron 95 mLH<sub>2</sub>/g STV<sub>agregado</sub> logrado a condiciones semicontinuas en un reactor continuo agitado (RCA). Liu y col., (2006) hallaron una producción de H<sub>2</sub> de 43 mLH<sub>2</sub>/g STV<sub>agregado</sub> por la fermentación de residuos sólidos domésticos (RSD) a condiciones mesofílicas.

Sin embargo, Liu y col., (2008b) demostraron que una producción de 100-250 mLH<sub>2</sub>/ g STV<sub>agregado</sub> puede ser obtenida a condiciones extremotermofílicas lo cual es mucho más alto que el resto de los experimentos citados. La temperatura extremotermofílica provee una serie de ventajas comparada con las condiciones mesofílicas y termofílicas:

1. El rendimiento de la producción de H<sub>2</sub> es mucho más alto a condiciones extremotermofílicas que a condiciones mesofílicas y termofílicas (Fang y col., 2002a; Fang y col., 2002b; Hussy y col., 2003; Shin y Youn, 2005; Wu y col., 2006).

Recientes investigaciones han demostrado que un rendimiento de H<sub>2</sub> de 2.65 mol H<sub>2</sub>/mol de glucosa puede ser logrado a 75 °C a partir de cultivos mixtos. Este valor es más alto que los logrados a condiciones mesofílicas y termofílicas (menos de 2 mol H<sub>2</sub>/mol de glucosa) (Yokoyama y col., 2007a).

2. Las temperaturas extremotermofílicas ofrecen una mejor destrucción de patógenos en los residuos del reactor anaerobio.
3. Minimiza el riesgo de contaminación por consumidores de hidrógeno como son bacterias metanogénicas y productoras de solventes durante el proceso (Sahlstrom, 2003).
4. Las bacterias extremotermófilas muestran una mejor tolerancia a altas presiones parciales de hidrógeno.

### 2.4.2 Control de pH

Estudios comparativos respecto al efecto del pH en la producción de  $H_2$ , revelan que el rango de pH óptimo para alcanzar el rendimiento máximo de  $H_2$  está entre 5.2 y 6.0 (en la mayoría de los estudios) usando cultivos puros o mixtos (Oh y col., 2004; Zhang y col., 2008a). Fang y Liu (2002) investigaron el efecto del pH en la producción de hidrógeno a partir de glucosa en un reactor continuo agitado (RCA) en el rango de 4.0-7.0 a condiciones mesofílicas y encontraron que el rendimiento óptimo de  $H_2$  ocurre a un pH de 5.5. Ren y col., (2009) enfatizaron que el rendimiento máximo de  $H_2$  solo se alcanza cuando las reacciones microbianas siguieron una fermentación tipo etanólica que ocurre en un pH de 4.5.

Venkata (2009) reportó que los valores de pH inicial de 5.5-7.5 pueden representar el rango óptimo de pH para la producción de  $H_2$ ; si se trabaja fuera de este intervalo óptimo la producción puede ser disminuida considerablemente. Liu y col., (2006) encontraron que el pH óptimo para la producción de  $H_2$  a partir de residuos sólidos domésticos (RSD), con cultivos mixtos y a condiciones mesofílicas ( $37^\circ C$ ) fue de 5-5.5; como se puede observar en la Figura 2.6.

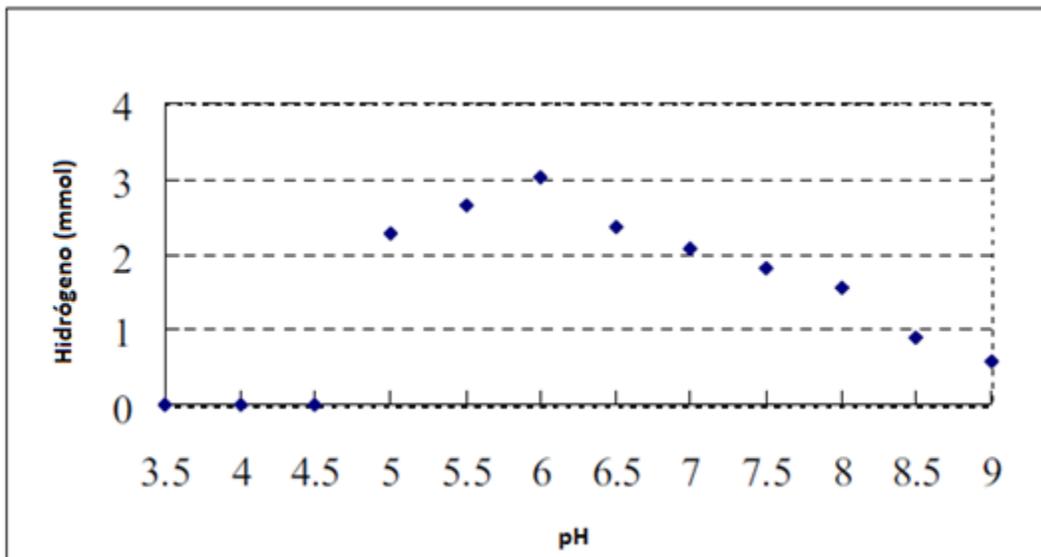


Figura 2.6 Producción de  $H_2$  en función del pH a temperatura mesofílica ( $37^\circ C$ ) (Liu, 2008)

En estudios posteriores Liu y col., (2008a) observaron que trabajando a las mismas condiciones (sustrato y tipo de cultivo) pero a una temperatura extremotermofílica (70°C) el pH óptimo fue de 7, con una producción máxima de  $257 \pm 25 \text{ mL H}_2/\text{g STV}_{\text{agregado}}$ .

En la Figura 2.7 se puede ver que trabajar fuera del pH óptimo, disminuye la producción de  $\text{H}_2$ . A un pH de 8.5, la producción de  $\text{H}_2$  fue de  $153 \pm 25 \text{ mL H}_2/\text{g STV}_{\text{agregado}}$ , y a un pH de 5.0, sólo se obtuvieron  $86 \pm 26 \text{ mL H}_2/\text{g STV}_{\text{agregado}}$ .

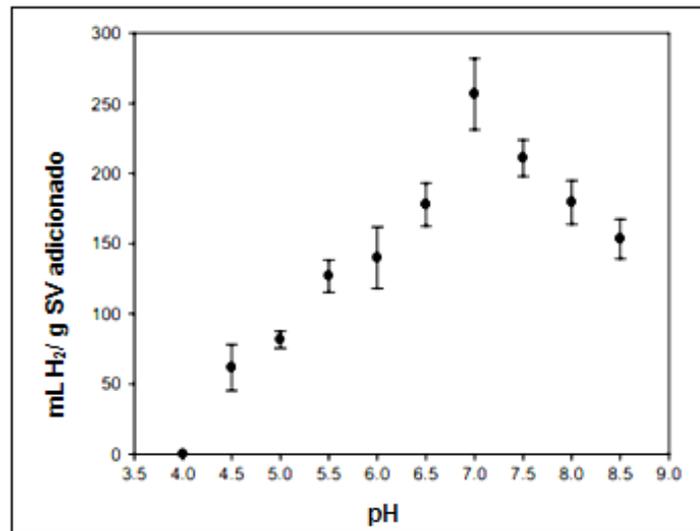


Figura 2.7 Producción de  $\text{H}_2$  en función del pH a temperatura extremotermofílica (70°C) (Liu y col., 2008a)

Yokoyama y col., (2007b) también reportaron un pH óptimo de 7 durante la fermentación oscura, usando un cultivo mixto procedente de estiércol a temperaturas extremotermofílicas. Otros experimentos como el trabajo de Kotsopoulos y col., (2009) trabajaron con excremento de cerdo a 70°C, manteniendo un pH de 7. Concluyeron que dichas condiciones, combinados con un TRH corto inhiben el crecimiento de bacterias metanogénicas y favorecen la producción de  $\text{H}_2$ . De acuerdo a las investigaciones citadas anteriormente se puede deducir que existe una estrecha relación entre el pH y la temperatura de operación durante el proceso de fermentación oscura.

### 2.4.3 Tiempo de retención hidráulica

En un sistema de reactor continuo agitado (RCA), TRH cortos se utilizan para lavar las bacterias metanogénicas de crecimiento lento y seleccionar así las bacterias acidogénicas (Chen y col., 2001), sin embargo una tasa de dilución demasiado alta puede provocar una mala hidrólisis de los residuos orgánicos (Han y Shin 2004).

La tasa típica de crecimiento específica de bacterias productoras de  $\text{CH}_4$  es alrededor de  $0.0167\text{-}0.02\text{ h}^{-1}$ , que es mucho más baja que la de las bacterias productoras de hidrógeno de  $0.172\text{ h}^{-1}$  (Lo y col., 2009). Por lo tanto, mediante la regulación del TRH las bacterias productoras de hidrógeno pueden ser retenidas, mientras que las bacterias productoras de metano son lavadas fuera del reactor. Ésto significa que el TRH es capaz de inhibir o terminar la metanogénesis en la producción continua de biohidrógeno.

Zhang y col., (2006a) encontraron que los TRH cortos (de 8 a 6h) reducen la diversidad microbiana asociada con la inhibición de la producción de propianato sin afectar la existencia de especies dominantes, aumentando así el rendimiento de hidrógeno. Dichos resultados proporcionan la evidencia de que el TRH afecta el rendimiento de  $\text{H}_2$  en función de la población microbiana (Zhang y col., 2006 a).

En un sistema de reactor continuo agitado (RCA), Kim y col., (2004) reportaron que un TRH corto ( $< 3$  días) favorece la producción de  $\text{H}_2$ , ya que las bacterias metanogénicas requieren un TRH mayor de 3 días para no ser lavadas fuera del reactor. En un proceso anaerobio, normalmente el pH y el TRH son parámetros que se relacionan; un TRH corto da lugar a un pH bajo. Ambos factores han demostrado ser un método para separar las bacterias productoras de  $\text{H}_2$  de las consumidoras de  $\text{H}_2$  a condiciones mesofílicas y termofílicas (Oh y col., 2004).

Kotsopoulos y col., (2009) trabajaron con estiércol de cerdo como sustrato a una temperatura extremotermofílica ( $70^\circ\text{C}$ ) y un TRH corto (24h). Concluyeron que estos dos factores son suficientes para inhibir la metanogénesis. La Figura 2.8 muestra la composición del biogás a lo largo del experimento.

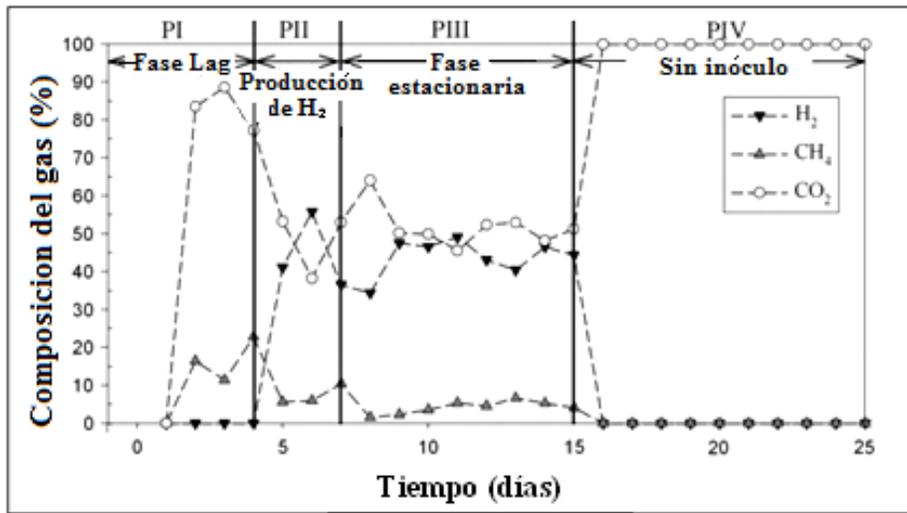


Figura 2.8 Contenido de H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> en el biogás con un TRH de 24h (Kotsopoulos y col., 2009)

Para la fermentación de residuos sólidos domésticos (RSD) a temperaturas extremotermofílicas, el TRH no debe ser menor a 2 días. Como se ve en la Figura 2.9, TRH menores a 2 días (a un pH neutro) resultarán en una mala hidrólisis e incluso permitirán el crecimiento de metanógenos y la utilización de H<sub>2</sub> como sustrato (Liu y col., 2008 c).

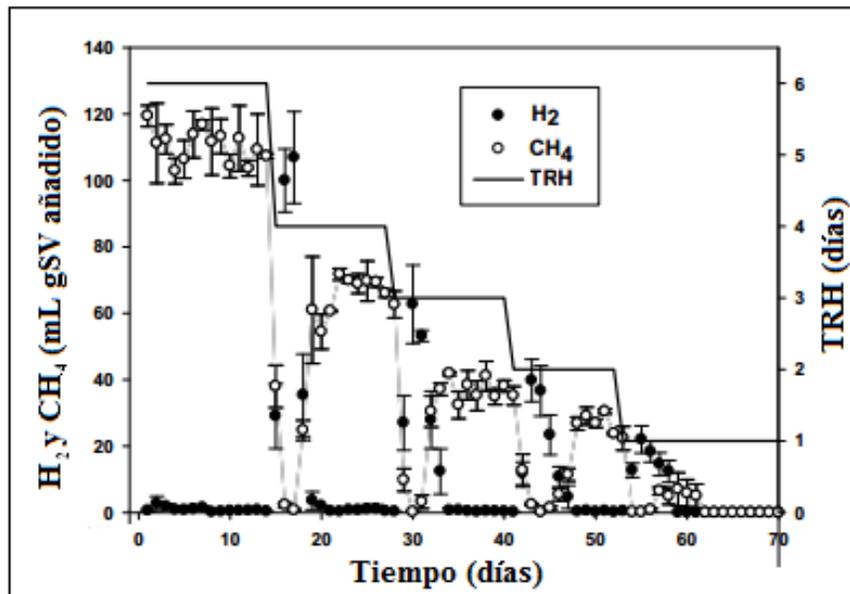


Figura 2.9 Efecto del TRH en el rendimiento de H<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> (pH 7 y 70° C) (Liu, 2008)

## **2.4.4 Presión parcial**

### **2.4.4.1 Presión parcial del H<sub>2</sub>**

Varios estudios han revelado que reduciendo la presión parcial de hidrógeno (en exceso) puede aumentar considerablemente la producción de hidrógeno. Actualmente, se han desarrollado muchas estrategias de eliminación o de separación del exceso de gas hidrógeno para evitar el efecto negativo de la acumulación de hidrógeno en la fase gaseosa (Tiwari y col., 2006).

Se ha encontrado que a medida que la temperatura aumenta, las condiciones que favorecen las reacciones de formación de H<sub>2</sub> son menos afectadas por la concentración de H<sub>2</sub> (Tamagnini y col., 2002). La síntesis continua de H<sub>2</sub> requiere una presión parcial de H<sub>2</sub> de 50 kPa a 60°C (Lee y Zinder 1988), 20 kPa a 70°C (van Niel y col., 2002) y 2 kPa a 98° C bajo condiciones estándar (Adams, 1990; Levin y col., 2004).

Hussy y col., (2003) informaron que el rendimiento de hidrógeno aumentó de 1.3 a 1.9 mol de H<sub>2</sub> por mol de hexosa al rociar 1.5 veces el reactor con N<sub>2</sub>. Mizuno y col., (2000) también encontraron que al rociar N<sub>2</sub> 15 veces en el reactor se produce un aumento del 68% en el rendimiento de H<sub>2</sub> (de 0.85 a 1.43 mol H<sub>2</sub> por mol de hexosa).

### **2.4.4.2 Presión parcial del CO<sub>2</sub>**

En cuanto a la presión parcial del CO<sub>2</sub>, Tanisho y col., (1998) reportaron que la eliminación o remoción de CO<sub>2</sub> puede mejorar la producción de H<sub>2</sub> durante la fermentación oscura. Una vez eliminado el CO<sub>2</sub> de la fase líquida, la producción de H<sub>2</sub> se duplicó. Algunos de los gases utilizados para eliminar el CO<sub>2</sub> son el argón y nitrógeno. En una investigación de Liu y col., (2006) usaron gas CH<sub>4</sub> para eliminar tanto el H<sub>2</sub> como el CO<sub>2</sub> de la fase líquida en un experimento a condiciones mesofílicas.

Como se ilustra en la Figura 2.10, al rociar CH<sub>4</sub> en la parte final del experimento (sparging) se produjo un aumento significativo en la producción de H<sub>2</sub> (88%).

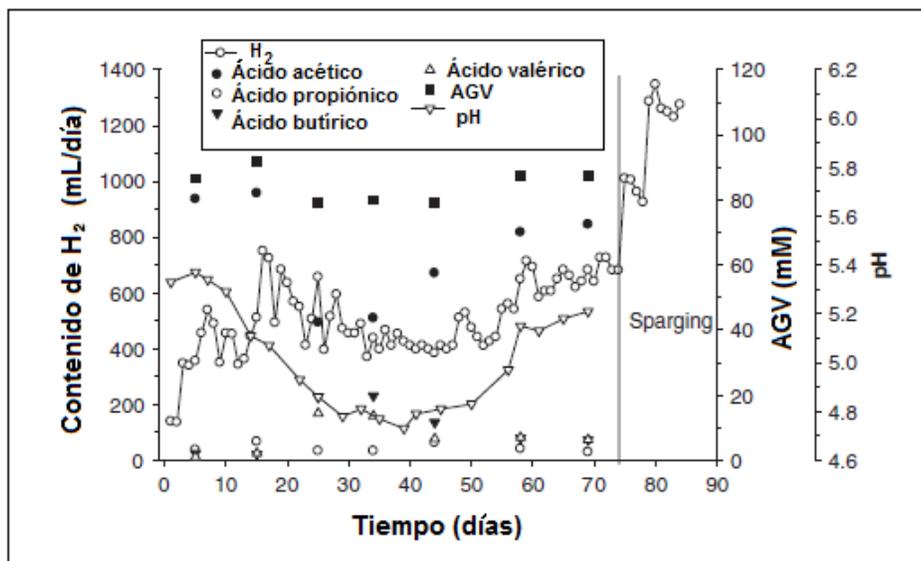


Figura 2.10 Efecto de la aspersión de CH<sub>4</sub> en la fase líquida durante la producción de H<sub>2</sub> a condiciones mesofílicas (37°C) donde AGV: Ácidos grasos volátiles. (Liu y col., 2006)

## 2.4.5 Materias primas

### 2.4.5.1 Sustratos puros

Según lo reportado por numerosos estudios, los carbohidratos son la principal fuente de hidrógeno en el proceso fermentativo. Los azúcares simples como la glucosa, sacarosa y lactosa son fácilmente biodegradables y por esto se prefieren como sustratos modelo para la producción de H<sub>2</sub>. Sin embargo, los costos de fuentes puras de carbohidratos son altos para la producción práctica de hidrógeno a gran escala. Por lo tanto el proceso sólo puede ser viable cuando se basa en fuentes renovables y de bajo costo.

A fin de investigar la tecnología básica para la producción fermentativa de H<sub>2</sub> se han empleado aguas residuales sintéticas, este procedimiento consiste en enriquecer el agua con fuentes puras de carbono como glucosa, xilosa y sacarosa (Davila-Vazquez y col., 2008).

#### **2.4.5.2 Sustratos complejos**

Muchos estudios han investigado la producción de  $H_2$  por fermentación oscura usando azúcares simples como sustrato. En contraste, pocos estudios han observado la conversión con sustratos sólidos. Como se mencionó anteriormente, los residuos sólidos complejos, tales como residuos orgánicos, residuos de procesamiento de alimentos, lodos anaerobios y residuos municipales también pueden usarse como materia prima (Kim y Lee, 2010; Juang y col., 2011). No obstante, no todos los sustratos son ideales para la producción de hidrógeno debido a su estructura compleja.

La principal dificultad técnica para la producción práctica de  $H_2$  a partir de residuos y sustratos complejos es la estabilidad del proceso y la corta duración de la producción de hidrógeno. Algunos sustratos, además de contener carbohidratos tienen un alto contenido de lípidos y proteínas lo cual hace más difícil la biotransformación. Sin embargo, cabe mencionar que dar un tratamiento previo a los sustratos complejos, facilita el uso a las bacterias productoras de  $H_2$  (Luo y col., 2010b). Por ejemplo, Zhang y col., (2007) reportaron que el rendimiento de  $H_2$  a partir de residuos de tallos de maíz fue mucho mayor después de un pretratamiento de acidificación que el obtenido sin el pretratamiento. Hoy en día los principales métodos para el tratamiento previo de biomasa son mecánicos, térmicos, por explosión de vapor, ácidos, alcalinos, con amoníaco o tratamientos oxidantes (Cui y col., 2009).

La obtención de  $H_2$  a partir de residuos agrícolas tiene una gran ventaja ya que son muy abundantes, baratos, renovables y altamente biodegradables. Existen tres categorías de residuos agrícolas: los residuos generados a partir de la producción agrícola directa (residuos de cultivos), los residuos del ganado (estiércol de animales) y los residuos de alimentos (Guo y col., 2010).

En la Tabla 2.1 se observan los diferentes rendimientos de  $H_2$  de acuerdo al tipo de sustrato. La materia prima que no recibió un tratamiento previo dio rendimientos menores respecto a las que si fueron tratadas (Guo y col., 2010).

**Tabla 2.1 Rendimientos en la producción de H<sub>2</sub> por lotes a partir de diferentes sustratos**

Sustrato	Producción máxima: rendimiento (mL H <sub>2</sub> /g STV)	Pretratamiento	Temperatura (°C)	Referencia
Tallo de maíz	3	--	36	(Zhang y col., 2007)
Tallo de maíz	57	0.5% NaOH	36	(Zhang y col., 2007)
Tallo de maíz	150	0.2% HCl hervido 30 min	36	(Zhang y col., 2007)
Hojas de maíz	18	--	70	(Ivanova y col., 2009)
Hojas de maíz	42	130 °C, 30 min	70	(Ivanova y col., 2009)
Paja de trigo	1	--	36	(Fan y col., 2006)
Paja de trigo	68	HCl 2% + calor de microondas	36	(Fan y col., 2006)
estiércol de animales lecheros	14	0.2% NaOH hervido 30 min	36	(Xing y col., 2010)
estiércol de animales lecheros	18	0.2% HCl hervido 30 min	36	(Xing y col., 2010)
arroz	96	--	35	(Okamoto y col., 2000)
zanahoria	71	--	35	(Okamoto y col., 2000)
Piel de pollo	10	--	35	(Okamoto y col., 2000)
Residuos de comida	77	--	35	(Lay y col., 2005)
Residuos de comida	196	160°C, 2 h	36	(Li y col., 2008)

De acuerdo a lo analizado anteriormente, se puede deducir que los residuos con alto contenido en carbohidratos y la biomasa son la materia prima más adecuada para la generación de biohidrógeno desde el punto de vista ambiental y económico (Lo y col., 2008, 2009; Ntaikou y col., 2010).

## 2.4.6 Nutrientes

### Hierro

El hierro es un componente clave en la actividad enzimática para la producción de hidrógeno. Las hidrogenasas son enzimas importantes, ya que participan directamente en la producción de hidrógeno durante el proceso de fermentación. Se ha informado que si la concentración de Fe aumenta, la producción de H<sub>2</sub> también incrementa de manera significativa (Lee y col., 2001).

La formación biológica y el consumo de hidrogeno molecular (H<sub>2</sub>) son catalizados por las hidrogenasas, de las cuales se conocen 3 tipos que no se relacionan filogenéticamente: [NiFe]-hidrogenasas, [FeFe]-hidrogenasas y [Fe]-hidrogenasa (Shima y col., 2008). Entre estas clases, la [FeFe] y [NiFe]-hidrogenasas son mejores en cuanto a la producción de H<sub>2</sub> y más abundantes en los microorganismos; a diferencia de la [Fe]-hidrogenasa que fue encontrada sólo en algunos metanogénicos. La mayor parte de las [Fe-Fe]-hidrogenasas están más involucradas en la formación de hidrógeno y muestran alta sensibilidad al O<sub>2</sub> y CO (Frey, 2002; Bleijlevens y col., 2004).

Las [NiFe]-hidrogenasas se relacionan más con la oxidación de H<sub>2</sub>, pero también pueden catalizar reacciones reversibles (Adams y Hall, 1979; Nishihara y col., 1997). Aunque son menos activas, tienen mayor tolerancia al O<sub>2</sub> o CO. Esta propiedad es una ventaja significativa para la aplicación biotecnológica de la hidrogenasa en la producción de biohidrógeno, ya que no es necesario protegerlas del O<sub>2</sub> en el proceso de producción (Frey, 2002).

### Nitrógeno

Un estudio anterior indicó que el nitrógeno orgánico parece ser el más favorable para la producción de H<sub>2</sub> comparando con el nitrógeno inorgánico (Yokoi y col., 2001). El nivel más alto de la producción de H<sub>2</sub> a partir de almidón de residuos de papa (por lotes repetidos) con un cultivo que contiene *C. butyricum* IFO 13949 se obtuvo cuando se adiciono peptona al 1% como fuente de nitrógeno (Yokoi y col.,

2001). En contraste, la adición de urea,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  o  $\text{NH}_4\text{Cl}$  dió como resultado la ausencia de  $\text{H}_2$  en la evolución del mismo cultivo.

## **Fosfato**

El fosfato es uno de los nutrientes inorgánicos más importantes necesarios para la producción óptima de hidrógeno (Lin y Lay, 2004a). El exceso de fosfato puede favorecer la producción de AGV y la producción de hidrógeno sobre la producción de solventes, por lo que la suplementación de fosfato puede ser necesaria cuando hay materia rica en carbohidratos.

## **Elementos traza**

Lin y Lay (2004b) examinaron el efecto de los elementos traza como Mg, Na, Zn, Fe, K, I, Co,  $\text{NH}_4^+$ , Mn, Ni, Cu, Mo y Ca en la producción de hidrógeno usando *C.pasteurianum* como especie predominante en el cultivo y encontraron que los elementos Mg, Na, Zn y Fe son los suplementos más importantes. Por ejemplo, el Mg es un cofactor muy importante ya que activa cerca de 10 enzimas incluyendo hexoquinasas, fosfoquinasa y fosfogliceratoquinasa durante el proceso de glucólisis.

A fin de suministrar los nutrientes necesarios para que se lleve a cabo el proceso Lin y Lay (2004b) propusieron una formulación de nutrientes óptima que contiene 120 mg/L  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , 1000 mg/L NaCl, 0.5 mg/L  $\text{ZnCl}_2$  y 3 mg/L  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  para la producción óptima de hidrogeno. Sin embargo, en otros estudios, los efectos del  $\text{NH}_4^+$  y la concentración de Fe no son consistentes en otras investigaciones (Lin y Lay, 2004c; Wang y Wan, 2009).

### **2.4.7 Tipo de inóculo**

#### **2.4.7.1 Cultivos puros**

Existen una gran variedad de microorganismos capaces de producir  $\text{H}_2$ , estos pueden clasificarse en tres grupos: anaerobios estrictos, anaerobios facultativos y aerobios.

## **Anaerobios estrictos**

Los microorganismos anaerobios estrictos son muy sensibles al oxígeno, por lo que no son capaces de sobrevivir aún cuando las concentraciones sean muy bajas (Reith y col., 2003).

### *Clostridia*

Muchos microorganismos anaerobios son capaces de producir H<sub>2</sub> a partir de carbohidratos, pero las técnicas moleculares tienen principalmente identificadas a las especies del género *Clostridium* (Lay y col., 2005; Kim y col., 2006; Lin y col., 2006). *C. butyricum*, *C. welchii*, *C. pasteurianum*, *C. beijerincki*, *C. paraputrificum*, *C. acetobutylicum*, *Clostridium spp.* y mezclas de *Clostridia* recién aislados han sido utilizados en estudios dedicados a producir altas cantidades de H<sub>2</sub> (Evyvernie y col., 2001; Reith y col., 2003; Chen y col., 2005; Zhang y col., 2006a, b)

*Clostridia* es una clase de microorganismos muy versátil que puede utilizar varios tipos de sustratos compuestos de carbohidratos, como son almidón, celulosa y hemicelulosa (Leschine, 2005). Por lo tanto, a diferencia de la producción de etanol, los sustratos complejos sí pueden ser usados durante la producción de H<sub>2</sub> sin necesidad de dar pretratamiento. Sin embargo, la flexibilidad metabólica de esta clase permite la producción de una amplia gama de productos finales, los cuales pueden reducir el rendimiento de H<sub>2</sub> (rendimiento teórico máximo de 4 mol H<sub>2</sub>/mol hexosa). La producción de H<sub>2</sub> está determinada por la relación de butirato/acetato.

### *Bacterias del rúmen*

Otro tipo de bacterias anaerobias estrictas que produce H<sub>2</sub> son las bacterias del rúmen. Desde hace varios años, se conoce que *Ruminococcus albus* produce H<sub>2</sub> a partir de carbohidratos, junto con otros productos como acetato, etanol, formiato y CO<sub>2</sub>. Innotti y col. (1973) reportaron un rendimiento de 2.4 mol H<sub>2</sub>/ mol glucosa en un cultivo continuo usando esta bacteria.

### *Termófilos*

*Pyrococcus furiosus* es una arqueobacteria hipertermófila que produce a partir de carbohidratos  $H_2$ , ácidos orgánicos y  $CO_2$  (Fiala y Stteter, 1986; Brown y Kelly, 1989; Godfroy y col., 2000). Sin embargo, la eficiencia de la producción de  $H_2$  no ha sido evaluada. Otras bacterias productoras de  $H_2$  termófilas, extremotermófilas e hipertermófilas (celulolíticas) son las especies de *Anaerocellum*, *Caldicellulosiruptor*, *Clostridium*, *Dictyoglomus*, *Fervidobacterium*, *Spirocheta*, *Thermotoga* y *Thermoanaerobacter*.

Se han reportado experimentos con *Thermotoga marítima* por fermentación en lotes a  $80\text{ }^\circ\text{C}$  (Schröder y col., 1994) y con *Thermotoga elfii* con glucosa como sustrato a  $65\text{ }^\circ\text{C}$ .

### *Metanógenos*

Los metanógenos se caracterizan por la presencia de hidrogenasa, la cual está implicada en la oxidación de  $H_2$  acoplada a la producción de  $CH_4$  y en la reducción del  $CO_2$ . Bott y col., (1986) inhibieron la formación de  $CH_4$  y reportaron la producción de  $H_2$  y  $CO_2$  en cantidades estequiométricas a partir de  $CO$  y  $H_2O$  por una cepa de *Methanosarcina barkeri*.

### **Anaerobios Facultativos**

Los anaerobios facultativos son resistentes al oxígeno. Estas bacterias tienen la ventaja de consumir rápidamente el oxígeno restableciendo las condiciones anaerobias en el reactor.

### *Enterobacter*

*Enterobacter* así como otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* tienen ciertas ventajas en la producción de  $H_2$ . Entre ellas esta su alta tasa de crecimiento y la utilización de una amplia gama de fuentes de carbono. Además la producción de  $H_2$  por *Enterobacter* no es inhibida por altas presiones de  $H_2$

(Tanisho y col., 1987). Sin embargo, el rendimiento de H<sub>2</sub> usando glucosa normalmente es inferior comparado, por ejemplo, con el de *Clostridia*.

Tanisho y col., (1983) aislaron la cepa de *E. aerogenes* E.82005 para llevar a cabo la fermentación a partir de glucosa en un cultivo en lotes; la tasa de producción obtenida en 23 h fue 21 mmol/L. h. con un rendimiento de 1.0 mol H<sub>2</sub>/mol de glucosa. En una fermentación continua con la misma cepa pero usando melaza como sustrato, se obtuvo una tasa de producción de 17 mmol/ L. h. en un periodo de 42 días.

Aunque la producción por *Enterobacter* no es inhibida por altas presiones de H<sub>2</sub>, rociar el medio de cultivo con argón mejora el rendimiento a 1.6 mol H<sub>2</sub>/mol de glucosa. Esto sugiere que la eliminación de CO<sub>2</sub> favorece el aumento en el rendimiento de H<sub>2</sub> (Tanisho y col., 1998).

#### *E. coli*

*E. coli* es capaz de producir H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> a partir de formiato en ausencia de oxígeno.

#### *Citrobacter*

*Citrobacter* sp. Y19, la cual fue aislada de lodos de digestión, es capaz de producir H<sub>2</sub> a partir de CO y H<sub>2</sub>O por WGSR (proceso para la obtención de H<sub>2</sub> a partir de agua y CO) a condiciones anaerobias.

#### **Aerobios**

##### *Alcaligenes*

*A. eutrophus* ha demostrado crecer heterotróficamente en gluconato y fructosa, y al exponerse a condiciones anaerobias es capaz de producir H<sub>2</sub> (Reith y col., 2003).

##### *Bacillus*

*Bacillus licheniformis* es una bacteria productora de H<sub>2</sub> aislada de estiércol de ganado, esta bacteria produjo 0.5 mol H<sub>2</sub>/ mol glucosa; mientras que inmovilizando

las células (por 60 días) se obtuvo un rendimiento de 1.5 mol H<sub>2</sub>/ mol glucosa (Kalia y col., 1994).

En la Tabla 2.2 se presentan los rendimientos obtenidos a partir de cultivos puros así como las condiciones de operación y temperatura.

**Tabla 2.2 Rendimientos de H<sub>2</sub> por diferentes cultivos puros durante la fermentación oscura**

Inóculo	Sustrato y operación	Temperatura (°C)	Rendimiento mol H <sub>2</sub> /mol hexosa o glucosa	Referencia
<i>C. saccharoperbutylacetonicum</i> ATCC 27021	Glucosa, Continua	30	1.37	Ferchichi y col., (2005)
<i>Citrobacter</i> sp. Y19	Glucosa, Lotes	36	2.49	Oh y col., (2003)
<i>Escherichia coli</i> BL-21	Glucosa, continuo	37	3.12	Chittibabu y col., (2006)
<i>Klebsiella oxytoca</i> HP1	Bagazo, Continuo	38	1.6	Wu y col., (2010)
<i>Bacillus licheniformis</i> Jk1	Pastas de trigo, Continuo	38-40	0.20	Kalia y col., (1994)
<i>E. aerogenes</i> NCIMB 10102	Almidón hidrolizado, Lotes	40	1.1	Perego y col., (1998)
<i>C. paraputrificum</i> M-21	Fibra de maíz, Lotes	45	1.1	Evyernie y col., (2001)
<i>C. paraputrificum</i> M-21	Celobiosa, Lotes	45	1.4	Evyernie y col., (2001)
<i>C. thermolaiticum</i> DSM 2910	Lactosa, Continua	58	1.5	Collet y col., (2004)
<i>Thermotoga elfi</i>	Glucosa, Lotes	65	3.33	van Niel y col., (2002)
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Glucosa, Lotes	70	3.4	Mars y col., (2010)
<i>Thermotoga maritime</i>	Glucosa Lotes,	80	4.00	Schröder y col., (1994)
<i>Thermococcus kodakaraensis</i> KOD1	Almidón, Continua	85	3.33	Kanai y col., (2005)

#### **2.4.7.2 Cultivos mixtos**

Como ya se mencionó en la sección 2.3.7, otro tipo de cultivos utilizados en la fermentación oscura son los cultivos mixtos, procedentes de lodos anaerobios, lodos de aguas residuales, suelo, compost y estiércol de ganado. Estos consorcios microbianos pueden manipularse bajo condiciones no estériles y con un pretratamiento mínimo, lo cual facilita su manejo y control (Li y Fang, 2007). Una ventaja de tales cultivos es que soportan una gran variedad de actividades de metabolitos y pueden recuperarse fácilmente de los cambios en las condiciones ambientales (Hallenbeck y Ghosh, 2009).

Sin embargo, este tipo de cultivos también presentan en su microflora bacterias no deseadas que consumen el H<sub>2</sub> producido y lo convierten en metano. Por ello es necesario preparar el inóculo con aireación forzada o con tratamientos térmicos a fin de inhibir la actividad de microorganismos consumidores de H<sub>2</sub>.

#### **2.4.7.3 Estiércol de cerdo**

Las excretas porcinas están constituidas por un 55% de heces y un 45% de orina, con un contenido de humedad del 88%; cerca del 90% de los sólidos se excretan en las heces y un 10% en la orina como minerales y amoniaco-nitrógeno.

Las excretas tienen diversos contaminantes físicos, químicos y biológicos, como materia orgánica biodegradable, microorganismos patógenos, nitrógeno y minerales como fósforo, cobre, zinc, arsénico y potasio.

#### **Caracterización microbiológica**

Las excretas de cerdo se componen por gran cantidad de bacterias. Dicha población microbiana dependerá de la granja analizada así como del antecedente clínico de los cerdos. Sin embargo, dentro de las bacterias que se pueden encontrar en el estiércol de cerdo están bacterias ácido lácticas (BAL), *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterolítica*, *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., *Brucella* spp., *Leptospira* spp., *Brachyspira hyodysenteriae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomona* spp., *Citrobacter* spp.,

*Clostridium spp.* entre otras. Algunas especies de clostridios identificados son *C. perfringens*, *C. butyricum* y *C. diporycum* (Leung y Topp, 2001; Ramírez, 2002; Cordero, 2005; Mejía, 2006).

#### 2.4.8 Agitación

Chou y col., (2008) hicieron un estudio piloto para observar la influencia de la agitación y el pH durante la conversión anaerobia de residuos sólidos orgánicos (granos de cervecería) a  $H_2$ . Múltiples pruebas indicaron que la agitación afecta significativamente la tasa de producción de  $H_2$  (aunque el pH tiene un impacto mayor durante el proceso). Las condiciones óptimas de operación que reportaron fueron pH 6 y una velocidad de agitación de 120 rpm obteniendo una tasa de producción de 161 mL $H_2$  /g STV/día y un rendimiento de 13 mL  $H_2$ /g STV<sub>agregado</sub>.

La producción de  $H_2$  a pH 6 disminuyó de 6.1 a 1.8 L a medida que la velocidad bajó de 100 a 20 rpm. Sin embargo, la tasa de producción y rendimiento también disminuyeron cuando la velocidad de agitación aumentó arriba de 120 rpm. La Figura 2.11 ilustra el efecto de la agitación en la producción de  $H_2$  a diferentes valores de pH de acuerdo al experimento de Chou y col., (2008).

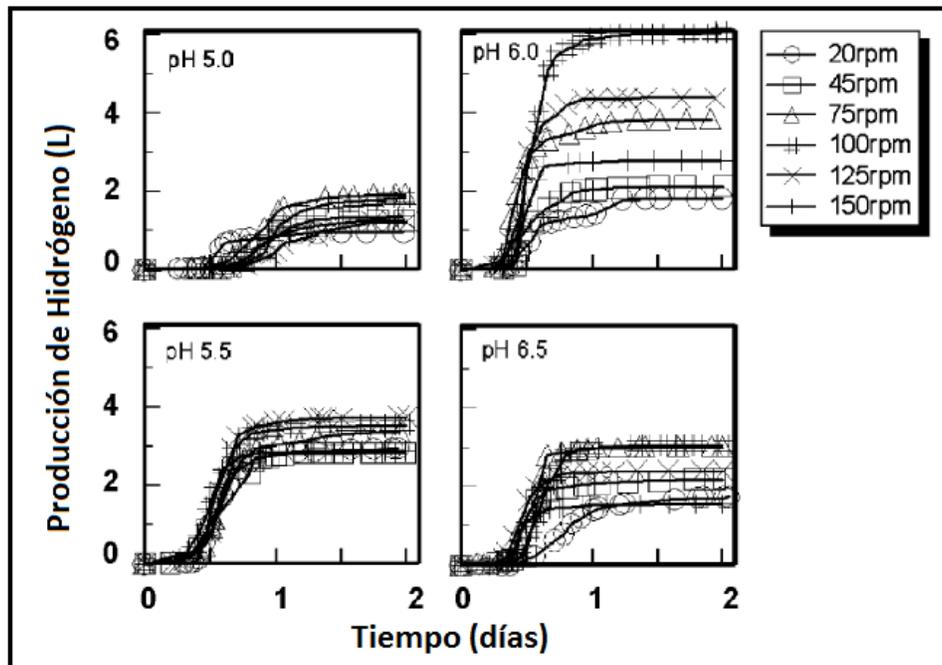


Figura 2.11 Producción de  $H_2$  con diferente pH y velocidad de agitación (Chou y col., 2008)

## 2.5 Biogás

Como se mencionó anteriormente, la degradación de la biomasa en condiciones anaerobias da origen al "biogás". Este tipo de transformación se produce de manera espontánea en pantanos o fondos de lagunas y lagos en los que hay depósitos de materia orgánica, aunque también se produce en los vertederos de residuos sólidos urbanos (RSU), obteniendo el gas mediante perforaciones. El biogás se utiliza para generar electricidad. En el caso de los vertederos, su uso tiene como ventajas la quema del metano y su transformación en CO<sub>2</sub> y agua. Reduciendo así, el efecto perjudicial del metano como gas de efecto invernadero, ya que el metano posee un potencial de absorción de la radiación infrarroja muy superior al del CO<sub>2</sub>. La degradación anaerobia es un proceso típico de depuración, por lo que también se emplea para el tratamiento de aguas residuales y efluentes orgánicos de industrias agrarias o de explotaciones ganaderas (Fernández, 2008).

La composición del biogás es variable, pero está formado principalmente por CH<sub>4</sub> (55-65%) y CO<sub>2</sub> (35-45%); y en menor proporción, por nitrógeno (0-3%), H<sub>2</sub> (0-1%), oxígeno (0-1%) y H<sub>2</sub>S (trazas). Durante la degradación anaerobia se producen alrededor de 300 L de este biogás por kg de materia seca, con un valor calórico de unas 5.500 Kcal/m<sup>3</sup>. La producción total de gas depende fundamentalmente de la cantidad de sustrato eliminado en el proceso, lo cual se expresa normalmente por la demanda de oxígeno (DQO) y por los sólidos volátiles (SV). Teniendo en cuenta la heterogénea composición de los sustratos, la cantidad de biogás que se puede producir a partir de un determinado tipo de sustrato, dependerá de su composición química. Por otro lado, el poder calorífico del biogás está determinado por la concentración de metano, no obstante, esta puede aumentar, eliminando todo o parte del CO<sub>2</sub> que le acompaña (Fernández, 2008).

En la Tabla 2.3 se muestran valores medios de composición del biogás en función del sustrato utilizado.

**Tabla 2.3 Componentes del biogás en función del sustrato utilizado (Montes, 2008)**

Componente	Residuos Agrícolas	Lodos de depuradora	Residuos Industriales	Gas de vertedero
CH <sub>4</sub>	50-80%	50-80%	50-70%	46-65%
CO <sub>2</sub>	30-50%	20-50%	30-50%	34-55%
H <sub>2</sub> O	saturado	saturado	saturado	saturado
H <sub>2</sub>	0-2%	0-5%	0-2%	0-1%
H <sub>2</sub> S	100-700 ppm	0-1%	0-8%	0.5-100 ppm
NH <sub>3</sub>	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
CO	0-1%	0-1%	0-1%	Trazas
N <sub>2</sub>	0-1%	0-3%	0-1%	0-20%
O <sub>2</sub>	0-1%	0-1%	0-1%	0-5%
Compuestos orgánicos	Trazas	Trazas	Trazas	5 ppm (terpenos, ésteres)

### **Almacenamiento del biogás**

Las variaciones de producción de biogás en los reactores anaerobios se amortiguan mediante depósitos de almacenamiento llamados gasómetros. Un gasómetro tiene la función de almacenar el biogás, y a su vez, mantener constante la presión en la red hasta los sopladores de biogás, equilibrando las fluctuaciones de la producción, consumo y cambios de volumen generados por la temperatura o variación de la producción. Existen varios tipos de gasómetros, éstos pueden ser de baja presión (<50mbar) como los dispositivos de campana flotante sobre depósito de agua, media presión (8-10 bar) con compresores de una tapa o alta presión con compresores de varias etapas (Montes, 2008).

## Usos del biogás

Una vez generado el biogás puede ser utilizado de diferentes formas, ya sea para la producción de energía calorífica o eléctrica, como se muestra en la Figura 2.12.

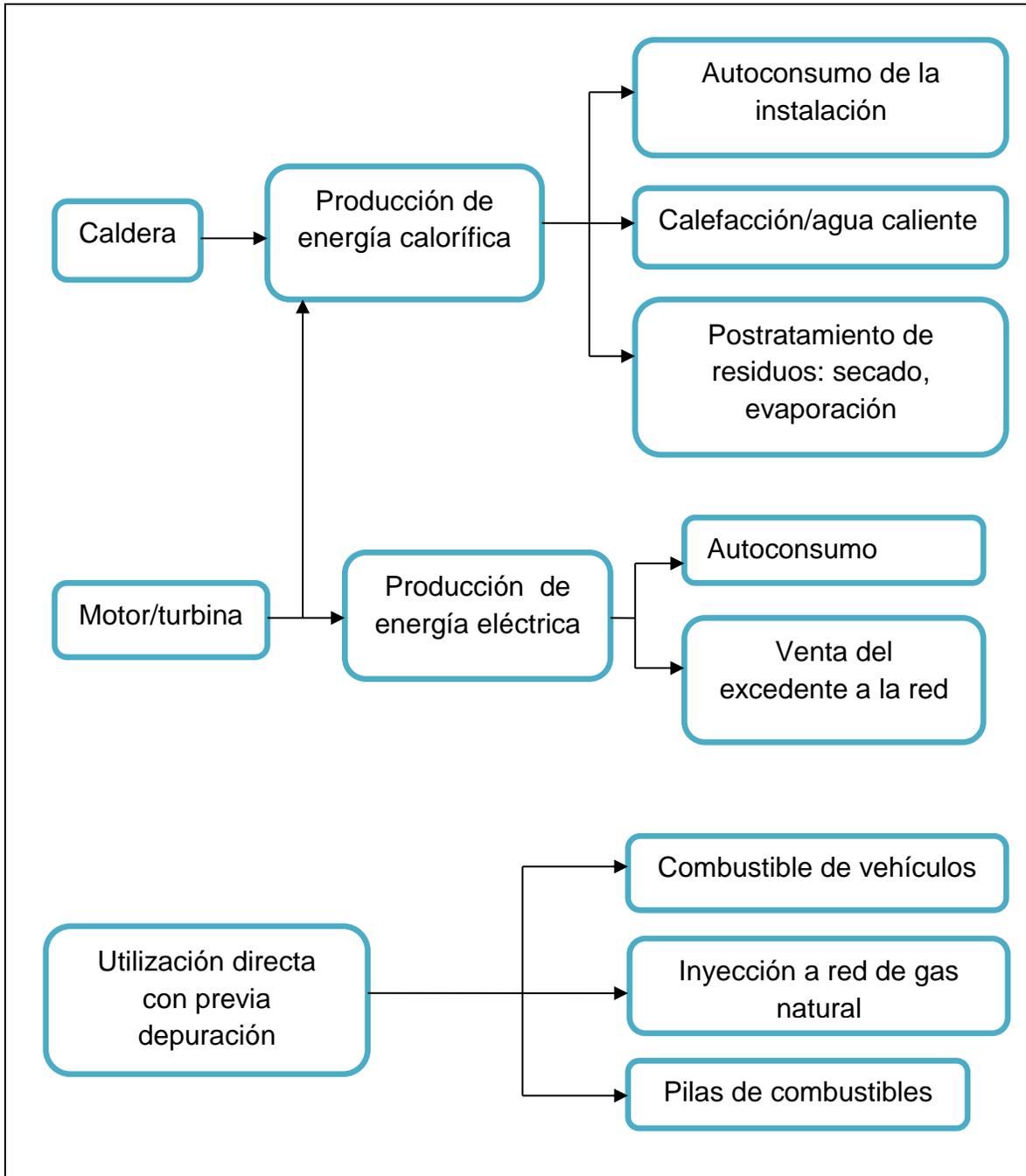


Figura 2.12 Usos del biogás (Montes, 2008)

## Tratamiento del biogás

El tipo de tratamiento del biogás depende de su composición y uso final. Los tratamientos más importantes se mencionan a continuación.

- Eliminación de vapor: El gas que fluye de los digestores sale saturado de vapor de agua; a fin de no causar daño en las instalaciones, es necesario eliminar dicho vapor. En otros casos será preciso concentrar el gas, eliminando el  $\text{CO}_2$ , que puede estar presente en un 60-40% del volumen.
- Eliminación de partículas: Se trata de métodos sencillos que se basan en el uso de rejillas metálicas, trampas de agua o combinaciones de ambas.
- Deshidratación: El biogás normalmente se encuentra saturado de vapor de agua. La eliminación del agua se realiza mediante su condensación en trampas frías. Si la digestión se realiza a  $35\text{ }^\circ\text{C}$ , el biogás contiene aproximadamente  $35\text{ g}$  de agua por  $\text{m}^3$ . La trampa fría o condensador aprovecha la diferencia de temperaturas entre el digestor y la temperatura ambiente exterior para condensar el agua en forma natural.
- Eliminación de  $\text{H}_2\text{S}$ : El ácido sulfhídrico es un compuesto altamente corrosivo por lo que su concentración debe reducirse por debajo de los niveles aceptables, para proteger las instalaciones de gas, motores, calderas y turbinas. Durante el proceso de degradación anaerobia, en presencia de compuestos azufrados, se desarrollan bacterias sulfato reductoras que producen  $\text{H}_2\text{S}$  (hasta el 1% en volumen). La eliminación de  $\text{H}_2\text{S}$  del biogás se consigue por diferentes métodos, que básicamente se basan en una oxidación a azufre elemental (sólido). Se puede eliminar usando gran variedad de absorbentes en medio líquido u oxidantes en fase sólida. Los métodos que utilizan absorbentes líquidos se prefieren si es necesario eliminar también el  $\text{CO}_2$  para alguna aplicación. Los métodos de eliminación en seco son en general mejores si no es necesario eliminar el  $\text{CO}_2$  y son más económicos, sobre todo en instalaciones pequeñas (Montes, 2008).

## 2.6 Almacenamiento y uso del hidrógeno

Uno de los principales retos para el establecimiento de una economía de hidrógeno es encontrar una forma eficiente de almacenamiento y descarga, de manera que éste pueda ser empleado con seguridad en aplicaciones móviles — como el transporte— las cuales requieren su almacenamiento en el sitio de empleo (Schlapbach y Züttel, 2001).

En la actualidad existen distintas formas de almacenar hidrógeno, ya sea para aplicaciones móviles o estacionarias. De acuerdo al tipo de proceso final en el que se vaya a emplear, es necesario considerar factores como la densidad energética requerida, la cantidad de gas a almacenar y la duración del almacenamiento, los costos y necesidades de mantenimiento de la instalación, así como los costos de operación (Dunn, 2002).

Entre las distintas tecnologías para el almacenamiento de hidrógeno, actualmente destacan: compresión, licuefacción, adsorción en líquidos porosos, formación de hidruros complejos e intercalación de hidrógeno en metales. La Tabla 2.4 ilustra las diversas características de operación, así como la eficiencia de cada uno de los procesos de almacenamiento de H<sub>2</sub> (Nijkamp, 2002).

**Tabla 2.4 Principales características de diversos métodos de almacenamiento de H<sub>2</sub> (Nijkamp, 2002)**

Método	Temperatura (°C)	Presión (bar)	Eficiencia del ciclo de almacenamiento (%)
Compresión	24.9	200-250	80
Licuefacción	-253	1-5	60
Adsorción física	-196	1-10	90
Hidruros metálicos	19.9-300	1-60	75

En el caso del empleo de hidrógeno como combustible para el transporte, los métodos de almacenamiento de hidrógeno a desarrollar deben cumplir con las medidas de seguridad, costos y las características de suministro requeridas.

El Departamento de Energía de los Estados Unidos (DOE, 2004) estableció como objetivos para sistemas de almacenamiento de hidrógeno a bordo, al menos una eficiencia en peso del 6 % (45 g/L) para el año 2010 y de 9 % (81 g/L) para el 2015, a temperaturas próximas a las ambientales y presiones seguras. Se maneja una eficiencia mínima del 6% ya que un vehículo con una pila de combustible de H<sub>2</sub> necesitaría más de 3 kg de hidrógeno para una autonomía de unos 500 km. En cuanto al tiempo de recarga, para 5 kg de H<sub>2</sub>, éste deberá ser de 3 min. (2010) y 2.5 min. (2015). En lo referente a la durabilidad, deberán ser recargables durante 1000 ciclos (2010) y 1500 ciclos (2015). En la actualidad, ningún método disponible ha alcanzado estos requisitos (Hynek y col., 1997; Cheng y col., 2001; Pinkerton y col., 2005; Laborde y Rubiera, 2010).

### **2.6.1 Métodos tradicionales de almacenamiento de H<sub>2</sub>**

Dentro de los métodos tradicionales, se encuentra el almacenamiento por compresión y por licuefacción.

#### **2.6.1.1 Almacenamiento por compresión**

Dado que el H<sub>2</sub> es producido en forma gaseosa y sus aplicaciones, por lo general, requieren que se encuentre en este estado, la vía más simple podría ser su almacenamiento a alta presión.

Sin embargo, un inconveniente de este tipo de almacenamiento (presiones >200 bar) es que requiere que los depósitos sean pesados y voluminosos. Además, es necesario tomar serias medidas de seguridad en los vehículos, en los depósitos de almacenamiento y durante la distribución y carga del H<sub>2</sub>. Al comparar esta alternativa frente al empleo de otros combustibles, el almacenamiento de H<sub>2</sub> gaseoso en recipientes a presión no resulta competitivo debido a su baja

densidad, al elevado costo de dichos recipientes y del propio proceso de compresión del hidrógeno (Züttel, 2003).

### **2.6.1.2 Almacenamiento por licuefacción**

Actualmente, la forma de almacenamiento más empleada en autos que se evalúan como prototipo, ha sido el H<sub>2</sub> en estado líquido; el cual tiene el reducido valor de densidad de 70g/L. La licuefacción del H<sub>2</sub> tiene lugar a una temperatura baja (-253 °C), que no puede ser suministrada por ninguno de los fluidos criogénicos comúnmente empleados (como el N<sub>2</sub> líquido, -196°C). Ésto implica un gasto energético, para su licuefacción, equivalente al 40% de la energía que se va a generar.

Una desventaja durante este proceso es la inevitable pérdida por la volatilización, incluso empleando las mejores técnicas de aislamiento; por lo tanto, su almacenamiento en el sitio de empleo está limitado. Según los aspectos mencionados, dicha opción (licuefacción) resulta inviable en la práctica, desde el punto de vista económico; salvo en aquellas aplicaciones donde el costo del H<sub>2</sub> no sea un factor crítico y éste sea consumido en cortos periodos de tiempo, como en aplicaciones aeroespaciales (Züttel, 2004).

### **2.6.2 Métodos de almacenamiento de H<sub>2</sub> en desarrollo**

El hidrógeno puede ser almacenado en forma atómica o molecular. El almacenamiento de hidrógeno atómico implica que éste debe encontrarse químicamente enlazado, formando parte de la estructura de algún compuesto. Existen diversos métodos que ofrecen alta eficiencia de almacenamiento de H<sub>2</sub>, entre ellos están el almacenamiento por adsorción en sólidos porosos y la formación de hidruros metálicos.

#### **2.6.2.1 Adsorción en sólidos porosos**

La adsorción de H<sub>2</sub> en sólidos porosos se plantea como una alternativa con un gran potencial para el transporte. El principio de este tipo de almacenamiento se basa en la acumulación de H<sub>2</sub> en la superficie del sólido por efecto de fuerzas de

Van der Waals. La energía de interacción durante la adsorción está en un rango de 1–10 kJ/mol, por lo que es innecesario el uso de sistemas adicionales para el intercambio de calor.

La eficiencia esperada para sistemas de adsorción es la más alta entre los distintos métodos (90%) y presenta como ventaja adicional que la desorción puede ser controlada mediante variaciones de presión y temperatura. Sin embargo, para obtener elevadas capacidades de adsorción y, por consiguiente, altas densidades energéticas, la temperatura de adsorción debe alejarse lo más posible de la de condensación del H<sub>2</sub> (-253 °C, a presión atmosférica), lo que implica significativas dificultades técnicas. La adsorción de H<sub>2</sub> ha sido evaluada diversos sólidos porosos que incluyen materiales como los carbonosos, polímeros porosos y zeolitas; así como otros materiales en desarrollo como los EOM (Estructuras Orgánico Metálicas) y EOC (Estructuras Orgánico Covalentes) (Laborde y Rubiera, 2010).

#### *Materiales carbonosos*

Los materiales basados en estructuras de carbono, han sido extensamente estudiados en años recientes debido a sus potencialidades como adsorbentes de H<sub>2</sub>. Son materiales con valores de densidad relativamente bajos, estabilidad química apropiada y extensa estructura porosa; pueden ser encontrados en una amplia variedad de formas estructurales. La Figura 2.13 presenta las imágenes MET (Microscopía electrónica de transmisión) de nanoestructuras de carbono a diferentes resoluciones (Thomas, 2007).

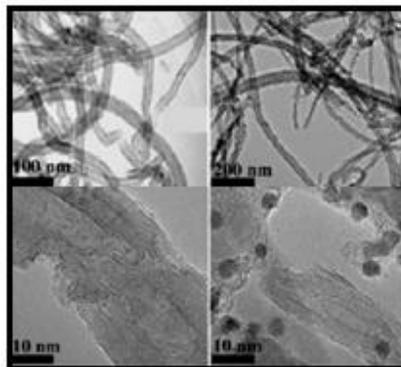


Figura 2.13 Imagen MET de nanoestructuras de carbono a 100, 200 y 10 nm (Thomas, 2007)

## Zeolitas

Un extenso grupo de sílicas, alúminas y zeolitas ha sido estudiado en cuanto a su capacidad de almacenamiento de H<sub>2</sub>. El almacenamiento de hidrógeno en zeolitas puede ocurrir por dos vías: adsorción (normalmente a temperaturas criogénicas) y encapsulación (temperatura ambiente y altas temperaturas). La encapsulación de gases en zeolitas es un proceso bien conocido, donde moléculas de gas con tamaños similares o menores que las ventanas de los poros de la zeolita son atrapadas dentro de las cavidades de la misma. El tamaño de la ventana se puede cambiar incrementando la temperatura o cambiando el contra-catión de la zeolita (van den Berg y col., 2005). La Figura 2.14 muestra las imágenes MEB (Microscopía Electrónica de Barrido) de zeolitas sintetizadas con valores altos de microporos.

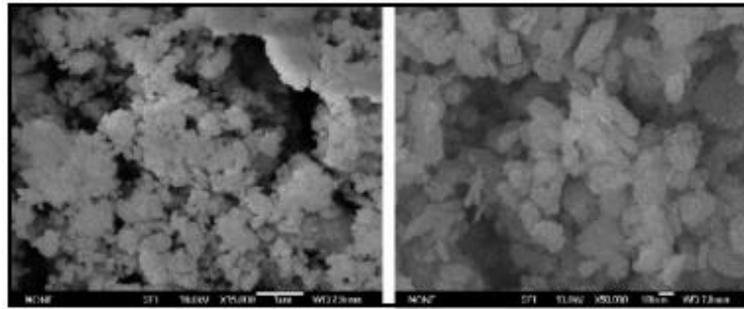


Figura 2.14 Imágenes MEB de zeolitas con altos valores de microporos, a 1 µm y 100nm respectivamente (Dong y col., 2007)

Respecto a la adsorción física de H<sub>2</sub> en zeolitas a temperatura ambiente, los valores publicados son menores del 0.2-0.3% en peso. A temperaturas criogénicas, la cantidad de H<sub>2</sub> adsorbido por las zeolitas aumenta linealmente con la porosidad de las mismas, alcanzando valores de alrededor del 2% en peso a (77 K y 15 bares) (Natesakhawat y col., 2007). La limitación en el desarrollo de la porosidad (menor de 1000 m<sup>2</sup>/g) hace que este tipo de materiales no sea muy atractivo para esta aplicación en comparación con otros materiales porosos que poseen un mayor desarrollo de la porosidad, como los carbones activos, los EOM (Estructuras Orgánico Metálicas) o los EOC (Estructuras Orgánico Covalentes).

## *EOM y EOC*

Las EOM (Estructuras Orgánico Metálicas) son materiales formados por un ligando orgánico y un metal (Zn, Cu, Ni, Al, Cr, Mg, entre otros). Dichos elementos coordinados forman estructuras tridimensionales porosas, aumentando así de forma considerable el área superficial respecto a un material tradicional.

La posibilidad de usar unidades inorgánicas, aunado a la inmensa variedad de moléculas orgánicas que pueden ser utilizadas como puente, hace posible la preparación de una gran diversidad de EOM con diferentes porosidades, geometrías y propiedades. Así, se han preparado EOM con áreas superficiales desde 100 a 5,000 m<sup>2</sup>/g y con aperturas de poro entre 0.3 y 3 nm. Por su parte, las EOC (Estructuras Orgánico Covalentes) presentan estructuras cristalinas 2D y 3D (Côté y col., 2005; El-Kaderi y col., 2007), construidas a partir de elementos ligeros (C, H, B, y O) unidos por fuertes enlaces covalentes. La ausencia de metales pesados hace que sean menos densos que los EOM, pero al igual que éstos, poseen elevadas áreas superficiales.

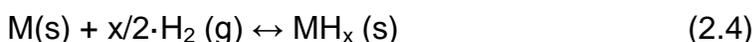
Los estudios realizados con adsorbentes de distinta naturaleza indican que la adsorción de H<sub>2</sub> a presiones elevadas responde a un mecanismo de llenado de microporos, obteniéndose correlaciones prácticamente lineales entre la capacidad de adsorción de H<sub>2</sub> a 77 K y elevada presión; y el volumen total de microporos de EOM (van den Berg y Areán, 2008), EOC (Assfour y Seifert, 2010), zeolitas (Takagi y col., 2004), carbones activados (Texier-Mandoki, 2004) y fibras de carbono activadas (Ding y col., 2008).

En la actualidad, una de las líneas de investigación prioritarias en este campo tiene como objetivo principal determinar las relaciones existentes entre las características de la porosidad de una gran variedad de adsorbentes y su capacidad para el almacenamiento de H<sub>2</sub>. Esta información es de gran importancia, ya que definiría un camino en el diseño de materiales para esta aplicación. Desafortunadamente, el éxito ha sido muy limitado (Laborde y Rubiera, 2010).

### 2.6.2.2 Almacenamiento por hidruros metálicos

Algunos metales y aleaciones permiten almacenar hidrogeno atómico a presiones y temperaturas moderadas, por la formación de hidruros. Estos sistemas presentan buenas densidades de almacenamiento de hidrógeno, tanto gravimétricas como volumétricas. De hecho, algunos de estos hidruros presentan densidades de almacenamiento de hidrógeno más elevadas que el hidrógeno gaseoso o líquido (Varin y col., 2009; Züttel y col., 2008; Sakintuna y col., 2007).

El hidrógeno se combina con muchos elementos para formar hidruros binarios (ecuación 2.4). La mayor parte de los elementos de la tabla periódica forman hidruros, a excepción de los gases nobles, el indio y talio y algunos elementos de transición (Greenwood y Earnshaw, 1997).



Existen diversos tipos de hidruros binarios: metálicos, iónicos, covalentes e hidruros intermedios (Greenwood y Earnshaw, 1997; Züttel y col., 2008; Varin y col., 2009). En esta sección se empleará el término hidruros de los metales para abarcar no sólo a los hidruros metálicos, sino también a los iónicos e intermedios.

Desde el punto de vista del almacenamiento de  $H_2$ , los hidruros de los metales son materiales interesantes por su capacidad para liberar hidrógeno al calentarlos. En los hidruros metálicos los átomos de hidrógeno son lo suficientemente pequeños para ocupar huecos intersticiales en una red metálica, por lo que reciben el nombre de hidruros metálicos intersticiales (Varin y col., 2009; Züttel y col., 2008).

La formación de un hidruro metálico intersticial es un proceso exotérmico y reversible. Durante la formación del hidruro, las moléculas de hidrógeno se disocian y los átomos de hidrógeno se alojan en la red metálica. La posterior “liberación” de hidrógeno tiene lugar aumentando la temperatura o reduciendo la presión (Züttel y col., 2008).

Respecto a su aplicación en el almacenamiento de hidrógeno, el  $MgH_2$  es uno de los candidatos más prometedores por su elevada capacidad de almacenamiento

gravimétrica y volumétrica (7.6% en peso y 0.11 kg H<sub>2</sub>/L, respectivamente), excelente reversibilidad, abundancia en la corteza terrestre y su bajo costo (Sakintuna y col., 2007; Sahaym y Norton, 2008; XiangDong y GaoQing, 2008; Züttel y col., 2008). En la Figura 2.15 se muestra la estructura cristalina del MgH<sub>2</sub>.

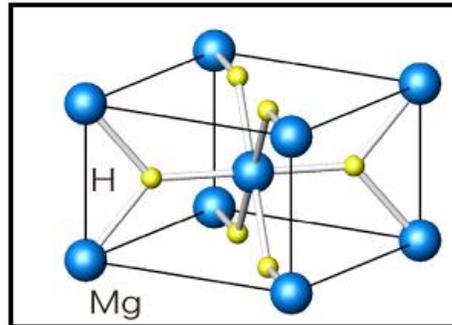


Figura 2.15 Estructura cristalina del MgH<sub>2</sub> (SPring-8, 2013)

Sin embargo, los materiales basados en magnesio se encuentran limitados para su aplicación práctica por dos aspectos: las temperaturas para “hidrogenación” y “deshidrogenación” (hasta 300° C) de estos materiales son elevadas y la velocidad de las reacciones es lenta (Sakintuna y col., 2007).

Para mejorar las barreras relacionadas con las cinéticas de formación y descomposición lentas de los hidruros y disminuir el valor de la entalpía de formación, numerosos estudios han observado que reducir el tamaño de partícula del magnesio, alea el magnesio con otro elemento (como el níquel) o introducir catalizadores para el proceso de “hidrogenación” y/o “deshidrogenación” ayuda en la capacidad de almacenamiento del hidrógeno.

Además del Mg, otros hidruros de metales e hidruros de intermetálicos han recibido una gran atención por su uso potencial en el almacenamiento de hidrógeno como son el AlH<sub>3</sub>, varios hidruros salinos y una gran variedad de hidruros de intermetálicos (Züttel y col., 2008; Varin y col., 2009).

El AlH<sub>3</sub> contiene un 10% en peso de hidrógeno y se puede descomponer a temperatura ambiente; no obstante, en las condiciones estudiadas, no es un sistema reversible. Algunos hidruros salinos, como el de litio, contienen

porcentajes de hidrógeno elevados, pero sus temperaturas de descomposición son demasiado elevadas, incluso superiores a la del  $MgH_2$  (Züttel, 2007).

La fórmula general de los hidruros intermetálicos es  $A_xB_yH_n$ ; donde A es un metal de transición (de la parte izquierda de la tabla periódica) o un elemento de los lantánidos ó actínidos que tiene tendencia a formar un hidruro estable y B es un elemento que forma hidruros inestables (Greenwood y Earnshaw, 1997; Züttel y col., 2008). Para este tipo de hidruros, se ha reportado que el  $Mg_2NiH_4$  (Züttel, 2008) es capaz de descomponerse a temperaturas sustancialmente inferiores que las del  $MgH_2$ . Sin embargo, sus capacidades de almacenamiento (3.6% en peso) no cumplen con los requerimientos actuales.

Finalmente, se deben destacar los denominados hidruros complejos, que incluyen a los alanatos, amidas y borohidruros de los metales de los grupos 1, 2 y 13, dado que también presentan un gran interés para almacenar hidrógeno. Algunos de estos hidruros complejos tienen capacidades gravimétricas de almacenamiento de hidrógeno. Por ejemplo, el  $LiBH_4$  posee un 18.4% en peso de hidrógeno en su estructura y el  $LiAlH_4$  posee un 10.5% en peso. Sin embargo, todos estos sistemas están limitados por la cinética de formación y descomposición de los sólidos y los procesos de “hidrogenación” y “deshidrogenación”, que no son reversibles (Orimo y col., 2007; Züttel y col., 2008; Varin, 2009).

### **2.6.3 Pilas de combustible y sus aplicaciones**

Como ya se ha mencionado, para que sea posible la utilización masiva del hidrógeno como combustible es preciso disponer de sistemas eficientes de distribución y almacenamiento que cumplan con los objetivos ya establecidos (eficiencia mínima de almacenamiento, 6% en peso) (Nicoletti 1995; Züttel, 2004).

Para el caso de aplicaciones móviles y portátiles, el principal problema radica en el almacenamiento. Por lo tanto, la capacidad de almacenamiento en materiales, por formación de hidruros metálicos y adsorción en sólidos porosos, debe ser mayor a los requerimientos citados anteriormente.

Las pilas de combustible son la mejor tecnología para el desarrollo del H<sub>2</sub> como combustible en todas sus aplicaciones, ya que durante la conversión energética presenta eficiencias superiores a las convencionales por no utilizar ciclos térmicos. Los campos de aplicación de las pilas de combustible son muy diversos, generalmente la complejidad de la instalación, la potencia de rendimiento máximo y su temperatura de funcionamiento, las hacen más convenientes para unas aplicaciones u otras. Las principales aplicaciones son estacionarias (generación distribuida en usos industriales o residenciales), móviles (transporte terrestre, aéreo y marítimo) y portátiles en dispositivos electrónicos (ordenadores, cámaras, teléfonos móviles, etc.) (Laborde y Rubiera, 2010).

### **2.6.3.1 Aplicaciones estacionarias**

El hidrógeno se puede utilizar a gran escala en turbinas de gas y a pequeña escala en pilas de combustible para usos residenciales (Dunbar, 1993). La alta densidad de potencia de las pilas de combustible permite tiempos de operación más largos que los de las baterías convencionales. Además, debido al carácter modular y a la alimentación en continuo del combustible, estas pilas pueden satisfacer fácilmente cualquier demanda de potencia. El desarrollo de infraestructura de distribución de hidrógeno para el transporte favorecerá el uso del mismo en aplicaciones estacionarias; aunque a corto plazo se utilizarán combustibles diferentes al hidrógeno tales como el gas natural, gas de síntesis o biogás.

Actualmente existen en todo el mundo más de 2,500 sistemas de pilas de combustibles en aplicaciones estacionarias para producción de energía (hospitales, hoteles, edificios y escuelas). Éstas pueden estar conectadas a la red eléctrica para suministrar potencia o de forma independiente a la red como generador en zonas aisladas en donde no se disponga de la red eléctrica. Los sistemas de pilas de combustible en aplicaciones estacionarias, hoy en día en operación, alcanzan 40% de eficiencia, su funcionamiento silencioso permite reducir la contaminación acústica, así como las emisiones contaminantes en el

punto de uso. El calor residual puede ser aprovechado para otros usos de la cogeneración como el agua caliente sanitaria (Laborde y Rubiera, 2010).

### **2.6.3.2 Aplicaciones móviles**

El transporte ha sido el sector en que mayor aplicación tienen las pilas de combustible. La mayoría de compañías tienen modelos que funcionan mediante esta tecnología, y están en continuo avance por adelantarse a la competencia.

Actualmente las nuevas tendencias en automoción tienen como objetivos la reducción de emisiones contaminantes y el aumento de la eficiencia del sistema de propulsión, brindando también mayor seguridad. Las alternativas que se plantean para alcanzar estos objetivos son, mejorar los motores térmicos, uso de combustibles de origen renovable en motores térmicos (bioetanol, biodiésel, etc.), uso de nuevos combustibles ( $H_2$ , metanol o etanol), vehículos híbridos (motor térmico más motor eléctrico) y el empleo de pilas de combustible como sistema de propulsión o como generador auxiliar. La seguridad del vehículo es un aspecto muy importante, por lo que deben considerarse posibles fugas, accidentes por impacto, así como instalaciones de producción y distribución del  $H_2$ .

En los últimos diez años Daimler-Chrysler, Ford, General Motors/Opel, Honda, Hyundai, Mazda, Mitsubishi, Nissan, Peugeot-Citroën, Renault, Honda, Toyota y Volkswagen han desarrollado al menos un prototipo de automóvil que funcione con pilas de combustible.

Tales autos pueden ser alimentados por diferentes combustibles (hidrógeno, metanol o gasolina con bajo contenido en azufre) y operar mediante diversos sistemas de almacenamiento (hidrógeno gaseoso, líquido e incluso combinado en hidruros metálicos). Todos ellos se mueven parcial o totalmente gracias a la electricidad que genera una pila de combustible tipo PEM (pila de electrolito polimérico), que es la más utilizada en automoción. Además de su tamaño y una buena relación potencia/volumen, la baja temperatura a la que funciona permite que el coche arranque rápidamente y que responda de forma inmediata a las

variaciones de demanda energética del motor habituales durante la conducción (Laborde y Rubiera, 2010).

### **2.6.3.3 Aplicaciones portátiles**

Los dispositivos electrónicos portátiles son uno de los principales campos de aplicación de las pilas de combustible. Como sus requerimientos de potencia y energía son mínimos, las micropilas PEM (pila de electrolito polimérico) y las alimentadas por metanol directamente se perfilan como la mejor alternativa. Parte del éxito de las pilas es debido a su larga duración respecto a las baterías convencionales. Por lo que en bajas potencias (pocos miliwatios) las pilas de combustible son substitutos viables de las baterías recargables.

Por ello, las grandes empresas como Motorola, NEC; Microsoft y Toshiba están apostando fuertemente por esta tecnología. Sin embargo, aún hay retos por superar, como alcanzar una mayor eficiencia, mayor densidad de potencia, control del calor y agua generada, integración térmica, desarrollo de microreformadores y la integración de sistema y miniaturización (Laborde y Rubiera, 2010).

## CAPÍTULO 3

### METODOLOGÍA

#### 3.1 Fermentador oscuro

A fin de obtener la producción de  $H_2$ , se operó un reactor anaerobio (a nivel planta prototipo) para el tratamiento de desechos orgánicos de frutas y verduras de Ciudad Universitaria, UNAM. En la Figura 3.1 se muestra el diseño del reactor, el cual de acuerdo a las investigaciones citadas en el capítulo anterior, cuenta con un sistema de alimentación, calentamiento, ajuste de pH y agitación con el objetivo de optimizar la producción de  $H_2$  durante la fermentación oscura.

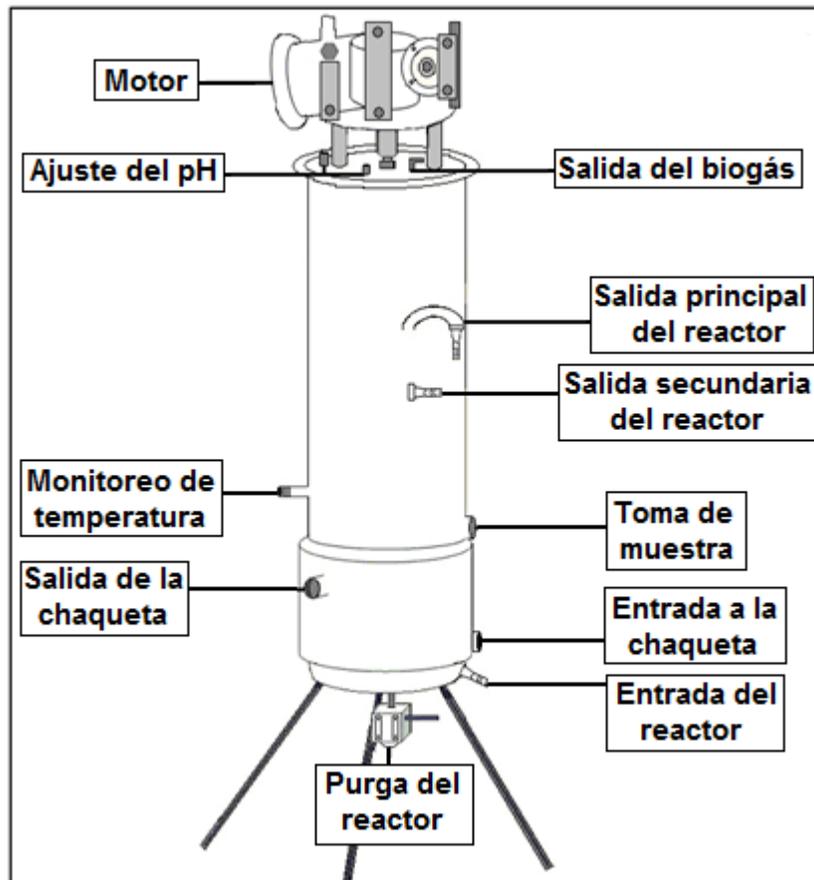


Figura 3.1 Diseño del reactor anaerobio

El reactor utilizado fue un reactor continuo agitado (RCA), el cual está hecho de acero inoxidable, con un volumen de 60L, 30 cm de diámetro y 109 cm de altura; cuenta con una chaqueta del mismo material (35cm de diámetro y 29 cm de altura)

por la que se hizo circular agua caliente para mantener la temperatura deseada dentro del reactor (Figura 3.2). En la Tabla 3.1 se muestran las especificaciones del reactor.

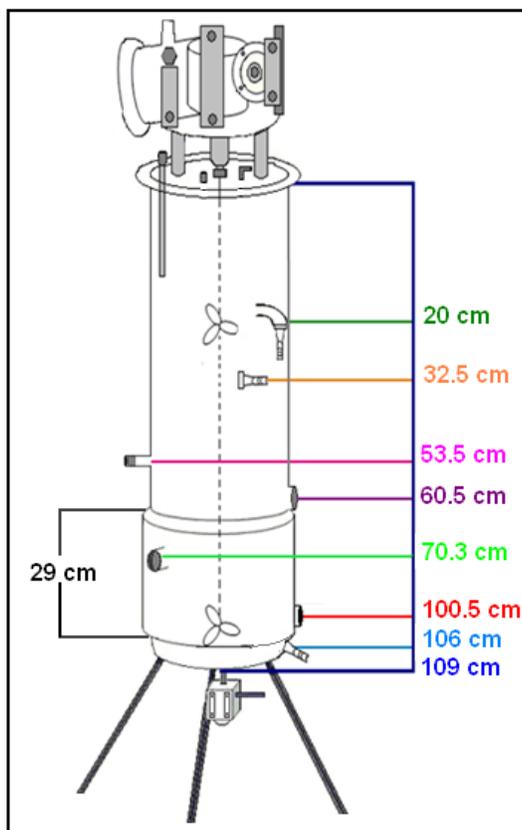


Figura 3.2 Ubicación de las partes del reactor

**Tabla 3.1 Especificaciones del reactor fermentador oscuro**

Parámetro	Dimensión
Volumen de trabajo (L)	40
Diámetro de la pared (cm)	30
Espesor de la pared (mm)	3
Altura del reactor (cm)	109
Diámetro de la chaqueta (cm)	35
Espacio entre la chaqueta y reactor (mm)	25
Altura de la chaqueta (cm)	29

\*Debido a la presión ejercida por la mezcla dentro del reactor, se originó una fuga, por lo que fue necesario reducir el volumen de trabajo de 60 a 40 L.

En la Figura 3.3 se observa que el fermentador cuenta con un motor en la parte superior que hace girar una flecha, favoreciendo así la agitación de la mezcla dentro del reactor. La Tabla 3.2 muestra las especificaciones del motor marca Baldor modelo VM3112.



Figura 3.3 Fotografía del fermentador oscuro en experimentación

**Tabla 3.2 Especificaciones del motor (Baldor, 2012)**

Parámetro	Valor
Amperes	3.2-3/1.5
208 V	3.6 Amperes
Eficiencia	75.5
Hertz	60
Velocidad (rpm)	1725
Potencia de salida	0.75HP
Fases	3
Voltaje	208-230/460

### 3.2 Parámetros de evaluación

Existen diversos parámetros que deben ser monitoreados durante la fermentación. Dado que el interior del reactor cuenta con una fase gaseosa y una líquida, cada fase requiere de ciertos parámetros a analizar. En la Tabla 3.3 se presentan los parámetros a evaluar en la fase gaseosa.

**Tabla 3.3 Análisis en la fase gaseosa del reactor**

Parámetro	Frecuencia de análisis (veces por semana)
Volumen de biogás	10
H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , CO <sub>2</sub>	5

En la Tabla 3.4 se muestran los parámetros a analizar para la fase líquida del reactor.

**Tabla 3.4 Análisis en la fase líquida del reactor**

Parámetro	Abreviación	Frecuencia de análisis (veces por semana)
Potencial de hidrógeno	pH	5-10
Temperatura	T	5
Sólidos Totales	STT	5
Sólidos Totales Fijos	STF	5
Sólidos Totales Volátiles	STV	5

### 3.3 Inóculo y sustrato

#### 3.3.1 Preparación y caracterización del sustrato

El sustrato utilizado fue obtenido de los desechos orgánicos procedentes de comercios y cafeterías en Ciudad Universitaria, UNAM. Dicho sustrato, se compone esencialmente de residuos de frutas y verduras, como son cáscaras de pepino, zanahoria, lechuga, sandía, melón, jitomate, guayaba, mango, entre otros (Figura 3.4).



Figura 3.4 Fotografía de los principales componentes de los residuos de frutas y verduras a alimentar al fermentador

Debido a la composición compleja de los residuos, estos fueron seleccionados y triturados mecánicamente a fin de aumentar la superficie de contacto entre las bacterias y el sustrato, así como para evitar obstrucciones en las entradas y salidas del reactor.

Con el objetivo de facilitar el licuado de los residuos se agregó agua, quedando la mezcla en una proporción de 1:3, es decir, 1 parte de residuos por 3 partes de agua. La composición del sustrato fue muy variable, sin embargo, como se mencionará en el siguiente capítulo, ciertos componentes favorecen la producción de H<sub>2</sub>. Para la caracterización de la materia orgánica (inóculo y sustrato) se determinaron los Sólidos Totales, Sólidos Totales Volátiles y Sólidos Totales Fijos, de acuerdo a las metodologías aprobadas por APHA (1992). En la Tabla 3.5 se observa la caracterización del sustrato utilizado (residuos de frutas y verduras) en el experimento.

**Tabla 3.5 Caracterización físico-química del sustrato diluido**

Parámetro	Unidades		Valor promedio	
pH	pH		5.20	
Densidad	g/mL		0.96	
Sólidos Totales	%	g/L	3.36	33.6
Sólidos Totales Volátiles	%	g/L	3.04	30.4
Sólidos Totales Fijos	%	g/L	0.32	3.2

### 3.3.2 Preparación y caracterización del inóculo

A fin de proveer la población bacteriana (con actividad acidogénica) y llevar a cabo la fermentación oscura, el reactor fue inoculado en un 30% respecto al volumen de trabajo (40L). El inóculo utilizado fue excremento porcino de cerdos en engorda, procedente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Debido a las condiciones de operación (temperatura y agitación), no fue necesario dar un tratamiento previo al inóculo para inhibir la actividad metonogénica. El excremento se diluyó en agua y posteriormente se filtró para eliminar partículas que pueda dificultar la alimentación del reactor. En la Tabla 3.6 se muestra la caracterización del inóculo utilizado en el experimento.

**Tabla 3.6 Caracterización físico-química del inóculo sin diluir**

Parámetro	Unidades		Valor promedio	
pH	pH		7	
Densidad	g/mL		1.01	
Sólidos Totales	%	g/L	24.81	248.1
Sólidos Totales Volátiles	%	g/L	21.47	214.7
Sólidos Totales Fijos	%	g/L	3.34	33.4

### 3.4 Condiciones de operación

Las condiciones de operación fueron determinadas de acuerdo a la sección 3.3, a fin de incrementar la producción de H<sub>2</sub>. En la Tabla 3.7 se muestran los parámetros de operación establecidos al inicio del experimento.

**Tabla 3.7 Parámetros de operación durante la fermentación oscura**

Parámetro	Valor	Referencia
Temperatura	70 °C	Liu y col., 2008a
pH	7	Liu y col., 2008a
TRH	2 días	Lee y col., 2010
Agitación	100 rpm	Chou y col., 2008
Operación	Continua	Kotsopoulos y col., 2009

### 3.5 Instalación

Se realizó la instalación eléctrica, hidráulica y de gas para el reactor y los demás equipos requeridos para el experimento. En la Figura 3.5 se puede observar el montaje final del equipo. Para evitar posibles fugas de calor, el reactor se envolvió

con fibra de vidrio cubierta de aluminio como material aislante con un grosor de 8mm.



Figura 3.5 Fotografía del arreglo final para el experimento

El reactor cuenta varias salidas y entradas:

- Entrada de alimentación, para la introducción del sustrato e inóculo.
- Salida principal y secundaria para la mezcla dentro del reactor.
- Punto de muestreo, para la fase líquida.
- Punto para el monitoreo de la temperatura en el interior del reactor.
- Entrada y salida de la chaqueta, por donde circulará el agua caliente.
- Entrada para el ajuste del pH.
- Salida de biogás.

### 3.5.1 Control de la Temperatura

Para el mantenimiento de la temperatura se utilizó un baño recirculador marca “SEV” C-10 (Figura 3.6), el cual cuenta con una bomba que introduce agua caliente en la chaqueta del reactor. En la Tabla 3.8 se presentan las especificaciones del equipo.

**Tabla 3.8 Especificaciones del baño recirculador (SEV, 2012)**

Parámetro	Valor
Rango de temperatura	De temperatura ambiente a $100^{\circ}\text{C} \pm 0.1$
Tensión	12.7 V ~ 60 Hz
Corriente	10 A
Potencia	1270 W
Micromotor ventilador	1/40 HP
Presión de bomba	3.2 PSI



Figura 3.6 Baño recirculador

### 3.5.2 Alimentación de sustrato e inóculo

El inóculo y sustrato, fueron introducidos por medio de una bomba peristáltica Cole-Parmer modelo 7553-70 (Figura 5.3). De igual forma, se utilizó una bomba de este tipo para controlar el pH dentro del reactor introduciendo una solución de KOH 1 M. En la Tabla 3.9 se muestran las especificaciones de la bomba utilizada.

**Tabla 3.9 Especificaciones de la bomba peristáltica (Cole-Parmer, Masterflex, 2013)**

Parámetro	Valor	
Velocidad de flujo	Máxima	3400 mL/min
	Mínima	0.36 mL/min
Rango de velocidad	6-600 rpm	
Características del motor	reversible	
	1.5 Amp	
	1 /10 hp	
	75 Watts	



Figura 3.7 Bomba de alimentación

### 3.5.3 Control de pH

Para monitorear el pH de las muestras en la fase líquida, se utilizó un potenciómetro marca CONDUCTRONIC pH120 (Figura 3.8). La Tabla 3.10 muestra las especificaciones del potenciómetro.

**Tabla 3.10 Especificaciones del potenciómetro (Conductronic, 2012)**

Parámetros	pH	mV	°C
Rangos	-2.00 a 16.00	± 1999	-50 a150
Resolución	0.01	1	0.1
Precisión	± 0.01	± 1 mV	± 0.5 °C
Asimetría	± 3.5	± 210	
Salida para Registrador	0 a 140 mV	±199.99 mV	
Salida Karl Fisher	-10 uA		
Tipo de conexión	BNC		Mono-aural
Compensación de Temperatura	Automática de -50 a 150 °C		
Energía	127 V CA, 50-60 Hz		
Display	LED Display rojo de 12.7 mm con 3.5 dígitos		
Dimensiones	200 x 120 x 200 mm, peso 1.1 kg		
Accesorios incluidos	Electrodo de pH PG101C-BNC		
Sensor de °C	ST11-Mono Brazo Portaelectrodos (integrado)		



Figura 3.8 Potenciómetro

### 3.5.3 Manejo del biogás

#### 3.5.3.1 Medición del volumen de biogás

El volumen de biogás generado fue medido con un flujómetro de precisión de gases marca "Ritter" de la serie TG 05 (Figura 3.9). En la Tabla 3.11 se presentan las especificaciones del medidor de flujo.

**Tabla 3.11 Especificaciones de flujómetro (Ritter, 2011)**

Parámetro		Valor
Flujo	Mínimo	1 L/h
	Estándar	50 L/h
	Máximo	60 L/h
Exactitud de la medición		± 0.2 %
Cantidad aproximada de líquido		2.5 L
Medición del volumen del tambor		0.5LRev.
Presión máxima de entrada del gas		50 mbar
Presión diferencial mínima		0.4 mbar
Línea mínima de división		0.002 L
Conexión de entrada y salida		16 mm de diámetro



Figura 3.9 Medidor de flujo de biogás

### 3.5.2 Análisis de biogás

Las muestras de gas se almacenaron en matraces kitazatos bien sellados, a fin de evitar la fuga del H<sub>2</sub> por su baja densidad; el análisis se llevó a cabo el mismo día de la toma de muestra con un espectrómetro de masas para muestras gaseosas BELMass de “BEL Japan Inc.” (Figura 3.10). El espectrómetro, cuenta con una pequeña sonda que una vez introducida en el matraz, comienza a absorber el gas para su análisis (Figura 3.11).



Figura 3.10 Espectrómetro de masas BELmass



Figura 3.11 Fotografía del arreglo de almacenamiento de biogás para su análisis

En la Tabla 3.12 se pueden observar las especificaciones del espectrómetro de masas.

**Tabla 3.12 Especificaciones del espectrómetro BELMass (BEL Japan Inc., 2012)**

Especificaciones	
Rango de masa	1-200 uma
Detector	Faraday cup / C-SEM
Límite mínimo de detección	<1ppm (dependiendo del gas)
Resolución	$M/\Delta M \geq 2M$
Velocidad de análisis	0.01*, 0.03*, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 segundos/uma (*opcional)
Sonda de rastreo	Tubo capilar de 1/16 de pulgada
Temperatura máxima de calentamiento de la manguera	150 °C
Tasa de consumo del gas	1 cc/min (a 1 atm)
Presión de la muestra de gas	Presión atmosférica (50-150 kPa)
Conexión de ventilación	6mm
Canales de medición	Máximo 16 canales
Modo de medición	Monitoreo de picos de masas Selección del ion monitor Detección de fuga Medición de la presión parcial
Interface	RS232C
Requerimientos de computadora	CPU: Intel Premium III o más alto, Sistema operador: Windows XP Memoria 512 MB o mas

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS

#### 4.1 Arranque

La etapa de arranque es necesaria para la adaptación y crecimiento de las bacterias presentes en el inóculo.

De acuerdo a las condiciones de operación establecidas en el capítulo anterior, en la Tabla 4.1 se presentan los resultados obtenidos durante la etapa de arranque. El volumen inicial del reactor fue de 60 L, sin embargo debido a una fuga, el volumen se redujo a 40 L.

**Tabla 4.1 Resumen de condiciones en la etapa de arranque**

Tiempo (días)	pH del reactor		T del reactor (°C)	Agitación (rpm)	TRH (días)	Volumen de biogás (L/día)	Observaciones
0	4.6	7.01	53.5	46	16	0	La proporción inicial de la mezcla fue 70% inóculo, 30% sustrato. Se adicionaron 0.075L KOH (1M)/en cada L de mezcla.
1	5.2	6.9	53.5	46	16	1	Se adicionaron 0.05L KOH (1M)/en cada L de mezcla. Comienza la producción de biogás.
2	6.82	6.82	70	46	16	2	Se produjo la mayor producción de biogás
5	5.88	7.66	70	46	16	1	Se adicionaron 0.023L de KOH (1M)/en cada L de mezcla y 0.015L

Tiempo (días)	pH del reactor		T del reactor (°C)	Agitación (rpm)	TRH (días)	Volumen de biogás (L/día)	Observaciones
							de Ac. Acético (1 M)/en cada L de mezcla.
6	6.64	7.74	70	46	16	0.4	Se adicionaron 0.005L de KOH (1M)/en cada L de mezcla y 0.004 L de Ac. Acético (1M)/en cada L de mezcla.
7	7.17	7.47	70	46	16	0.5	Se adicionaron 0.005L de Ac. Acético (1M)/ en cada L de mezcla.
8	7.01	7.01	70	46	16	0.5	El sistema adquirió una capacidad buffer.
9	6.97	6.97	70	46	16	0	Cesó la producción de biogás.
12	6.7	7.01	68-70	46	16	0	Se adicionaron 0.002L de KOH (1M)/ en cada L de mezcla.
13	6.84	7.03	70	46	16	0	Se adicionaron 0.001L de KOH (1M)/ en cada L de mezcla.
14	7.03	7.03	70	46	16	0	No fue necesario ajustar el pH.
15	6.97	6.97	70	46	16	0	No fue necesario ajustar el pH.
16	7.1	7.1	70	46	16	0	No fue necesario ajustar el pH. Fin del arranque.
19-21	-	-	70	46	-	-	Sólo se mantuvo la temperatura y la agitación.

## 4.2 Operación

En la Tabla 4.2 se presentan los resultados obtenidos durante la operación de la planta, la cual está dividida en 2 experimentos.

**Tabla 4.2 Resumen de condiciones en la operación del experimento**

Tiempo (días)	pH del reactor	T del reactor (°C)	Agitación (rpm)	TRH (días)	Volumen de biogás (L/día)	Observaciones
22	7.7	70	46	15.3	0	Se alimentó con 6 L de sustrato.
23	7.09	70	46	15.3	5	No se ajustó pH.
26	6.56	69	46	23	1.1	Se alimentó con 4 L de sustrato.
27	6.62	70	46	23	1.7	Se agregaron 0.003 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
28	7.05	70	46	15.3	6.3	Se alimentó con 6L de sustrato.
29	6.5	70	46	15.3	0.5	Se agregaron 0.001 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
30	5.87	72	46	15.3	0	Se alimentó con 6L de sustrato y 0.002 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
1 33	6	70.5	46	17.3	0	Se alimentó con 6L de sustrato y 0.002 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
34	5.27	70	46	17.3	2.8	Se agregaron 0.004 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
35	6.06	71	46	26	0	Se alimentó con 4L de sustrato.
36	6.5	71	46	26	0	Se agregaron 0.004 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
42	5.44	65	46	24	0	Se alimentó con 4L de sustrato y 0.005 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
43	6.64	65	46	24	0	Se adicionaron 0.002 L de KOH.

Tiempo (días)	pH del reactor	T del reactor (°C)	Agitación (rpm)	TRH (días)	Volumen de biogás (L/día)	Observaciones	
						(1M)/en cada L de mezcla.	
44	6.8	69	46	12	0.1	Se alimentó con 4L de sustrato y 0.004 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.	
La operación de la planta se detuvo por 2 meses hasta obtener el equipo necesario para el análisis del biogás y detección del hidrógeno. Durante este tiempo la mezcla (inoculo-sustrato) se conservó en refrigeración.							
2	50	2	70	46	8.4	0	Nuevo arranque. Se alimentó con 12.5 L de sustrato.
	53	4.8	62	46	4	0	Se alimentó con 17.5 L de sustrato y 0.022 L de KOH (1M)/L de mezcla.
	54	4.95	72	46	4	0	Estabilizar pH, se agregaron 0.017 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
	55	5.52	68	46	2.5	8.9	Se alimentó con 14 L de sustrato y 0.011 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
	56	6.02	70	46	2.41	4.1	Se alimentó con 14.5 L de sustrato. Se mantuvo un pH ligeramente ácido.
	57	6.05	70	46	2.5	7.3	Se alimentó con 14 L de sustrato.
	60	4.56	68	46	2.5	5.9	Se alimentó con 14 L de sustrato y 0.003 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
	61	4.67	68	46	2.5	8.5	Se alimentó con 14 L de sustrato y 0.003 L de KOH (1M)/en cada L de mezcla.
	62	4.7	55	46	2.5	6	Fin de la etapa.

### 4.3 Influencia del pH

A fin de obtener el mayor rendimiento de hidrógeno en el biogás es necesario operar dentro del rango óptimo de pH. Algunos estudios reportan que el pH óptimo va de 5.2-6.0 (Oh y col., 2004; Zhang y col., 2008a) mientras que otros amplían el rango de pH de 5.5-7.5 (Venkata, 2009).

De acuerdo a un estudio de Liu y col., (2008a) en el que se evaluó la producción de hidrógeno a condiciones extremo-termofílicas y diferentes valores de pH (de 4 a 8.5), se observó que la mayor producción de hidrógeno fue alcanzada en un pH de 7. Yokoyama y col., (2007b) también reportaron un pH óptimo de 7 operando a condiciones extremo-termofílicas, ya que estos dos factores (pH y temperatura) inhiben el crecimiento de las bacterias metanogénicas, posibles consumidores del hidrógeno producido.

Respecto a lo anterior, el pH establecido en la etapa de arranque fue 7. Como se observa en la Figura 4.1 del día 7 al 16 (arranque), el pH se mantuvo estable debido a la capacidad buffer desarrollada por el sistema.

Durante la operación en el experimento 1 (del día 22 al 44) también se deseaba mantener un pH de 7, sin embargo, fue difícil estabilizar el pH debido a la alimentación constante y los diferentes TRH en esta etapa.

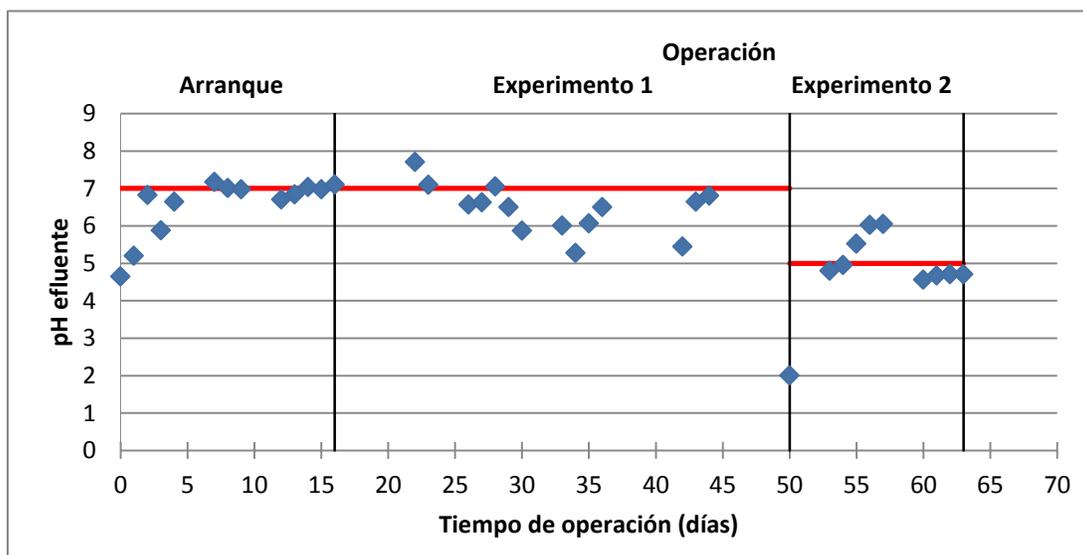


Figura 4.1 pH respecto al tiempo

Para el experimento 2, el pH del día 50 fue 2, ya que el inóculo a pesar de conservarse en refrigeración, sufrió acidificación. Debido al TRH corto (2.5 días) y la alimentación diaria fue difícil mantener un pH neutro, por lo que el pH deseado en esta etapa cambió a 5.

En este valor de pH (5) se detectó por primera vez la presencia de hidrógeno, dicho valor se mantuvo muy cercano los días 53, 54 y del día 60-63.

Originalmente la composición del biogás se determinaría por cromatografía de gases durante todo el experimento, sin embargo debido a cambios en la metodología, la composición del biogás fue determinada por espectrometría de masas únicamente en el experimento 2 de la etapa de operación (del día 54-63).

La Figura 4.2 presenta la composición del biogás en función del pH. A pH 5.52 se obtuvo 17.55% de H<sub>2</sub> en el biogás (la mayor concentración del gas deseado en el experimento) 36.48% de CH<sub>4</sub> y 45.95% de CO<sub>2</sub>.

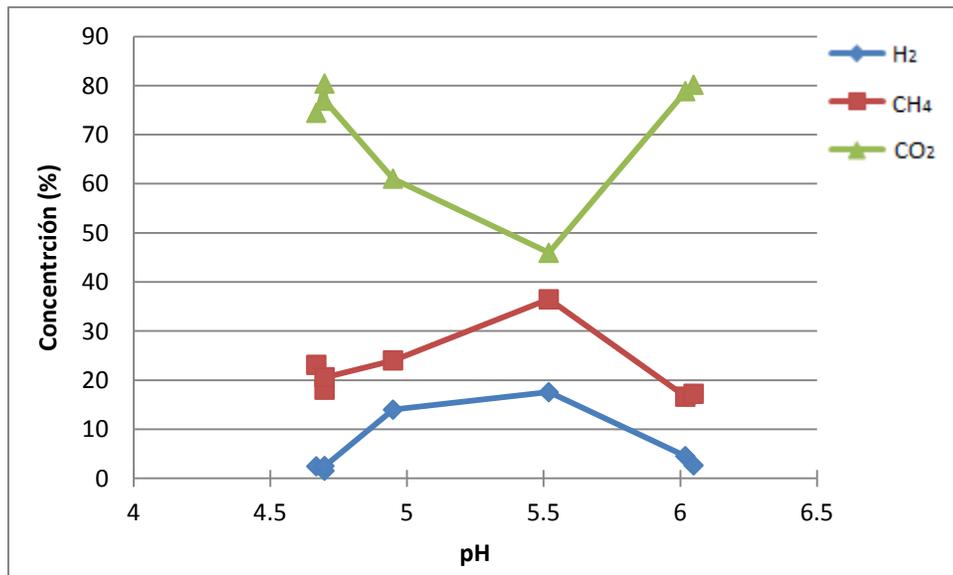


Figura 4.2 Composición del biogás en función del pH, TRH=2.5 días

A pH 4.95 la concentración de CH<sub>4</sub> disminuyó a 24% y la de CO<sub>2</sub> aumentó a 61%, sin embargo, la concentración de H<sub>2</sub> se redujo a 14%. A pH 6.02, se obtuvo la menor concentración de CH<sub>4</sub> con un 16.62% y una de las concentraciones más

altas de  $\text{CO}_2$  con 78.87% (la mayor fue de 80.4%), mientras que la concentración de  $\text{H}_2$  disminuyó hasta un 4.49%.

La Figura 4.3 muestra el porcentaje de hidrógeno presente en el biogás en función del pH. Se puede observar que el mayor porcentaje de hidrógeno (17.55%) se obtuvo a un pH de 5.52, mientras que el menor porcentaje (1.55%) fue obtenido a un pH de 4.7.

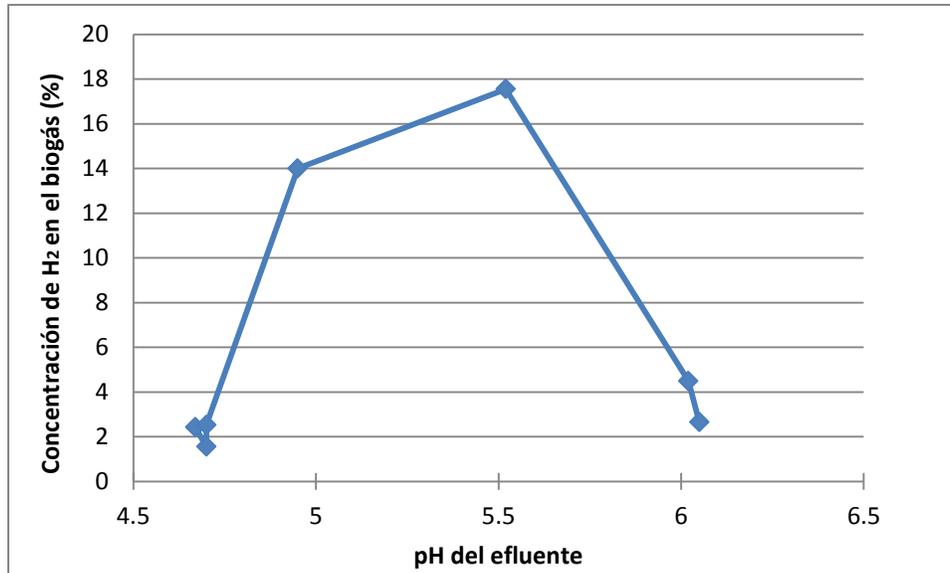


Figura 4.3 Concentración de hidrógeno en el biogás en función del pH, TRH=2.5 días

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que cuando el pH es menor a 4.95 y mayor a 6, la concentración de hidrógeno en el biogás disminuye, se concluye que el pH óptimo en este experimento es de 5.52.

#### 4.4 Influencia del TRH

El TRH es un parámetro importante en la producción de  $\text{H}_2$  por fermentación oscura ya que funciona como un instrumento selectivo entre las especies de una población bacteriana. En este caso, se desea favorecer el crecimiento de las bacterias productoras de hidrógeno e inhibir el de las bacterias metanogénicas. Según las investigaciones de Lee y col., (2010) el TRH óptimo para lavar las bacterias de crecimiento lento (metanogénicas) es de 2-3 días. Este TRH es el que se mantendrá durante la operación del proceso.

Durante el experimento se manejaron diferentes TRH. La Figura 4.4 muestra los TRH manejados en el arranque y operación de la planta. En la etapa de arranque, del día 0 al día 16, el fermentador fue alimentado sólo una vez con un TRH de 16 días, el objetivo de utilizar este TRH fue lograr la adaptación y crecimiento de toda la población bacteriana presente en el inóculo.

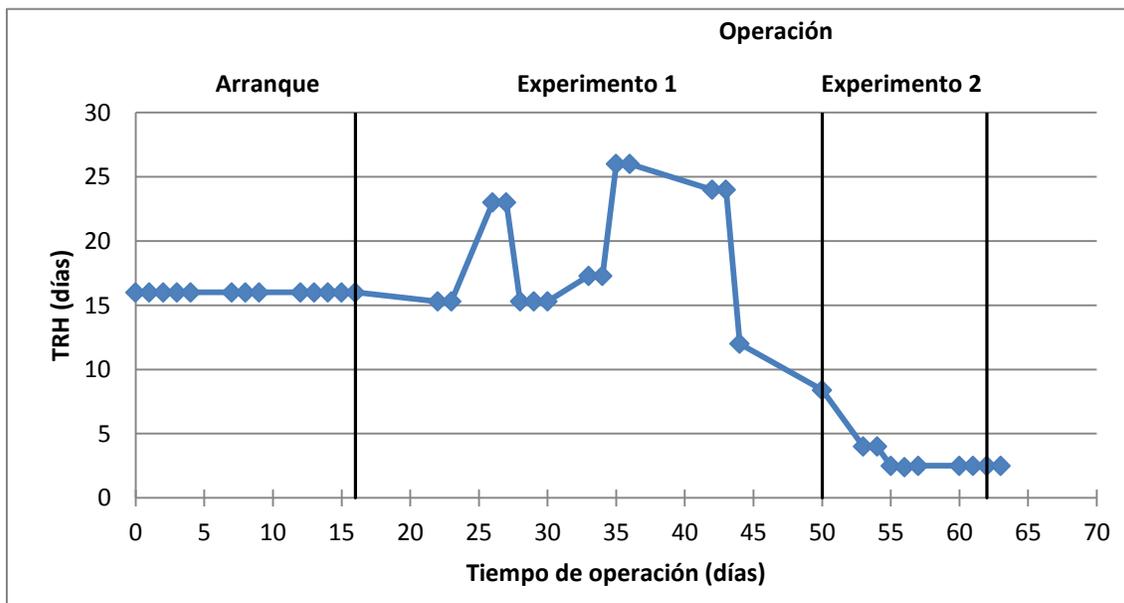


Figura 4.4 TRH respecto al tiempo

Para la etapa de operación en el experimento 1, el volumen de alimentación no fue constante, por lo tanto el TRH fue variable. Los días 22 y 23 tuvieron un TRH de 15.3 días, los días 26 y 27 un TRH de 23 días, del día 28-30 un TRH de 15.3 días, los días 33 y 34 un TRH de 17.3 días, los días 35 y 36 un TRH de 26 días, los días 42 y 43 un TRH de 24 días y el día 44 TRH 12 días.

Para el experimento 2, en el día 50 se inició con un TRH de 8.4 días, los días 53 y 54 tuvieron un TRH de 4 días y del día 55 al 63 se mantuvo un TRH de 2.5 días.

De acuerdo a las Figuras 4.1 y 4.4 se observa que el TRH y el pH tienen una estrecha relación, a TRH largos (16 días) es más fácil mantener el pH en valores neutros (7), mientras que a TRH cortos (2.5 días) el pH se mantiene ligeramente ácido (4.5-6.0).

La Figura 4.5 presenta el efecto del TRH en la composición del biogás, para un TRH de 4 días se obtuvo una concentración de H<sub>2</sub> en el biogás del 14%, 24% de CH<sub>4</sub> y 61% de CO<sub>2</sub>.

Para el TRH de 2.5 días, la concentración del H<sub>2</sub> varió desde 1.55% a un 17.55%, el CH<sub>4</sub> tuvo valores desde 17.21% hasta 36.48% y el CO<sub>2</sub> desde 45.95% hasta un 80.4%. Debido a la variabilidad de resultados para un mismo TRH (2.5 días) no es posible establecer una relación directa entre el TRH y la composición del biogás.

Sin embargo, el TRH óptimo en este experimento fue de 2.5 días con la mayor concentración de H<sub>2</sub> en el biogás del 17.55%, un 36.48% de CH<sub>4</sub> y un 45.95% de CO<sub>2</sub>.

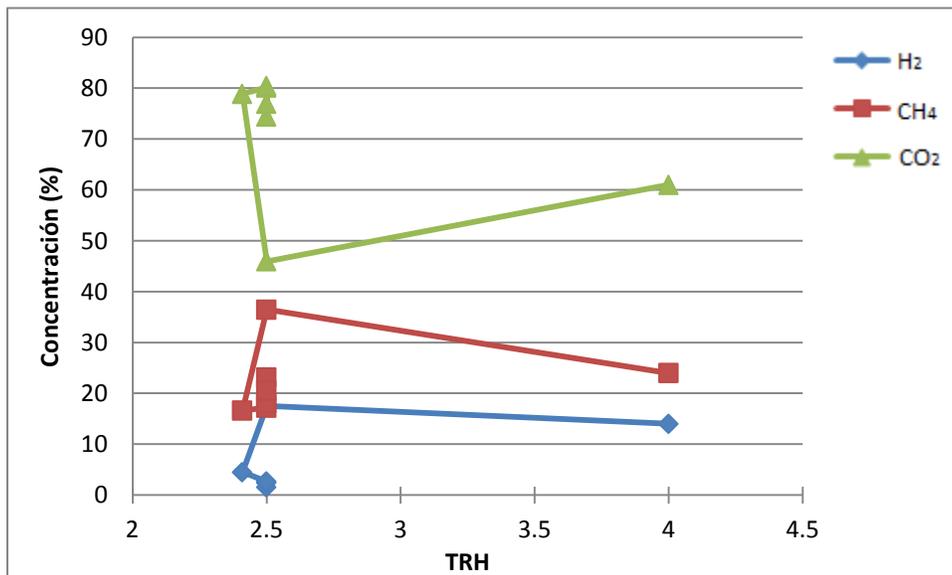


Figura 4.5 Composición del biogás respecto al TRH, pH 5-6

La Figura 4.6 presenta la concentración de hidrógeno en el biogás en función del TRH, de acuerdo a lo obtenido se determina que el TRH óptimo en este experimento es de 2.5 días con una concentración de hidrógeno del 17.55%.

Como ya se mencionó las concentraciones de H<sub>2</sub> para un mismo TRH fueron variables, por lo tanto, es necesario analizar que otros factores intervienen en la producción de H<sub>2</sub>, tales como la presencia de compuestos inhibidores, desviación a la formación de otros productos, entre otros.

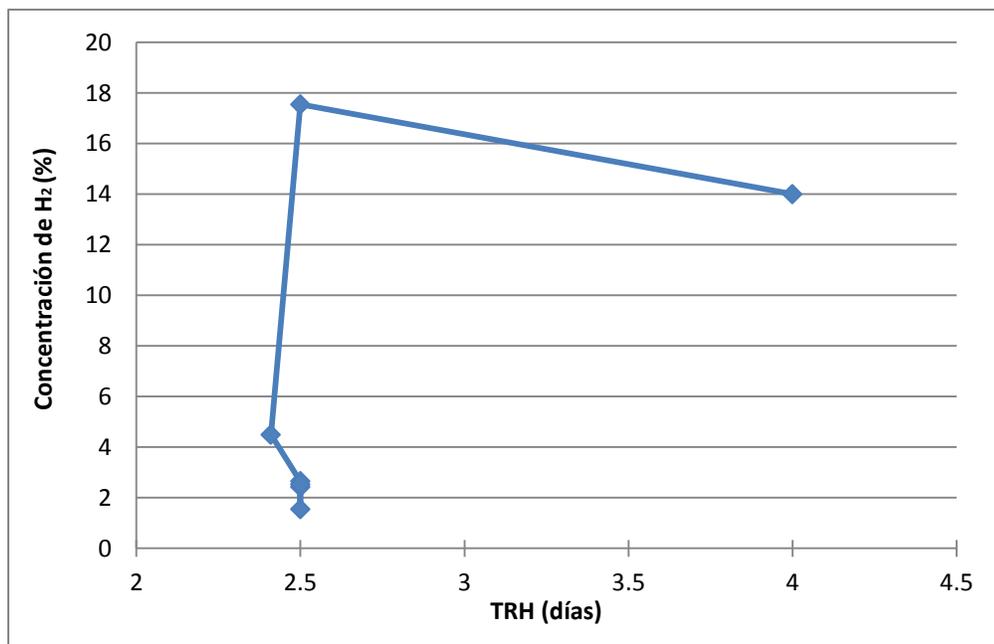


Figura 4.6 Concentración de hidrógeno en el biogás en función del TRH, pH 5-6

#### 4.5 Influencia del sustrato

Cabe mencionar que la composición del sustrato a lo largo del experimento fue variable debido a la abundancia de los desechos orgánicos. La Figura 4.7 muestra la composición promedio del día 0 al día 55, es importante observar que el componente principal del sustrato fue la zanahoria con un 58% del total del sustrato.

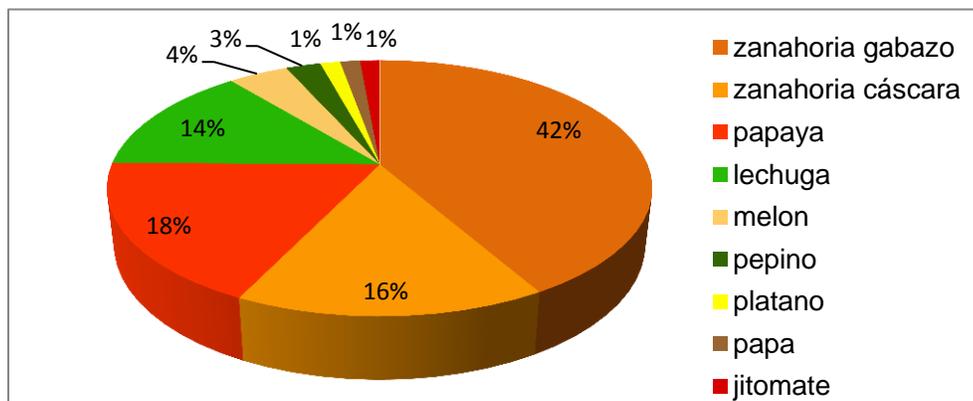


Figura 4.7 Composición del sustrato 1

La Tabla 4.3 presenta la caracterización fisicoquímica del sustrato 1, el cual fue utilizado durante el arranque y parte de la operación de la planta.

**Tabla 4.3 Caracterización físico-química del sustrato 1**

Parámetro	Unidades		Valor promedio	
pH	pH		4.90	
Densidad	g/mL		0.95	
Sólidos Totales	% (p/p)	g/L	2.93	29.39
Sólidos Totales Volátiles	% (p/p)	g/L	2.63	26.38
Sólidos Totales Fijos	% (p/p)	g/L	0.30	3.01

Del día 56 al día 63, la composición del sustrato cambió por la disponibilidad de los desechos orgánicos. La Figura 4.8 muestra la composición del nuevo sustrato donde la cantidad de zanahoria disminuyó a un 5%.

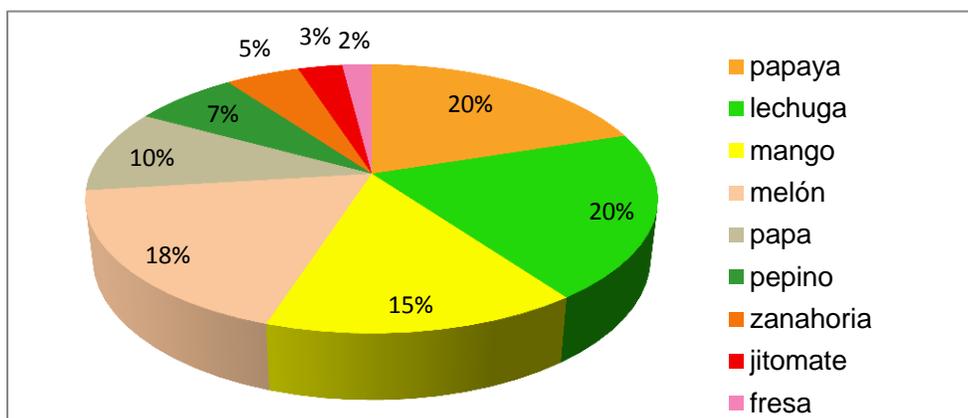


Figura 4. 8 Composición del sustrato 2

En la Tabla 4.4 se presenta la caracterización del sustrato 2 utilizado en la parte final de la operación.

**Tabla 4.4 Caracterización físico-química del sustrato 2**

Parámetro	Unidades		Valor promedio	
pH	pH		5.36	
Densidad	g/mL		0.99	
Sólidos Totales	% (p/p)	g/L	5.15	51.5
Sólidos Totales Volátiles	% (p/p)	g/L	4.71	47.1
Sólidos Totales Fijos	% (p/p)	g/L	0.43	4.3

La zanahoria está compuesta por varios carbohidratos, la Tabla 4.5 muestra los azúcares libres presentes en la zanahoria.

**Tabla 4.5 Azúcares libres en la zanahoria (Fennema, 1993)**

Carbohidratos	Cantidad (% sobre peso fresco)
D-Fructosa	0.85
D-Glucosa	0.85
Sacarosa	4.24

Como se puede observar la sacarosa se encuentra en mayor proporción, lo cual es muy importante, ya que junto con la glucosa son considerados sustratos modelo en la producción de hidrógeno por fermentación oscura.

De acuerdo a la Figura 4.9 los días 54 y 55 fueron los que presentaron la mayor concentración de H<sub>2</sub> con un 14% y 17.55% respectivamente, ambos días se trabajó con el sustrato 1 (58% de zanahoria). Del día 56-63 la concentración del H<sub>2</sub> en el biogás comenzó a disminuir hasta un 1.55%, durante éstos días se utilizó el sustrato 2 (con un 5% de zanahoria). Estos resultados presumen que la composición del sustrato es un factor que repercute en la producción de hidrógeno durante el proceso de fermentación oscura.

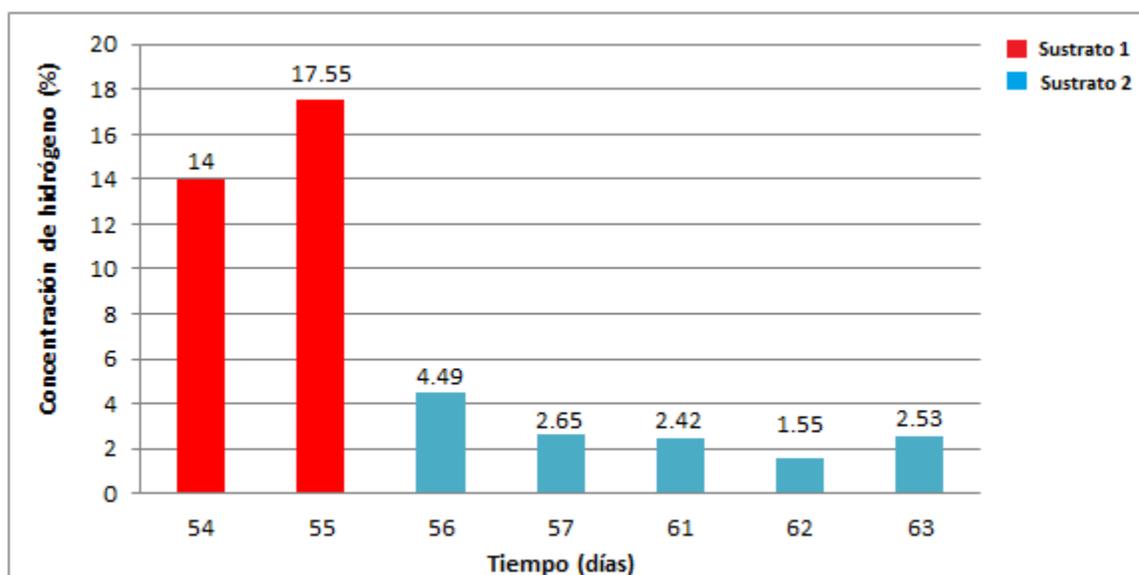


Figura 4.9 Concentración de hidrógeno de acuerdo al tipo de sustrato utilizado

Por lo tanto, existe una relación entre el tipo de sustrato y la producción de H<sub>2</sub>. Tal comportamiento puede deberse al tipo de población bacteriana predominante en el inóculo y a la facilidad que tenga para degradar dicho sustrato. En éste caso el sustrato 1 fue el preferido para las bacterias, con un 58% de zanahoria en su composición y por ende el más rico en sacarosa.

Como se ya mencionó, la composición del sustrato fue variable, por lo que la cantidad de sólidos presentes (STT, STV y STF) en el influente (sustrato) también lo fue. En la Figura 4.10 se observa la concentración de sólidos presentes en función del pH del influente.

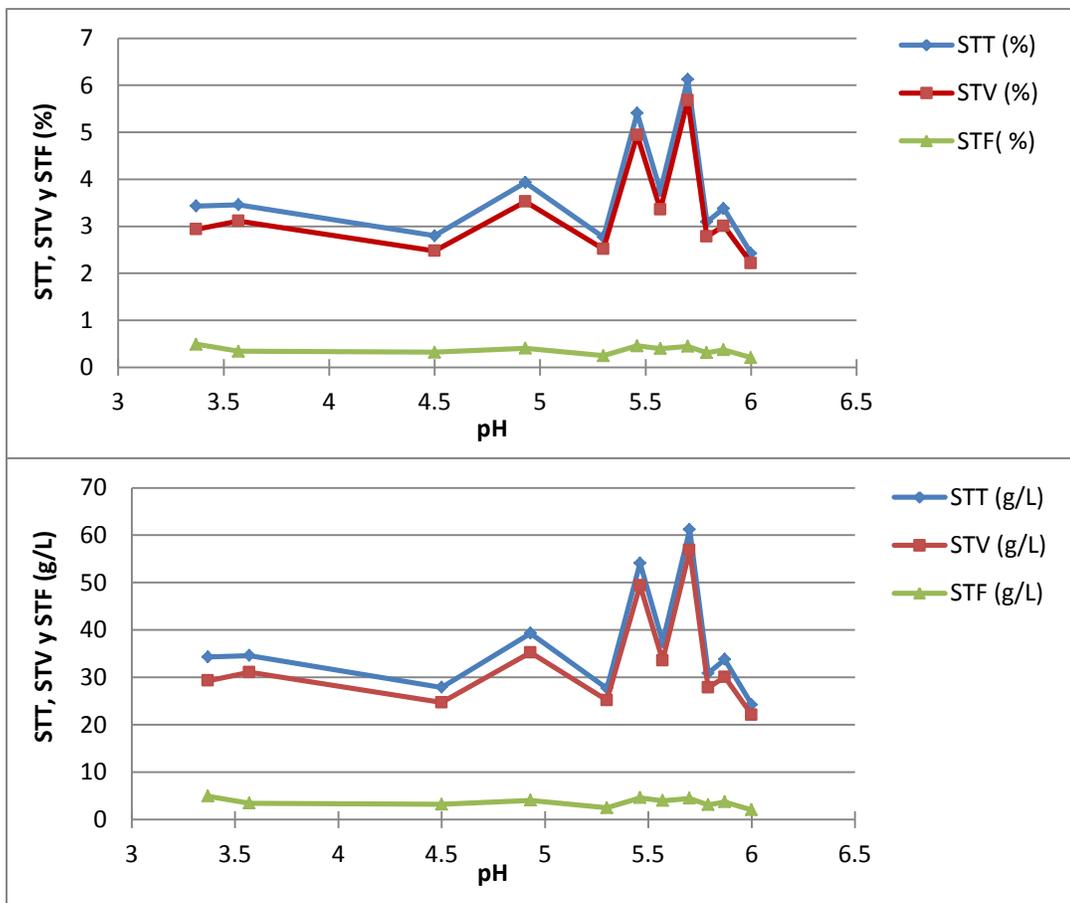


Figura 4.10 Concentración de sólidos respecto al pH

De acuerdo a los resultados obtenidos no es posible establecer una relación directa entre el pH y la cantidad de sólidos presentes en el influente (sustrato).

La Figura 4.11 muestra la composición del biogás en función de los STT presentes en el influente (sustrato).

Cuando el influente presentó 3.43% (34.3 g/L) de STT, se produjo la mayor concentración de H<sub>2</sub> en el biogás con un 17.55%, el CH<sub>4</sub> tuvo una concentración de 36.48% y el CO<sub>2</sub> de 45.95%. Estos resultados nos muestran, que si bien se obtuvo la mayor concentración de H<sub>2</sub>, parte del hidrógeno formado está siendo consumido por bacterias metanogénicas.

Cuando la concentración de sólidos totales fue de 3.51% (35.1 g/L), la concentración de H<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> disminuyeron a un 14% y 24% respectivamente, mientras que el CO<sub>2</sub> aumentó a un 61%.

Cuando la concentración de STT aumentó a 5.41% (54.1 g/L) se obtuvo la menor concentración de H<sub>2</sub> con un 1.55%, 18.04% de CH<sub>4</sub> y 80.4% de CO<sub>2</sub>.

La presencia de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> es un indicio de que sí hay producción de H<sub>2</sub>, sin embargo, la concentración baja de H<sub>2</sub> en el biogás (1.55%) muestra que el H<sub>2</sub> está siendo consumido o desviado a la formación de otros compuestos.

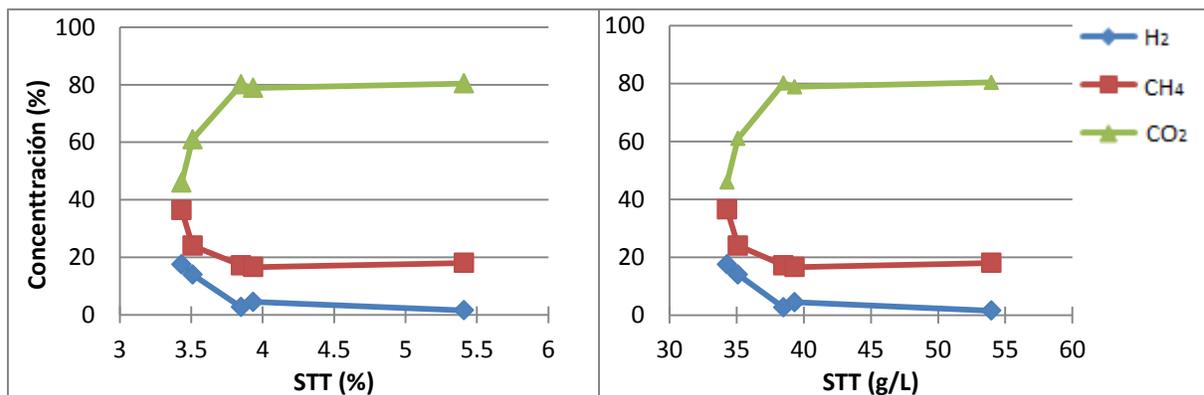


Figura 4.11 Composición del biogás en función de los STT

Para el caso de los STV el comportamiento fue muy similar. La Figura 4.12 muestra la composición del biogás en función de los STV presentes en el influente. Cuando el influente presentó 2.93% (29.3 g/L) de STV, se produjo la mayor concentración de H<sub>2</sub> en el biogás con un 17.55%, el CH<sub>4</sub> tuvo una concentración de 36.48% y el CO<sub>2</sub> de 45.95%.

Cuando el influente presentó 3.16% (31.6 g/L) de STV, se produjo una concentración de H<sub>2</sub> en el biogás del 14%, el CH<sub>4</sub> tuvo una concentración de 24% y el CO<sub>2</sub> de 61%.

También se observa que cuando la concentración de STV aumentó a 4.94% (49.4 g/L) la concentración de H<sub>2</sub> disminuyó hasta un 1.55%, el CH<sub>4</sub> tuvo una concentración de 18.04%, mientras que el CO<sub>2</sub> alcanzó la concentración más alta con un 80.4%.

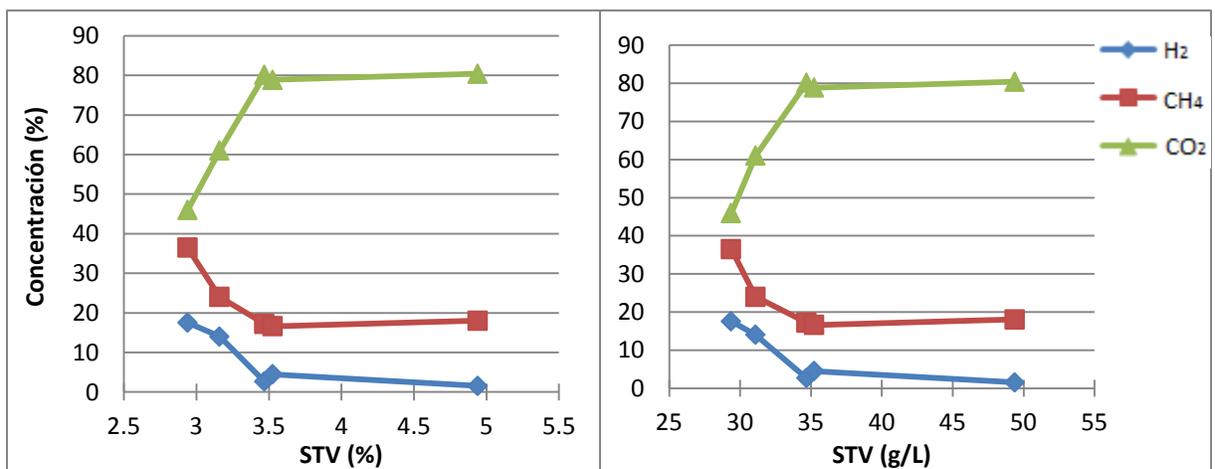


Figura 4.12 Composición del biogás en función de los STV

En cuanto a la composición del biogás en función de los STF, la Figura 4.13 muestra que los resultados fueron variables y no se observa una relación entre ellos. Sin embargo, la mayor concentración de H<sub>2</sub> con un 17.55%, 36.48% de CH<sub>4</sub> y 45.95% de CO<sub>2</sub> se obtuvo con 0.49% (4.9 g/L) de STF en el influente.

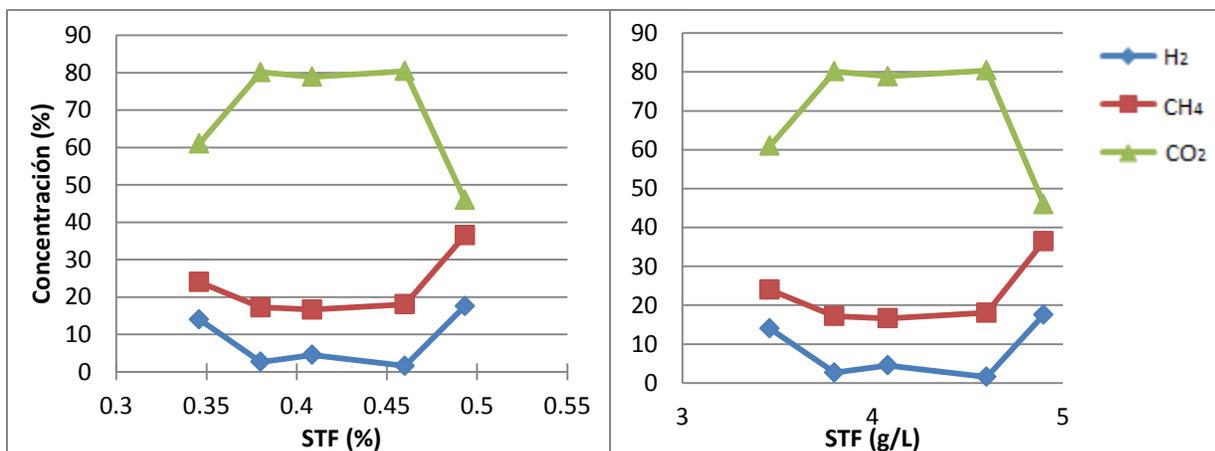


Figura 4.13 Composición del biogás en función de los STF

Cuando la cantidad de STF disminuyó de 0.34% (3.4 g/L), se obtuvo 14% de H<sub>2</sub>, 24% de CH<sub>4</sub> y 61% de CO<sub>2</sub>. También se observa que cuando la cantidad de STF fue 0.47% (4.7 g/L), se obtuvo la más baja concentración de H<sub>2</sub> con un 1.55%, 18.04% de CH<sub>4</sub> y 80.4% de CO<sub>2</sub>.

#### **4.6 Inóculo**

De acuerdo al capítulo 2 un factor determinante en la producción de H<sub>2</sub> es el tipo de inóculo utilizado durante la fermentación. Recientemente, Tenca y col., (2011) reportaron el uso de estiércol de cerdo en sus investigaciones. Sin embargo, el estiércol forma parte de una mezcla con residuos de frutas y vegetales, dicha mezcla es usada como sustrato. El inóculo que utilizan procede de un reactor generador de H<sub>2</sub>.

Por su parte, Liu y col., (2008a) han conseguido la producción de H<sub>2</sub> usando como inóculo un cultivo mixto enriquecido a partir de estiércol de vaca.

En este experimento, el inóculo utilizado fue estiércol de cerdo el cual está constituido por un rico consorcio microbiano del cual cabe resaltar la presencia de *Enterobacter*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Citrobacter spp.* y *E. coli* ya que tales microorganismos están asociados a la producción de hidrógeno. Sin embargo, ya que no son las únicas bacterias presentes es posible que dentro de la microflora existan otros microorganismos que inhiban a los productores de hidrógeno o consuman el hidrógeno. Por lo tanto, es necesario identificar tales microorganismos y establecer medidas para maximizar la producción.

#### **4.7 Eficiencia del sistema**

La Figura 4.14 presenta la producción de biogás respecto al tiempo. En la etapa de arranque se observa que el día con mayor producción fue el día 2 con 2L y el día en que cesó la producción de biogás fue a partir del día 9. En esta etapa el TRH fue de 16 días, una vez alimentado el reactor las bacterias comenzaron a degradar el sustrato y a generar biogás, pero después de agotar el sustrato la producción de biogás se detuvo.

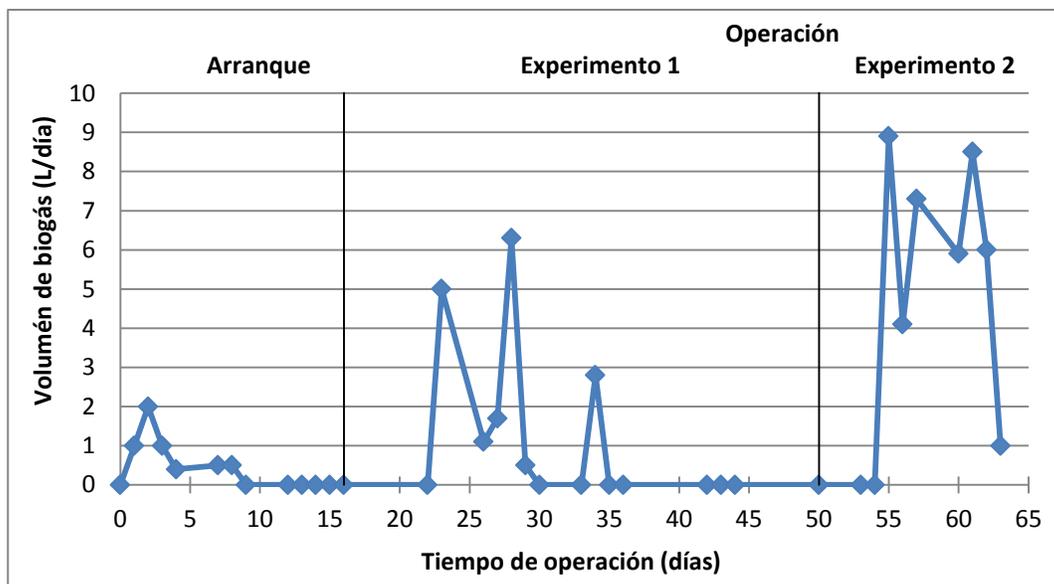


Figura 4.14 Producción de biogás respecto al tiempo

En la etapa de operación en el experimento 1, el día con mayor producción de biogás fue el día 28 con 6.3L. Para el experimento 2, el día de mayor producción fue el día 55 con 8.9L. Estos resultados se deben a los diferentes TRH con los que se operó en las etapas del experimento.

En la Figura 4.15 se aprecia el volumen de biogás acumulado a lo largo del experimento, para el día 63 se produjo un volumen total de 64.5 L.

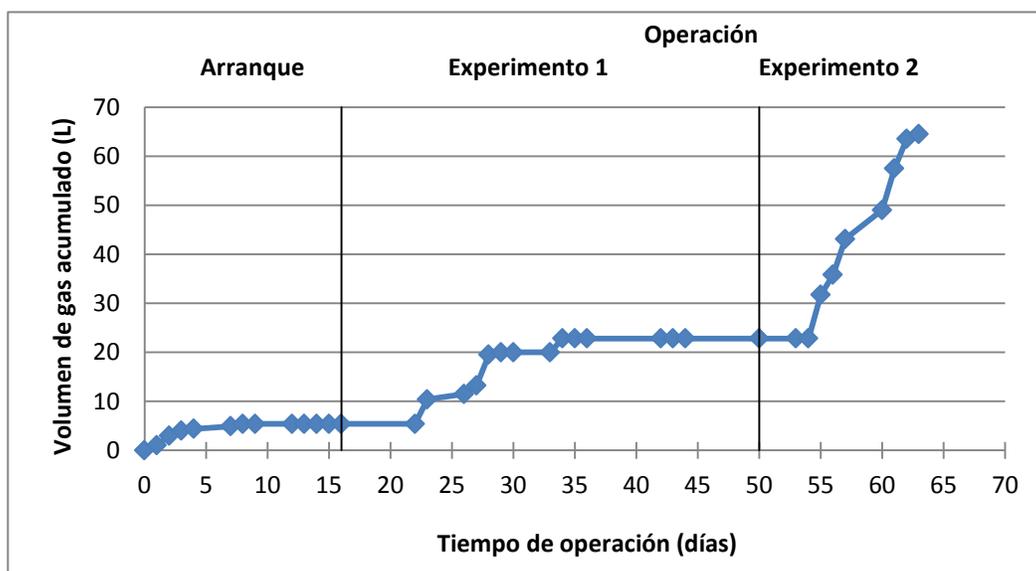


Figura 4.15 Volumen de gas acumulado respecto al tiempo

De acuerdo a las Figuras 4.14 y 4.15 se observa que en la etapa de arranque con un TRH de 16 días, se generaron 5.4 L de biogás, en el experimento 1 con TRH variable se generaron 17.4 L, mientras que en el experimento 2 con TRH de 2.5 días (del día 55 al 63) el volumen producido en ésta etapa fue de 41.7 L de biogás.

Por lo tanto, en la fermentación oscura a condiciones extremo-termofílicas los TRH pequeños (2.5 días) se asocian con una mayor producción de biogás, mientras que los TRH largos (16 días) se relacionan con una baja producción de biogás.

La Figura 4.16 presenta la composición del biogás en función del tiempo. Como se observa, el día 55 presentó el mayor porcentaje de H<sub>2</sub> en el biogás con una concentración del 17.55%, 36.48% de CH<sub>4</sub> y 45.95% de CO<sub>2</sub> en la muestra analizada. La concentración de H<sub>2</sub> obtenida en este experimento (17.55%) es baja comparada a la reportada por Tenca y col., (2011). La máxima concentración de H<sub>2</sub> en su estudio fue del 42±5%, operando a temperatura termofílica y utilizando como sustrato una mezcla de estiércol de cerdo y residuos de frutas y verduras (Tenca y col., 2011).

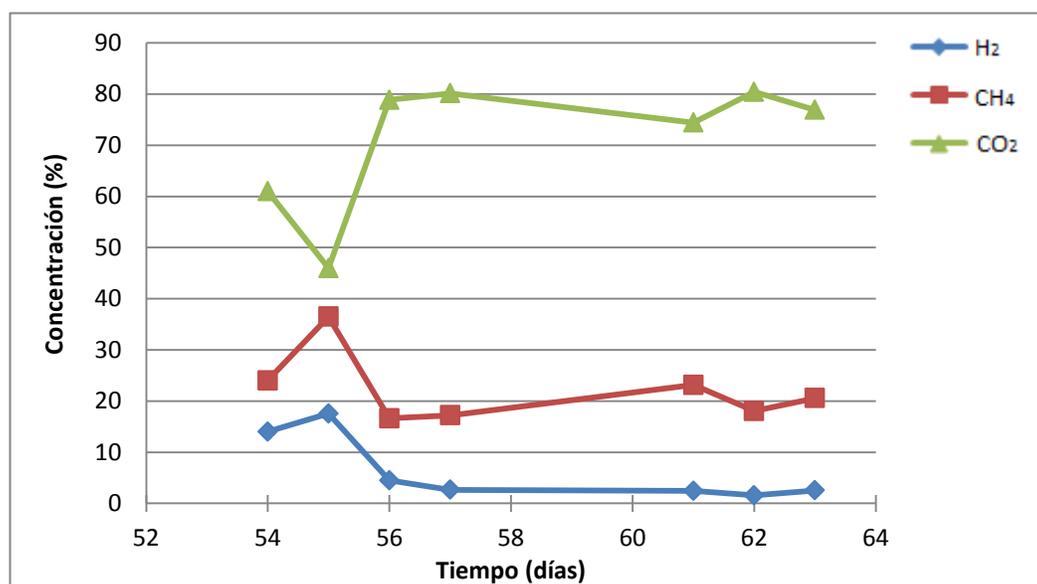


Figura 4.16 Composición del biogás respecto al tiempo

En el día 62, se obtuvo la concentración más alta de CO<sub>2</sub> con un 80.4%, una concentración CH<sub>4</sub> de 18.04% y la concentración más baja de H<sub>2</sub> con un 1.55%.

Esto muestra que el aumento de CO<sub>2</sub> en el biogás tiene un efecto negativo en la producción de H<sub>2</sub>.

De acuerdo a la Figura 4.16, se observa que a medida que aumenta la concentración del CH<sub>4</sub> y del CO<sub>2</sub> en el biogás, la concentración de H<sub>2</sub> disminuye. Esto implica que el hidrógeno generado está siendo utilizado para la formación de productos como CH<sub>4</sub>, alcoholes y/o ácido láctico.

Chou y col., (2008) investigaron sobre la influencia de la agitación y el pH durante la conversión de residuos sólidos orgánicos a H<sub>2</sub> en condiciones mesofílicas (en un reactor de 10 L). La Tabla 4.4 muestra valores representativos de dicho estudio.

**Tabla 4.4 Influencia del pH y la agitación en la producción de hidrógeno (Chou y col., 2008)**

pH	Agitación	Contenido de H <sub>2</sub> (%)	Producción acumulativa de H <sub>2</sub> (L)	Rendimiento de H <sub>2</sub> (mL/g STV agregado)
6	45	42.9	2.1	7.3
	100	54.2	6.1	20.4
	150	40.8	2.8	9.2
5.5	45	38.4	2.8	9.5
	100	42.3	3.5	11.7
	150	40.2	2.9	9.8
5	45	34.0	1.3	4.1
	100	37.3	1.8	5.6
	150	30.7	1.4	4.1

De acuerdo a Chou y col. (2008), se alcanzó el valor más alto de contenido de H<sub>2</sub> en el biogás con un 54.2% y el mayor rendimiento de H<sub>2</sub> con 20.4 mL/g STV<sub>agregado</sub> a pH 6 y agitación de 100 rpm. Para el pH de 5, la agitación óptima también es de 100 rpm, sin embargo, los valores reportados son menores, el contenido de H<sub>2</sub> en

el biogás es de 37.3% y el rendimiento de H<sub>2</sub> es de 5.6 mL/g STV<sub>agregado</sub>. Como se puede observar, cuando la agitación es mayor o menor a 100 rpm la producción de H<sub>2</sub> disminuye. En base a dicha investigación, Chou y col., (2008) concluyen que el pH y la agitación son factores que influyen en la producción del H<sub>2</sub>, principalmente el pH.

En el caso del presente estudio, el pH utilizado durante el experimento 2 de la operación fue 5, por lo que la velocidad de agitación óptima es 100 rpm. (Chou y col., 2008). La máxima agitación fue de 46 rpm, alcanzando una concentración de hidrógeno en el biogás del 17.55%. Por lo tanto, se concluye que una agitación deficiente, repercute en la presión parcial de H<sub>2</sub> y por consiguiente en la formación de otros compuestos no deseados en el proceso de fermentación.

En la Figura 4.17 se presentan los STT en el efluente e influente a lo largo del experimento. Desde la etapa de arranque hasta el día 55 del experimento 2 de la operación, los STT determinados en el efluente fueron mayores a los del influente. A partir del día 56, en el experimento 2, los STT del efluente fueron menores a los del influente. Observando el comportamiento de los STT en el influente respecto al tiempo, se deduce que el cambio en la concentración de STT depende de la composición del sustrato. Del día 0 al 55 se usó el sustrato 1 (58% zanahoria), mientras que del 56 al 63 el sustrato utilizado fue el 2 (papaya 20%, lechuga 20%, mango 15% y otros componentes).

Para el caso de los STT del efluente, se puede observar que fueron disminuyendo respecto al tiempo, lo cual indica que hubo remoción, es decir, que las bacterias degradaron parte del sustrato durante la fermentación (específicamente en la etapa final del experimento).

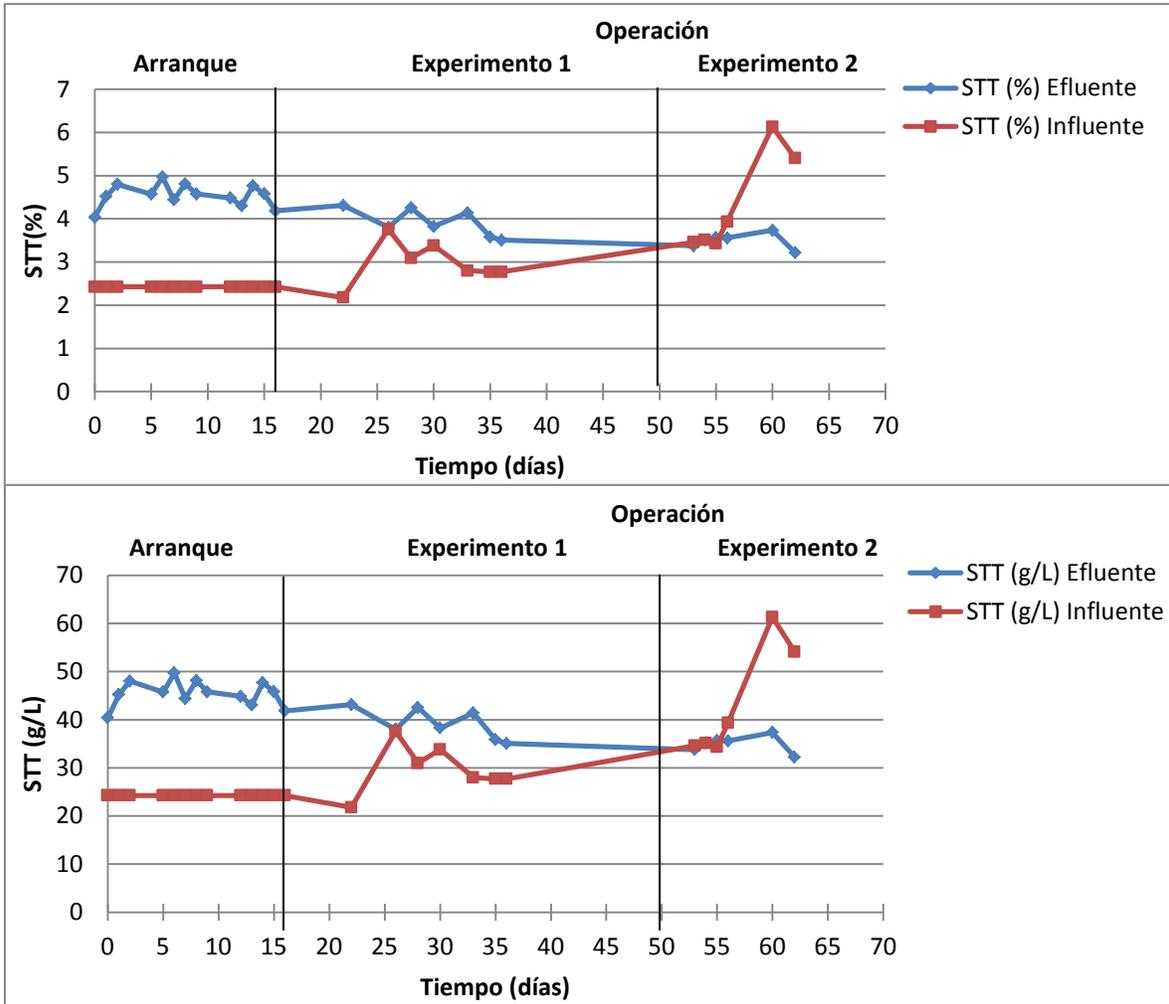


Figura 4.17 Resultados de STT con respecto al tiempo del arranque y la operación

La Figura 4.18 se muestra el comportamiento de los STV, el cual es muy similar a los STT. En la etapa de arranque los STV del efluente fueron mayores a los del influente. Para la operación, en el experimento 1 (a excepción del día 26) los STV del efluente fueron mayores a los del influente. Fue hasta el experimento 2 en que los STV del efluente fueron menores a los del efluente. El que los STV en el influente aumenten del día 56 al 62 depende del cambio en la composición del sustrato. El que los STV del efluente sean menores a los del influente, en el experimento 2 de la etapa de operación, indica que las bacterias degradaron el sustrato y por siguiente hubo remoción.

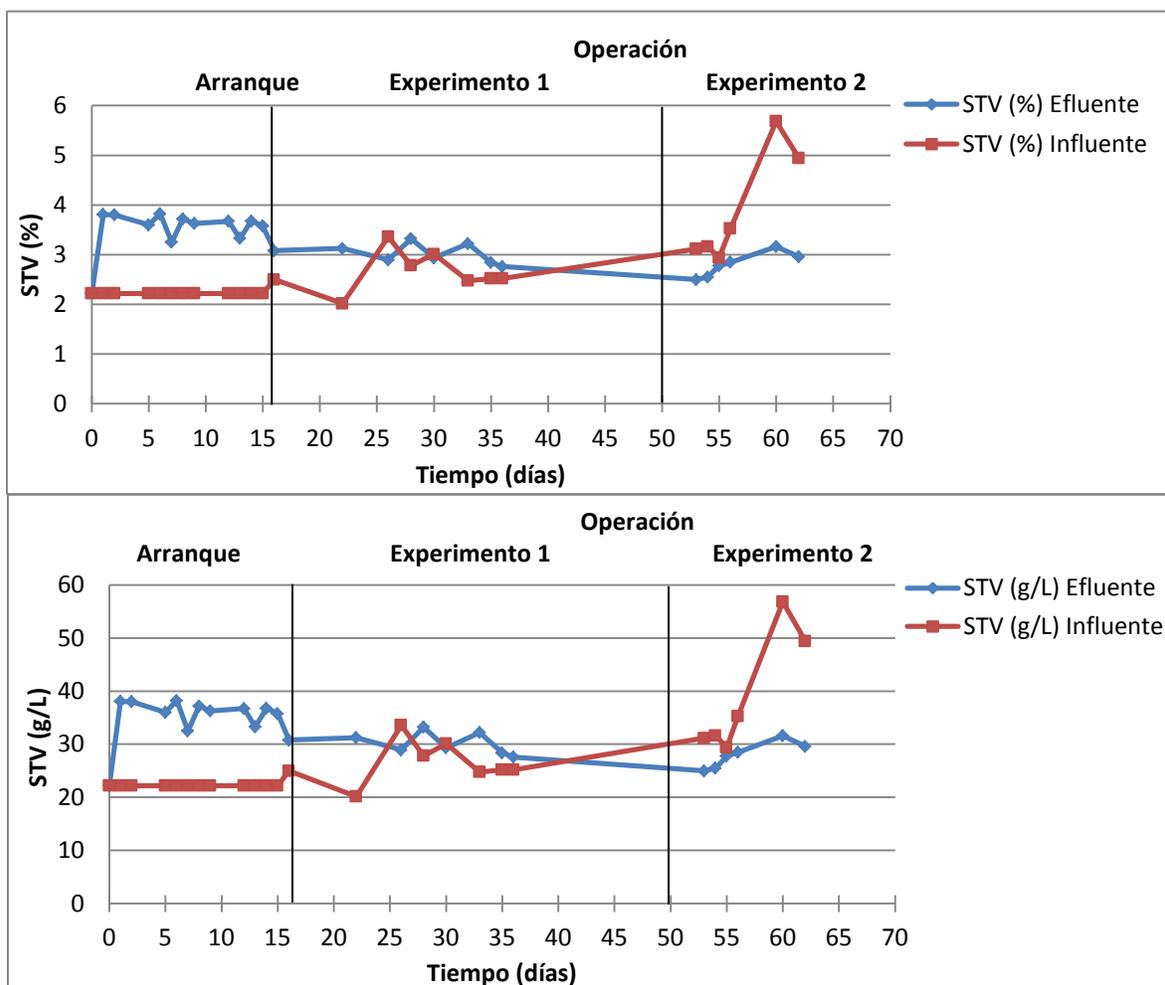


Figura 4.18 Resultados de STV con respecto al tiempo del arranque y operación

Los STF corresponden a la fracción inorgánica de la muestra analizada. En la Figura 4.19 se observa el cambio de los STF a lo largo del experimento, a excepción del día 62 se observa que los STF del efluente fueron mayores a los del influente, tal comportamiento puede atribuirse al KOH utilizado para ajustar el pH durante la fermentación. Sin embargo, después del día 54 el pH dejó de ajustarse y la concentración de STF en el efluente comenzó a disminuir.

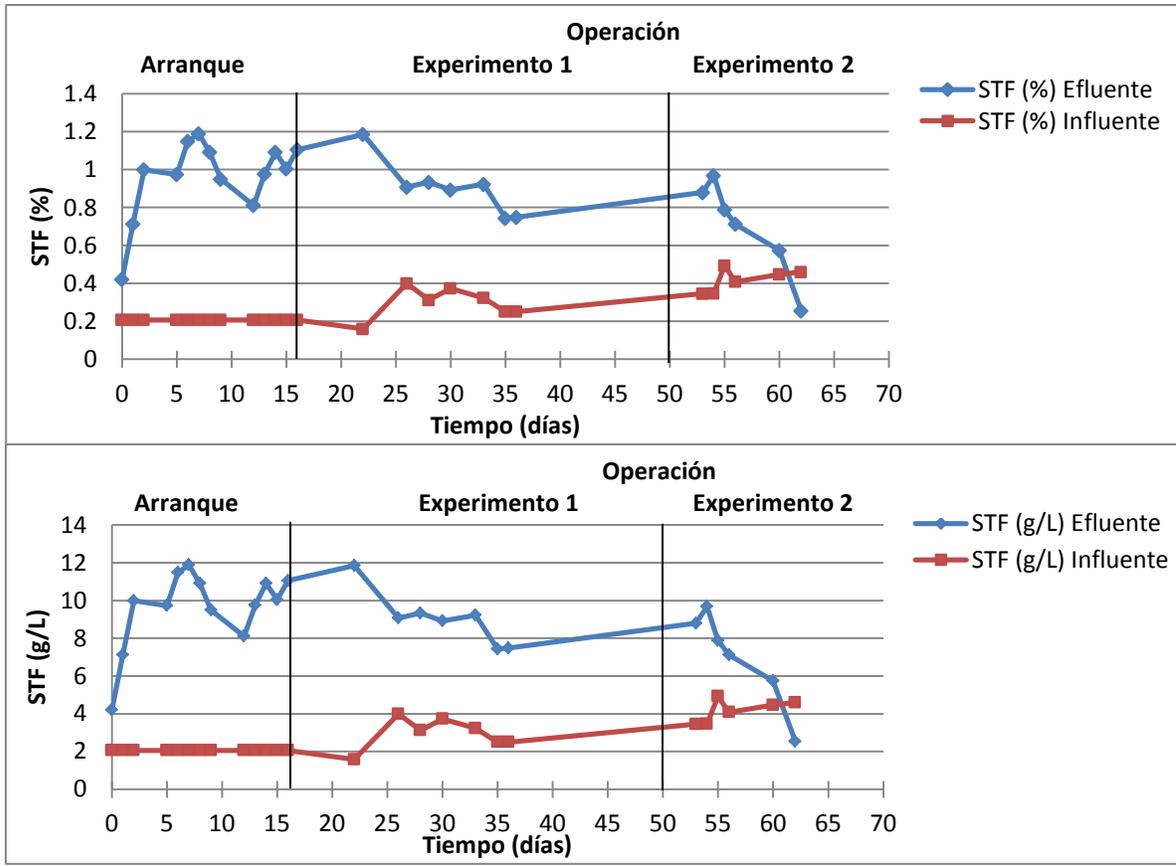


Figura 4.19 Resultados de STF con respecto al tiempo del arranque y operación De acuerdo a la cantidad de sólidos presentes en el efluente e influente (STT, STV y STF) se determinó el porcentaje de remoción respecto al tiempo. La Figura 4.20 presenta los valores de remoción del experimento 2, ya que sólo en esta etapa se reportaron valores positivos.

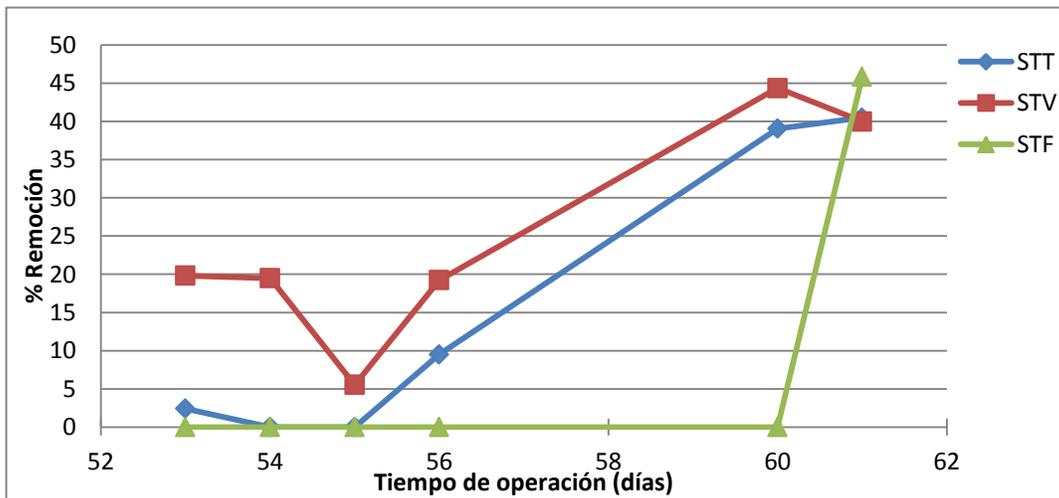


Figura 4.20 Porcentaje de remoción respecto al tiempo

En cuanto a los STT, el día que presentó el menor porcentaje de remoción fue el día 53 con un 2.41%, el día en que se obtuvo el mayor porcentaje de remoción fue el 61 con un 40.5%. Tales resultados dependen de las concentraciones de STT presentes en el influente y efluente. Los días en que se reporta porcentaje de remoción fueron aquellos en que los STT del efluente fueron menores a los del influente.

Para los STV el día que hubo menor porcentaje de remoción fue el día 55 con 5.53%, el día 53, 54 y 56 presentaron ~20%, mientras que el día con mayor porcentaje de remoción fue el día 60 con un 44.36%. En este caso, todos los días del experimento 2 presentaron porcentaje de remoción, ya que los STV del efluente siempre fueron menores a los del influente.

En el caso de los STF no hubo remoción del día 53-60, sin embargo, resalta el día 62 ya que presenta un porcentaje de remoción de 45.84%. Cabe mencionar, que al final del experimento 2, la cantidad de KOH utilizada para el ajuste del pH fue mínima. Por lo tanto, el aporte de STF a la mezcla se fue reduciendo, como se observa en la Figura 4.17.

La Figura 4.21 muestra la relación entre el pH y el porcentaje de remoción de los STT, STF y STV.

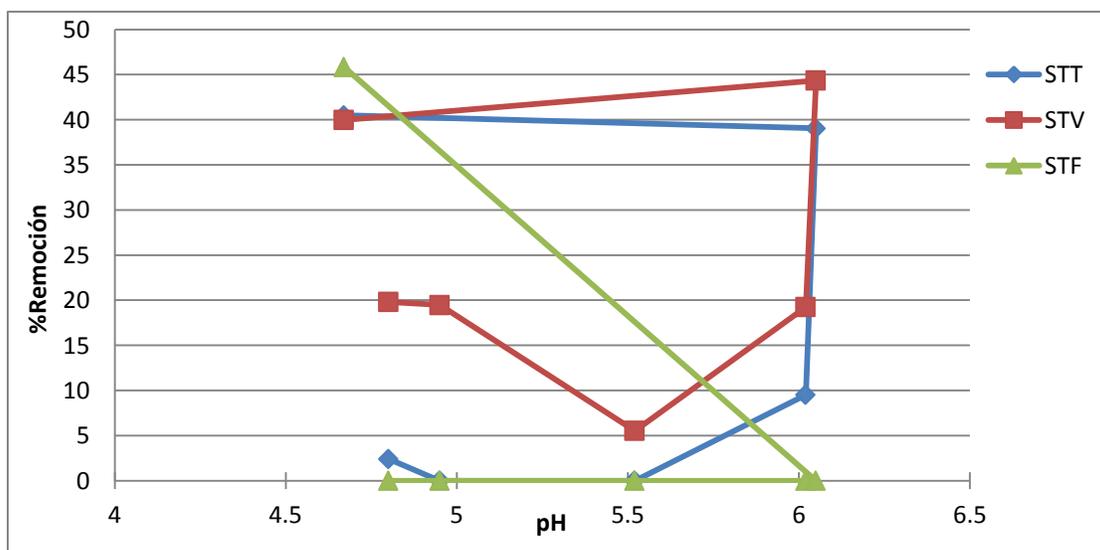


Figura 4.21 Porcentaje de remoción en función del pH

Según lo observado en la Figura 4.21, el pH influye en el porcentaje de remoción. Para los STT y STV la remoción aumenta en valores de pH menores a 5 y mayores a 6. Para los STF, sólo se presentó remoción a un pH de 4.67. La Tabla 4.5 muestra los valores de los porcentajes de remoción en función del pH.

**Tabla 4.5 Porcentajes de remoción de los STT, STV y STF respecto al pH**

pH	Remoción de STT (%)	Remoción de STV (%)	Remoción de STF (%)
4.67	40.50	39.98	45.84
4.80	2.41	19.8	-
4.95	-	19.48	-
5.52	-	5.53	-
6.02	9.52	19.24	-
6.05	39.05	44.36	-

Respecto a la Tabla 4.5, cabe resaltar los porcentajes de remoción obtenidos a pH 4.67 y a 6.05. A pH 4.67 se alcanzó para los STT un porcentaje de remoción del 40.5%, la mayor remoción para los STV con un 40.5% y la mayor para los STF con un 45.84%. A pH 6.05, para los STT se alcanzó un porcentaje de remoción del 39.05%, para los STV la mayor remoción con un 44.36%, mientras que para los STF no se presentó remoción.

En base a estos resultados se deduce que el pH óptimo para la remoción de sólidos es 4.67. Sin embargo, el porcentaje de remoción de STV no es un factor que influya directamente en la producción de H<sub>2</sub> (Escamilla-Alvarado y col., 2011).

En la Figura 4.22 se observa el porcentaje de remoción respecto al TRH, los resultados obtenidos en este experimento para un mismo tiempo de remoción fueron muy diferentes.

Manteniendo un TRH de 2.5 días se obtuvieron porcentajes de remoción muy diferentes. Para los STT el porcentaje varió desde 0 a 40.49%, para los STV el porcentaje fue de 5.53 a 44.36% y finalmente los STF de 0 a 45.84%.

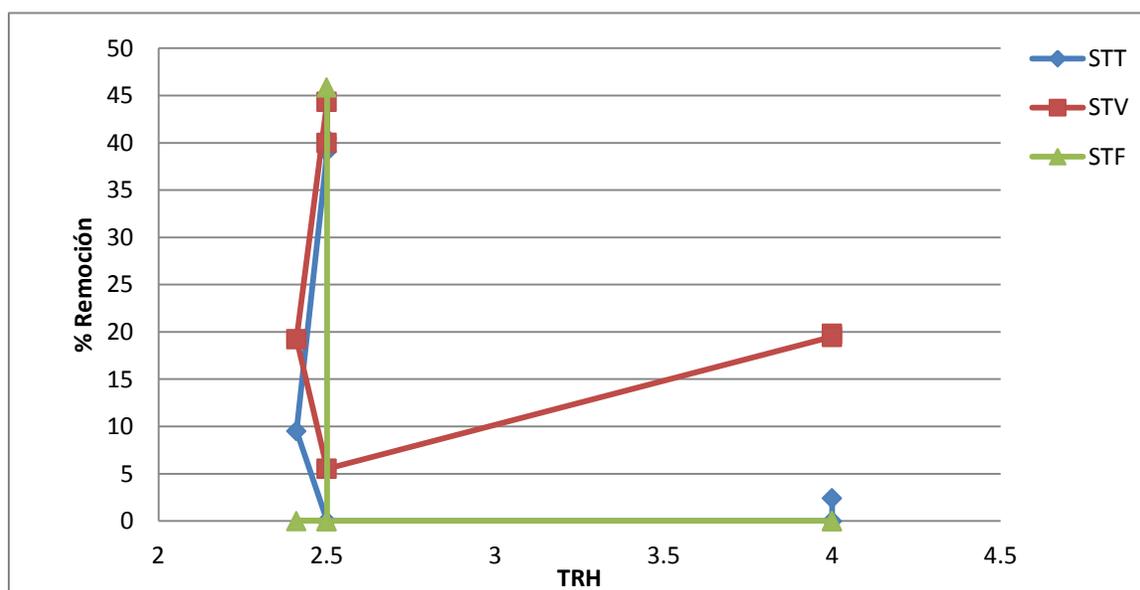


Figura 4.22 Porcentaje de remoción en función del TRH

Por lo tanto, se concluye que el TRH no es el único factor que influye en la remoción y que existen otros factores que afectan la degradación del sustrato.

#### 4.8 Parámetros de operación

Los parámetros utilizados durante la operación del experimento y que arrojaron la mayor concentración de H<sub>2</sub> se presentan en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6 Condiciones de operación durante la producción de hidrógeno

Parámetro	Valor	
pH	5	
TRH	2.5 días	
Temperatura	70°C	
Agitación	46 rpm	
STT	3.33%	33.31 g/L
STV	2.85%	28.53 g/L
STF	0.47%	4.78 g/L
Concentración máxima de H <sub>2</sub> en el biogás	17.55%	
Rendimiento máximo	3.91 mL H <sub>2</sub> /g STV <sub>agregado</sub>	

### Cálculo del rendimiento máximo:

1) Cálculo de los g STV en que hubo mayor producción de hidrógeno.

\*Para dicho cálculo, se requiere la concentración de STV del sustrato en que se obtuvo el mayor porcentaje de hidrógeno en el biogás, en este caso, fue de 28.53 g/L.

$$g \text{ STV} = \left( \frac{28.53 \text{ g STV}}{L \text{ sustrato}} \right)$$

$$\left( \frac{28.53 \text{ g STV}}{L \text{ sustrato}} \right) (14 \text{ L sustrato añadido}) = 399.37 \text{ g STV}$$

2) Cálculo del rendimiento máximo de hidrógeno en el biogás.

\*mayor concentración de H<sub>2</sub> en el biogás= 17.55%

\*volumen de biogás producido= 8,900 mL

\*STV= 399.37 g STV

$$\text{Volumen de H}_2 = \left( \frac{17.5 \text{ mL H}_2}{100 \text{ mL biogás}} \right) (8900 \text{ mL biogás}) = 1561.95 \text{ mL H}_2$$

$$\text{Rendimiento} = \left( \frac{1561.95 \text{ mL H}_2}{399.37 \text{ g STV}} \right) = 3.91 \frac{\text{mLH}_2}{\text{g STV}}$$

### 4.9 Discusión de resultados

El objetivo de este experimento, fue realizar el arranque y operación de una planta prototipo para la generación de hidrógeno a partir de desechos de frutas y verduras a condiciones extremo-termofílicas. El proceso se llevó a cabo a parámetros operacionales previamente establecidos que favorecen dicha producción. Sin embargo, según los resultados obtenidos, se encontró que existen ciertas variables que afectan de manera significativa la producción de hidrógeno.

Con el propósito de hacer un análisis completo de dichos los resultados, la Tabla 4.7 muestra una comparación de este trabajo respecto a otras investigaciones.

**Tabla 4.7 Comparación de diversas investigaciones para la producción de hidrógeno**

Referencia	Sustrato	Inóculo	pH	T	% de H <sub>2</sub> en biogás	Rend.
Este trabajo	Residuos de frutas y verduras 3.43%, 33.3 g/L STT 2.93%, 28.5 g/L STV	Estiércol de cerdo	5	70 °C	17.5 %	3.91 mL H <sub>2</sub> /g STV agregado
Tenca y col., 2011	Mezcla: Estiércol de cerdo y residuos de frutas y vegetales 13.3% STT	Procedente de reactor generador de H <sub>2</sub>	Sin control (5-5.5)	Termofílica	42±5%	126 mL H <sub>2</sub> /g STV agregado
Liu y col., 2008a	Residuos sólidos domésticos 2% STV	Cultivo mixto de reactor generador de H <sub>2</sub>	7	70 °C	–	257 mL H <sub>2</sub> /g STV agregado
Kotsopoulos y col., 2009	Estiércol de cerdo 4.54% STT	Procedente reactor metanogénico	Sin control (~7)	70 °C	–	3.65 mL H <sub>2</sub> /g STV agregado

De acuerdo a la Tabla 4.7 se puede notar que los experimentos que presentaron mayores rendimientos usaron sustratos ricos en materia orgánica e inóculos provenientes de reactores generadores de H<sub>2</sub>. Liu y col., (2008a) utilizaron como sustrato residuos sólidos domésticos (RSD) (2% de STV) y un cultivo mixto procedente de un reactor generador de H<sub>2</sub>, obteniendo un rendimiento de 257 mL H<sub>2</sub>/ g STV<sub>agregado</sub>.

Tenca y col., (2011) utilizaron como sustrato una mezcla de estiércol de cerdo con residuos de frutas y vegetales (9.95% STV) y un inóculo procedente de un reactor generador de H<sub>2</sub>, alcanzando un rendimiento de 126 mL H<sub>2</sub>/g STV <sub>añadido</sub>.

Por su parte, Kotsopoulos y col., (2009) usaron estiércol de cerdo como sustrato (4.54% STT) y un inóculo procedente de un reactor metanogénico. Por lo tanto, se infiere que el bajo rendimiento que obtuvieron (3.65 mL H<sub>2</sub>/ g STV<sub>agregado</sub>) se ve influenciado por el tipo de bacterias presentes en el inóculo.

Comparando el presente estudio con el de Kotsopoulos y col., (2009), se observa que a pesar de tener una menor concentración de STT en el sustrato (3.43%) el rendimiento obtenido en esta investigación fue mayor, alcanzando 3.91 mL H<sub>2</sub>/g STV<sub>agregado</sub>.

Durante este experimento se evaluaron 2 tipos de sustrato con diferente composición. El sustrato 1 con un 58% de zanahoria y el sustrato 2 con un 5% de zanahoria, de estos sustratos el que produjo mayor concentración de H<sub>2</sub> fue el sustrato 1, con mayor contenido de sacarosa, alcanzando un 17.55% de H<sub>2</sub> en el biogás. En base a esto, se puede deducir que la composición del sustrato es un factor que repercute en la producción de hidrógeno durante la fermentación oscura.

Relacionando los STT presentes en el sustrato con la producción de H<sub>2</sub>, se encontró que la concentración de STT óptima es de 3.43% (33.31 g/L) ya que en este valor se logró la mayor concentración de H<sub>2</sub> en el biogás (17.55%). Al aumentar los STT a 5.41% (53.97g/L) la concentración de H<sub>2</sub> disminuyó hasta un 1.55% (la más baja), mientras que el CH<sub>4</sub> y el CO<sub>2</sub> tuvieron concentraciones de 18.04% y 80.4% respectivamente. El que se hayan obtenido valores altos de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> y una concentración baja de H<sub>2</sub>, indica que si bien, hay producción de H<sub>2</sub>, éste ha sido consumido para la formación de CH<sub>4</sub> o desviado para la formación de sustratos más reducidos como alcoholes y ácido láctico (Tamagnini y col., 2002; Levin y col., 2004).

En este proceso las fuentes de nutrientes fueron el inóculo y sustrato utilizado, sin embargo, algunas investigaciones sugieren la adición de una formulación de nutrientes para enriquecer el medio y mejorar la producción de H<sub>2</sub>. (Lee y col., 2001). Los nutrientes más importantes son el Fe y el Mg. El Fe es un componente

de las hidrogenasas, las cuales participan de manera directa en la producción de  $H_2$  (Shima y col., 2008). Por otro lado, el Mg es un cofactor de cerca de 10 enzimas activas durante el proceso de glucólisis (Lin y Lay 2004b).

A fin de evaluar el efecto de tales nutrientes en la producción de  $H_2$ , se recomienda agregar a la mezcla una formulación que mejore la actividad enzimática de las bacterias.

Como ya se ha mencionado, el inóculo utilizado en este experimento fue estiércol de cerdo, sin embargo, en el trabajo de Tenca y col., (2011), el estiércol fue usado para enriquecer el sustrato, cuya concentración final fue de 9.95% STT. El inóculo utilizado en su investigación provenía de un reactor generador de  $H_2$ , alcanzando uno de los rendimientos más altos (126 mL  $H_2$ /g  $STV_{agregado}$ ) y una concentración de  $H_2$  en el biogás de  $42 \pm 5\%$ .

En el caso del trabajo de Kotsopoulos y col., (2009) el inóculo empleado provenía de un reactor metanogénico, logrando un rendimiento máximo de 3.65 mL  $H_2$ / g  $STV_{agregado}$ . En el presente estudio, el sustrato utilizado tuvo una concentración de 2.93% STV, la cual es muy similar a la empleada por Liu y col., (2008a). Sin embargo, un factor que repercute en el rendimiento es el inóculo empleado, dando mejores resultados aquellos inóculos que proceden de reactores productores de  $H_2$ .

El rendimiento de  $H_2$  obtenido en el presente estudio (3.91 mL  $H_2$ / g  $STV_{agregado}$ ) puede deberse a la amplia población de bacterias presentes en el estiércol de cerdo. Por un lado, el consorcio microbiano presenta bacterias asociadas a la producción de  $H_2$ , pero a su vez, tiene microorganismos como *Lactobacillus* sp., *Enterococcus* sp., y *Bifidobacterium* spp., que se asocian con la producción de bacteriocinas que actúan sobre los microorganismos del género *Clostridia*.

Por lo tanto, se sugiere utilizar cultivos que hayan sido empleados previamente en la producción de  $H_2$  y que el estiércol de cerdo sea utilizado para enriquecer ya sea el sustrato o el inóculo. A su vez, es necesario encontrar la proporción óptima

para obtener los más altos rendimientos. Por lo tanto, se concluye que el tipo de inóculo es una variable que afecta en la producción de H<sub>2</sub>.

Otros dos factores que influyen en la producción de H<sub>2</sub> y que están estrechamente relacionados son el pH y el TRH. El pH deseado durante el análisis del biogás para este experimento fue 5 con un TRH de 2.5 días. Las condiciones óptimas en que se alcanzó la mayor producción de H<sub>2</sub> fue a pH 5.5 y un TRH de 2.5 días.

Según Ren y col., (2009), este valor de pH aún se mantiene dentro del rango óptimo, ya que el máximo rendimiento de H<sub>2</sub> sólo se alcanza cuando las reacciones microbianas siguieron una fermentación tipo etanólica, lo cual ocurre en un pH de 4.5. No obstante, este valor puede variar ya que cada bacteria posee enzimas específicas que se activan en intervalos de valores específicos y que tienen su actividad máxima en un pH particular (Lay y col., 1997; Venkata, 2009). Por ello, es necesario evaluar el proceso a diferentes valores de pH y determinar un pH óptimo para el inóculo y el sustrato empleados.

Al evaluar el cambio del TRH y el pH en el reactor, se comprobó que a TRH largos (16 días) es más fácil mantener el pH en valores neutros (7), mientras que a TRH cortos (2.5 días) el pH se mantiene ligeramente ácido (4.5-6.0).

Es importante resaltar, que a pesar de mantener el TRH propuesto las concentraciones de H<sub>2</sub> fueron muy variables en un mismo valor (2.5 días). Tal comportamiento habla de que existe otro factor que afecta el balance metabólico de las bacterias e influye en la producción de H<sub>2</sub>.

Analizando la eficiencia en la producción de hidrógeno respecto al tiempo, el día 55, se puede observar que la mayor concentración de H<sub>2</sub> en el biogás fue del 17.55%, con 36.48% de CH<sub>4</sub> y 45.95% de CO<sub>2</sub> en la muestra analizada. Sin embargo, el día 62, presentó la mayor concentración de CO<sub>2</sub> en todo el experimento con un 80.4%, una concentración de CH<sub>4</sub> con un 18.04% y la más baja concentración de H<sub>2</sub> con un 1.55%.

El que haya menor concentración de  $H_2$  comparada a la del  $CH_4$  puede deberse al consumo de  $H_2$  acumulado y a la formación de  $CH_4$  por parte de bacterias metanogénicas. Otro compuesto asociado a la baja concentración de  $H_2$  en el biogás es el ácido láctico, ya que en altas concentraciones perjudica la generación de  $H_2$ , además de que su producción implica el consumo de iones de hidrógeno.

El que el  $CO_2$  alcanzara su mayor concentración en el biogás (80.4%) en el día 62 pudo favorecer la producción de fumarato o succinato, lo cual contribuye al consumo de electrones causando una disminución en la producción de  $H_2$  (1.55%). De acuerdo a las investigaciones realizadas por Liu (2006), el aumento en la presión parcial del  $CO_2$  presenta un mayor efecto de inhibición respecto a la presión parcial de  $H_2$ .

A fin de evitar la acumulación  $H_2$  y  $CO_2$  así como su posible consumo, se buscó controlar la presión parcial de  $H_2$  a través de la agitación. Sin embargo, una limitante durante el experimento fue alcanzar la agitación óptima (100 rpm). Debido a las características del motor, no fue posible regular la velocidad y sólo se alcanzó una agitación de 46 rpm. Por lo tanto, se infiere que al igual que en el trabajo de Chou y col., (2008), el trabajar por debajo de las 100 rpm (45 rpm) impide alcanzar la producción y rendimiento máximo de  $H_2$  del sistema.

Durante la fermentación oscura debe evitarse la acumulación de  $H_2$ , ya sea a través de un sistema mecánico de agitación o bien implementar el venteo gases en el proceso.

Algunas investigaciones han reportado que el rociar el interior del reactor con  $N_2$  ayuda a regular la presión parcial de  $H_2$  en la fase gaseosa, incrementando de manera significativa el rendimientos de  $H_2$  (Hussy y col., 2003; Mizuno y col., 2000). Respecto a la presión parcial del  $CO_2$ , algunos gases que favorecen su remoción son el argón, el nitrógeno y el metano (Liu y col., 2006).

En base a los sólidos presentes en el efluente e influente, se calcularon los porcentajes de remoción en el experimento. Para los STT, el porcentaje de remoción para los STT fue de 2.41-40.5%. En el caso de los STV la remoción

varió de 5.53-44.36%. Y para los STF sólo se presentó remoción un día con un 45.84%.

Aunque aparentemente estos porcentajes no sean altos, según Escamilla-Alvarado y col., (2011) el proceso de fermentación oscura no presenta remoción significativa de los STV de la materia orgánica que se alimenta, ya que esta permanece en forma de ácidos orgánicos y solventes. Si el experimento se hubiese dirigido a la producción de CH<sub>4</sub> (degradación anaerobia hasta la metanogénesis) los porcentajes de remoción hubieran sido mayores, así que, los porcentajes de remoción obtenidos se consideran aceptables.

Evaluando la relación entre el pH y el porcentaje de remoción, se observa que existe cierta relación entre ambos factores. Cuando el pH toma valores menores a 5 o mayores a 6 el porcentaje de remoción aumenta. El pH en que se presentó la mayor remoción fue a 4.67.

En cuanto al efecto del TRH sobre el porcentaje de remoción, se obtuvieron diferentes valores de remoción para un mismo TRH. Tal comportamiento, nos dice que el porcentaje de remoción no sólo depende del pH y TRH, sino que incluye otros factores como la composición del sustrato a lo largo del experimento (la cual dependía de la disponibilidad de los residuos) y a la facilidad que tienen las bacterias para la degradación de dicho sustrato.

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

#### 5.1 CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo el arranque y operación de una planta prototipo para la generación de hidrógeno utilizando como sustrato desechos orgánicos de frutas y verduras a condiciones extremo-termofílicas.
- Se analizó la cantidad y composición del biogás producido durante el proceso de fermentación.
- Se evaluó la producción de hidrógeno usando dos tipos de sustratos. La concentración más alta de hidrógeno se obtuvo utilizando el sustrato con mayor contenido de zanahoria en su composición.
- La máxima concentración de hidrógeno en el biogás fue de 17.55% con un rendimiento de 3.91 mL H<sub>2</sub>/g STV. Las condiciones de operación para dicha producción fueron TRH de 2.5 días, pH de 5.5 y una temperatura de 70° C.
- La concentración de hidrógeno en el biogás así como el rendimiento obtenido en el presente trabajo se consideran bajos, por lo que la fermentación oscura en las condiciones operacionales establecidas aún no es un proceso rentable.

## 5.2 SUGERENCIAS

- Utilizar cultivos mixtos que ya estén identificados como productores de hidrógeno.
- Realizar una caracterización microbiológica del inóculo ya que es un indicador de la producción de H<sub>2</sub> durante la fermentación.
- Mejorar el sistema de agitación (flecha y hélices), a fin de evitar la acumulación y posible consumo de H<sub>2</sub>. Además, es necesario la adaptación de un regulador para controlar la velocidad de agitación.
- Aumentar el diámetro de entradas y salidas para facilitar la alimentación del sustrato al reactor.
- Inhibir por completo la actividad metanogénica y evitar el consumo del hidrógeno producido a través de la agitación (100 rpm) y la presión parcial de H<sub>2</sub> dentro del fermentador.
- Emplear un método alternativo como el "sparging" para retirar el exceso de hidrógeno en el medio.
- Para el establecimiento de una planta para la generación de hidrógeno debe considerarse la ubicación entre ésta y la fuente del sustrato, a fin de disminuir costos de transporte.

## REFERENCIAS

- Adams, M. 1990. The Metabolism of Hydrogen by Extremely Thermophilic, Sulfur-Dependent Bacteria. *Fems Microbiology Reviews*. 75(2-3):219-237.
- Adams, M.W. y Hall, D.O., 1979. Purification of the membrane-bound hydrogenase of Escherichia coli. *J. Biol. Chem.* 183(1):11-22.
- Akkerman, I., Janssen, M., Rocha, J.M.S., Reith, J.H. y Wijffels, R.H. 2003. Photobiological hydrogen production: Photochemical efficiency and bioreactor design, En: Reith, J.H., Wijffels, R.H., Barten, H. (Eds.), *Biomethane and Biohydrogen: Status and Perspectives of Biological Methane and Hydrogen Production*. (pp. 124–145). Hague, the Neatherlands: Dutch Biological Hydrogen Foundation.
- Anguera, E. y Mendoza, B. I. 2010. Hidrógeno como combustible alternativo. Tesis de Licenciatura de Ingeniería Mecánica Eléctrica. Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán, UNAM. Cuautitlán, Estado de México, México.
- APHA, 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16a Ed. American Public Health Association. Washington, DC, EE. UU.
- Assfour, B. y Seifert, G. 2010. Adsorption of hydrogen in covalent organic frameworks: comparison of simulations and experiments, *Micropor. Mesopor. Mat.*; 133: 59-65.
- Baldor, 2012. Baldor Electric Company. Motores eléctricos industriales AC. Especificaciones del motor modelo VM3112. Arkansas, EE. UU.
- Baños, R., Manzano-Agugliaro, F., Montoya, F.G., Gil, C., Alcayde, A. y Gómez, J. 2011. Optimization methods applied to renewable and sustainable energy: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 15(4):1753-1766.
- Bastawde, K. B. 1992. Xylan structure, microbial xylanases, and their mode of action. *World J. Microbiology Biotechnol.* 8(4):353-368.

Beg, Q. K., M. Kapoor, L. Mahajan y G.S. Hoondal, 2001. Microbial xylanases and their applications: a review. ***Applied Microbiology and Biotechnology***. 56(3):326-338.

BEL JAPAN, INC. 2013. Especificaciones de espectrómetro de masas BELmass.

Bendixen, H.J. 1994. Safeguards against pathogens in Danish biogas plants. ***Water Science and Technology***. 30:171–180.

Bleijlevens, B., Buhrke, T., van der Linden, E., Friedrich, B. y Albracht, S.P. 2004. The auxiliary protein HypX provides oxygen tolerance to the soluble [NiFe]-hydrogenase of *Ralstonia eutropha* H16 by way of a cyanide ligand to nickel. ***J. Biol. Chem.*** 279(45):46686-46691.

Botas, J. A., Calles, J. A., Dufour, J. y San Miguel, G. 2005. La economía del hidrógeno – una visión global sobre la revolución energética del siglo XXI. 1. Producción y almacenamiento de hidrógeno. Acta Científica y Tecnológica. ***Revista de la Asociación Española de Científicos***.9:33-36.

Bott, M., Eikmanns, B. y Thauer, R. K. 1986. Coupling of carbon monoxide to carbon dioxide and hydrogen with the phosphorylation of ADP in acetate grown *Methanosarcina barkeri*. ***Eur. J. Biochem.*** 159:393-398.

Bridgwater, T. 2006. Biomass for energy. ***Journal of the Science of Food and Agriculture***. 86(12):1755-1768.

Brown, T., LeMay E., Bursten, B. y Burdge J. 2004. *Química la ciencia central*, 9ª edición. México: Pearson Educación.

Brown, S.H. y Kelly, R.M. 1989. Cultivation techniques for hyperthermophilic Archaeobacteria: continuous culture of *Pyrococcus furiosus* at temperatures near 100° C. ***Appl. Environ. Microbiol.*** 55:2086-2088.

Cannel, E. y Moo-Young, M. 1980. Solid-State Fermentation Systems. ***Process Biochemistry***. 15(5):2-7.

Chang, F.Y. y Lin, C.Y. 2004. Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. *Int. J. Hydrogen Energy*. 29(1):33–39.

Charron, R. y Athienitis, A. 2006. Design and optimization of net-zero energy solar homes. *ASHRAE Transactions*. 112(2):285–295.

Chen, C.C., Lin, C.Y. y Chang, J.S. 2001. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57(1-2):56-64.

Chen, W.M., Tseng, Z.J., Lee, K.S. y Chang, J.S. 2005. Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge. *Int. J. Hydrogen Energy* 30:1063–1070.

Cheng, H., Yang, Q. y Liu, C. 2001. Hydrogen storage in carbon nanotubes. *Carbon*. 39(10):1447-1454.

Cheng, S.S., Chang, S.M. y Chen, S.T. 2002. Effects of volatile fatty acids on a thermophilic anaerobic hydrogen fermentation process degrading peptone. *Water Science and Technology*. 46(4-5):209-214.

Christen H. R. 1986. Fundamentos de la Química General e Inorgánica. España: Reverté.

Chittibabu, G., Nath, K. y Das, D. 2006. Feasibility studies on the fermentative hydrogen production by recombinant *Escherichia coli* BL-21. *Process Biochem*. 41:682–688.

Chou, C.H., Wang, C.W., Huang, C.C. y Lay, J.J. 2008. Pilot study of the influence of stirring and pH on anaerobes converting high-solid organic wastes to hydrogen. *Int. J. Hydrogen Energy*. 33:1550–8.

Cole-Parmer, Masterflex, 2013. Especificaciones de bomba peristáltica modelo 7553-70.

Collet, C., Adler, N., Schwitzguebel, J.P. y Peringer, P. 2004. Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum* during continuous fermentation of lactose. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 29:1479–1485.

Conductronic, 2013. Instrumentos científicos Conductronic. Medidores de laboratorio. Especificaciones de potenciómetro pH120. Puebla, Puebla, México.

CONUEE, 2009a Energía solar. Publicación de la Comisión Nacional para el Uso Eficiente de la Energía. México, D.F. México.

CONUEE, 2009b Energía Eólica. Publicación de la Comisión Nacional para el Uso Eficiente de la Energía. México, D.F. México.

CONUEE, 2009c Geotermia. Publicación de la Comisión Nacional para el Uso Eficiente de la Energía. México, D.F. México.

CONUEE, 2010 Transporte. Tecnologías y combustibles alternos. Publicación de la Comisión Nacional para el Uso Eficiente de la Energía. México, D.F. México.

Cordero A. B. 2005. Identificación de *Clostridium perfringens* y *Erysipelothrix rhusiopathiae* a partir de un sistema de tratamiento primario de aguas residuales en una granja porcina a pequeña escala. Tesis de Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Ciudad Universitaria, D.F., México.

Côté, A.P., Benin, A.I., Ockwig, N.W., O’Keeffe, M., Matzger A.J. y Yaghi, O.M. 2005. Porous, crystalline, covalent organic frameworks. ***Science***. 310:1166-1170.

Cui, M., Yuan, Z., Zhi, X. y Shen, J., 2009. Optimization of biohydrogen production from beer lees using anaerobic mixed bacteria. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 34(19):7971–7978.

Das, D. y Veziroglu, T.N. 2001. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 26:13–28.

Datar, R.P., Shenkman, R.M., Cateni, B.G., Huhnke, R.L. y Lewis, R.S. 2004. Fermentation of biomass-generated producer gas to ethanol. ***Biotechnology and Bioengineering***. 86(5):587-594.

Davila-Vazquez, G., Arriaga, S., Alatríste-Mondragón, F., de León-Rodríguez, A., Rosales-Colunga, L. M. y Razo-Flores, E. 2008. Fermentative biohydrogen production: trends and perspectives. ***Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*** 7(1):27-45.

Ding, R.G., Yao, X.D. Zhu, Z.H., Lu, G.Q. y Yan Z.F. 2008. Effect of pore structure of activated carbon fibers on hydrogen adsorption, En: B. Baranowski y col., Editores. Carbon nanomaterials in clean energy hydrogen systems, Holanda: Springer Science. pp. 233-240.

DOE, 2004. Hydrogen Program; FY 2004 Annual Progress Report. U.S. Department of Energy; Hydrogen, Fuel Cells and Infrastructure Technologies Program, Washington. Washington, EE. UU.

DOE, 2007. Hydrogen, Fuel Cells and Infrastructure Technologies Program, Multi-Year Research, Development and Demonstration Plan, U.S. Department of Energy. Washington D. C., EE. UU.

Dong, J., Wang, X., Xu, H., Zhao, Q. y Li J. 2007. Hydrogen storage in several microporous zeolites, ***Int. J. Hydrogen Energy***. 32:4998–5004.

Dunbar, W.R. 1993. "A General Overview of the Fuel Cell Industry," Center for Energy Studies Report, Marquette University. Milwaukee, Wisconsin, EE. UU.

Dunn, S., 2002. Hydrogen futures: toward a sustainable energy system. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 27(3):235-26.

EGM, 2004. Energía Geotérmica en México. Gabinete Paralelo. Patrocinada por la Fundación Consejo para el proyecto Argentino. Buenos Aires, Argentina.

El-Kaderi, H. M., Hunt, J. R., Mendoza-Cortes, J. L., Cote, A. P., Taylor, R. E., M. O’Keeffe, Yaghi, O. M. 2007. Designed synthesis of 3D covalent organic frameworks. ***Science***. 316:268-272.

Escamilla-Alvarado, C., Poggi-Varaldo, H. y Ponce-Noyola, M. T. 2011. Producción de hidrógeno y metano como biocombustibles bajo el esquema de biorefinería. **Ide@s CONCYTEG**. 6(71):526-539.

Evans, A., Strezov, V. y Evans, T.J. 2010. Sustainability considerations for electricity generation from biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 14(5):1419–27.

Evyernie, D., Morimoto, K., Karita, S., Kimura, T., Sakka, K. y Ohmiya, K., 2001. Conversion of chitinous wastes to hydrogen gas by *Clostridium paraputrificum* M-21. **J. Biosci. Bioeng**. 91:339–343.

Fan, Y., Zhang, Y., Zhang, S., Hou, H. y Ren B. 2006. Efficient conversion of wheat straw wastes into biohydrogen gas by cow dung compost. **Bioresour. Technol**. 97(3):500-505.

Fang, H.H.P. y Liu, H. 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresour. Technol**. 82(1): 87–93.

Fang, H.H.P., Liu, H. y Zhang, T., 2002 a. Characterization of a hydrogen producing granular sludge. **Biotechnol. Bioeng**. 78(1): 44–52.

Fang, H.H.P., Zhang, T. y Liu H. 2002 b. Microbial diversity of a mesophilic hydrogen-producing sludge. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 58(1):112–8.

Fennema, O.R. 1993. Química de los Alimentos 2ª edición. Zaragoza, España: Acribia.

Ferchichi, M., Crabbe, E., Hintz, W., Gil, G.H. y Almadidy, A. 2005. Influence of culture parameters on biological hydrogen production by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* ATCC 27021. **World J. Microbiol. Biotechnol**. 21:855–862.

Fernández, J., 2008. Energías renovables para todos. Biomasa. Colección elaborada por Haya comunicación, editora de la revista Energías Renovables, con el patrocinio de IBERDROLA. Madrid, España.

Fiala, G. y Stetter, K.O. 1986. *Pyrococcus furiosus* sp. nov. represents a novel genus of marine heterotrophic archaeobacteria growing optimally at 100 °C. **Arch. Microbiol.** 145:56-61

Frey, M., 2002. Hydrogenases: hydrogen-activating enzymes. **Chem. Biochem.** 3(2-3):153-160.

García, J.M. y García, J.A. 2008. Informe de actualización de vigilancia tecnológica. Biocarburantes líquidos: biodiesel y bioetanol. Universidad Rey Juan Carlos, Círculo de Innovación en tecnologías Medioambientales y Energía, CITME. Editado por la Confederación Empresarial de Madrid-CEOE y por la Dirección general de Universidades e Investigación de la Comunidad de Madrid. Madrid, España.

Gilroyed, B.H., Chang, C., Chub, A. y Haoa, X. 2008. Effect of temperature on anaerobic fermentative hydrogen gas production from feedlot cattle manure using mixed microflora. **Int. J. Hydrogen Energy.** 33:4301–4308

GEO, 2012. Oaxaca, principal promotor de energías limpias en el país. Publicación del Gobierno del Estado de Oaxaca, Dirección de Energías Renovables. Oaxaca, México.

Godfroy, A., Raven, N.D.H. y Sharp, R.J. 2000. Physiology and continuous culture of the hyperthermophilic deep-sea vent archaeon *Pyrococcus abyssi* ST549. **FEMS Microbiol Lett.** 186:127-132.

González, J. M. 2013. Curso orientado a estudiantes de Bioquímica y Biología Molecular. Publicación del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad del País Vasco. Vizcaya, País Vasco, España.

Greenwood, N.N. y Earnshaw, A. 1997. Chemistry of the Elements, 2ª edición. Reino Unido: Butterworth-Heinemann.

Guo, X. M., Trably, E., Latrille, E., Carre`re, H. y Steyer J.P. 2010. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **Int. J. Energy.** 35:10660-10673.

Hallenbeck, P.C. 2005. Fundamentals of the fermentative production of hydrogen **Journal of Water ScienceTechnology.** 52:21-29.

Hallenbeck, P.C. y Beneman, J.R. 2002. Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. **Int. J. Hydrogen Energy.** 27(11):1185-1193.

Hallenbeck, P.C. y Ghosh, D. 2009. Advances in fermentative biohydrogen production: The way forward? **Trends in Biotechnol.** 27(5):287–297.

Han, S.K. y Shin, H.S. 2004. Performance of an innovative two-stage process converting food waste to hydrogen and methane. **Journal of the Air & Waste Management Association.** 54(2):242-249

Hankamer, B., Lehr, F., Rupprecht, J., Mussnug, J.H., Posten, C. y Kruse, O. 2007. Photosynthetic biomass and H<sub>2</sub> production by green algae: from bioengineering to bioreactor scale-up. **Phys. Plant.** 131:10–21.

Hawkes, F.R., Hussy, I., Kyazze, G., Dinsdale, R. y Hawkes, D.L. 2007. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress. **Int. J. Hydrogen Energy.** 32(2):172–84.

Hawkes, F.R., Dinsdale, R., Hawkes, D.L. y Hussy, I. 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. **Int. .J. Hydrogen Energy.** 27:1339-1347

Henriksen, L.C. 2010. Wind energy literature survey no 16. **Wind Energy.** 13:524–526.

Hernández-Escobedo, Q., Manzano-Agugliaro, F., Gazquez-Parra, J.A. y Zapata-Sierra, A. 2011. Is the wind a periodical phenomenon: The case of Mexico. ***Renewable and Sustainable Energy Reviews***. 15:721–8.

Hill J.W. y Kolb D.K., 1999. Química para el nuevo milenio. 8ª edición. México: Pearson Educación.

Hussy, I., Hawkes, F.R., Dinsdale, R. y Hawkes, D.L., 2003. Continuous fermentative hydrogen production from a wheat starch co-product by mixed microflora. ***Biotechnol. Bioeng.*** 84(6):619–626.

Hynek, S., Fuller, W., y Bentley, J. 1997. Hydrogen storage by carbon sorption. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 22:601-610.

Innotti, E.L., Kafkawitz D., Wolin, M.J. y Bryant, M.P. 1973. Glucose fermentation products of *Ruminococcus albus* grown in continuous culture with *Vibrio succinogenes*: changes caused by interspecies transfer of H<sub>2</sub>. ***J Bacteriol.*** 114: 1231-1240.

Ivanova, G., Ra'khely, G. y Kova'cs, K.L. 2009. Thermophilic biohydrogen production from energy plants by *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and comparison with related studies. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 34(9):3659-3670.

Juana, J.M., Francisco, A., Fernández, J., Santos, F. y Herrero, M.A. 2003. Energías renovables para el desarrollo. Editorial Thomson-Paraninfo. Pp. 5, 7, 18 y 204. Madrid, España.

Juang, C.P., Whang, L.M. y Cheng, H.H. 2011. Evaluation of bioenergy recovery processes treating organic residues from ethanol fermentation process. ***Bioresour. Technol.*** 102(9):5394-5399.

Kalia, V.C., Jain, S.R., Kumar, A. y Joshi, A.P. 1994. Fermentation of biowaste to H<sub>2</sub> by *Bacillus licheniformis*. ***World J. Microbiol. Biotechnol.*** 10:224-227.

Kanai, T., Imanaka, H., Nakajima, A., Uwamori, K., Omori, Y., Fukui, T., Atomi, H., y Imanaka, T., 2005. Continuous hydrogen production by the hyper-thermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. **J. Biotechnol.** 116(3):271–282.

Kapdan, I.K. y Kargi, F. 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzym. Microb. Technol.** 38(5):569–582.

Kim, S.H., Han, S.K. y Shin, H.S. 2006. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. **Process Biochem.** 41(1):199–207.

Kim, M.S. y Lee, D.Y., 2010. Fermentative hydrogen production from tofu processing waste and anaerobic digester sludge using microbial consortium **Bioresour. Technol.** 101(1):S48–S52.

Kim, S.H., Han, S.K. y Shin, H.S. 2004. Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge. **Int. J. Hydrogen Energy.** 29(15):1607-16.

Kirk, O., Borchert T. V. y Fuglsang, C.C. 2002. Industrial enzyme applications. **Curr Opin Biotechnol.** 13:345-351.

Kishor, N., Saini, R.P. y Singh, S.P. 2007. A review on hydropower plant models and control. **Renewable and Sustainable Energy Reviews.** 11:776–96.

Kondo, T., Arakawa, M., Hirai, T., Wakayama, T., Hara, M. y Miyake J. 2002. Enhancement of hydrogen production by a photosynthetic bacterium mutant with reduced pigment. **Journal of Bioscience and Bioengineering.** 93(2):145–50.

Kotsopoulos, T.A., Zeng, R.J., Angelidaki, I. 2006. Biohydrogen production in granular upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors with mixed cultures under hyper-thermophilic temperature (70 degrees C). **Biotechnology and Bioengineering.** 94(2):296-302.

Kotsopoulos, T.A., Fotidis, I.A., Tsolakis, N. y Martzopoulos, G.G., 2009. Biohydrogen production from pig slurry in a CSTR reactor system with mixed cultures under hyper-thermophilic temperature (70 °C). ***Biomass and Bioenergy***. 33:1168-1174.

Kyazze, G., Dinsdale, R., Guwy, A. J., Hawkes, F.R., Premier, G. C. y Hawkes, D. L. 2006. Performance characteristics of a two stage dark fermentative system producing hydrogen and methane continuously. ***Biotechnol. Bioeng.*** 97:759-770.

Laborde, M.A. y Rubiera, F. 2010. La energía del hidrógeno. Red Temática: Red Iberoamericana de Hidrógeno. CYTED, Argentina.

Lay, J.J., Fan, K.S., Chang, J. y Ku, C.H. 2003. Influence of chemical nature of organic wastes on their conversion to hydrogen by heat-shock digested sludge. ***International Journal of Hydrogen Energy***. 28(12):1361-1367.

Lay, J.J., Fan, K.S., Hwang, J., Chang, J. y Hsu, P. 2005. Factors affecting hydrogen production from food wastes by Clostridium-rich composts. ***J. Environ. Eng.*** 131(4):595-602.

Lay, J.J., Li, Y.Y. y Noike, T. 1997. Influences of pH and moisture content on the methane production in high-solids sludge digestion. ***Water Research***. 31(6):1518-1524.

Lee, M.J. y Zinder, S.H. 1988. Hydrogen Partial Pressures in a Thermophilic Acetate -Oxidizing Methanogenic Coculture. ***Applied and Environmental Microbiology***. 54(6):1457-1461.

Lee, D. Y., Ebie, Y., Xu, K. Q., Li, Y. Y. & Inamori, Y. 2010. Continuous H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> production from high-solid food waste in the two-stage thermophilic fermentation process with the recirculation of digester sludge. ***Bioresource technology***. 101(1):42-47.

Lee, Y.J., Miyahara, T. y Noike T. 2001. Effect of iron concentration on hydrogen fermentation. ***Bioresource Technology***. 80(3):227-231.

Lee, K.S., Lin, P.J. y Chang, J.S. 2006. Temperature effects on biohydrogen production in a granular sludge bed induced by activated carbon carriers. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 31(4):465–472.

Leschine, S. 2005. Degradation of polymers: cellulose, xylan, pectin, starch. In: Durre P. editor. Handbook on clostridia. CRC, Boca Raton, FL: Taylor and Francis; pp. 101–132.

Leung, K. y Topp, E. 2001. Bacteril community dinamics in liquid swine manure during storage: molecular analysis using DGGE/PCR of 16S Rdna. ***FEMS Microbiology Ecology***. 38: 169-177.

Levin, D.B., Pitt, L. y Love, M. 2004. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 29(2):173-185.

Levin, D.B., Zhu, H., Beland, M., Cicek, N. y Holbien, B.E. 2007. Potential for renewable hydrogen and methane biogas energy product ion from residual biomass in Canada. ***Bioresource Technology***. 98:654 -660.

Li, C.L. y Fang, H.H.P. 2007. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. ***Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*** 37(1):1–39.

Li, M., Zhao, Y., Guo, Q., Qian, X. y Niu, D. 2008. Bio-hydrogen production from food waste and sewage sludge in the presence of aged refuse excavated from refuse landfill. ***Renew. Energy***. 33(12):2573e9.

Liang, T-M. 2003. Application of membrane separation on anaerobic hydrogen producing process. Phd Thesis Department of environmental engineering, national Cheng Kung University. Tainan, Taiwan.

Lin, C-Y. y Hung W.C, 2008. Enhancement of fermentative hydrogen/ ethanol production from cellulose using mixed anaerobic cultures. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 33:3600–67.

Lin, C.Y., Lee C-Y., Tseng, I-C. y Shaio, I.Z. 2006. Biohydrogen production from sucrose using base-enriched anaerobic mixed microflora. **Process Biochem.** 41:915–9.

Lin, C.Y., Wu, S.Y., Lin, P.J., Chang, J.S., Hung C.H., Lee, K.S., Lay, C.H., Chu, C.Y., Cheng, C.H., Chang A.C., Wu J.H., Chang, F.Y., Yang, L.H., Lee, C.W. y Lin Y.C. 2011. A pilot-scale high-rate biohydrogen production system with mixed microflora. **Int. J. Hydrogen Energy.** 36:8758-8764.

Lin, C.Y. y Lay, C.H. 2004a. Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **Int. J. Hydrogen Energy.** 29(3):275–281.

Lin, C.Y. y Lay, C.H. 2004b. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **Int. J. Hydrogen Energy.** 30(3):285–292.

Lin, C.Y. y Lay, C.H. 2004c. Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. **Int. J. Hydrogen Energy** 29(1):41–45.

Linares, J.I. y Moratilla, B.Y. 2007. El hidrógeno y la energía. Colección: Avances de Ingeniería. Análisis de situación y prospectiva de nuevas tecnologías. Editan la Asociación Nacional de Ingenieros del ICAI y Universidad Pontificia Comillas, España pp. 72, 83,84 y 85.

Liu, D., Zeng, R.J. y Angelidaki, I. 2008b. Enrichment and adaptation of extremethermophilic (70°C) hydrogen producing bacteria to organic household solid waste by repeated batch cultivations. **Int. J. Hydrogen Energy.** 33:6492–6497.

Liu, D., Zeng, R.J. y Angelidaki I. 2008c. Effects of pH and hydraulic retention time on hydrogen production versus methanogenesis during anaerobic fermentation of organic household solid waste under extreme-thermophilic temperature (70°C) 'Biotechnology and Bioengineering'. Accepted. **Biotechnol Bioeng.** 100(6):1108–1114

Liu, D., Min, B. y Angelidaki I. 2008a. Biohydrogen production from household solid waste (HSW) at extreme-thermophilic temperature (70 °C) – Influence of pH and acetate concentration. **Int. J. Hydrogen energy**. 33:6985–6992.

Liu D., 2008. Bio-hydrogen Production by Dark Fermentation from Organic Wastes and Residues. Ph.D. Thesis Department of Environmental Engineering. Technical University of Denmark. Lyngby, Dinamarca.

Liu, D.W., Liu, D.P., Zeng, R.J. y Angelidaki, I. 2006. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. **Water Research**. 40(11):2230-2236.

Lo, Y.C., Bai, M.D., Chen, W.M. y Chang, J.S. 2008. Cellulosic hydrogen production with a sequencing bacterial hydrolysis and dark fermentation strategy. **Bioresour. Technol.** 99(17):8299–8303.

Lo, Y.C., Su, Y.C., Chen, C.Y., Chen, W.M., Lee, K.S. y Chang, J.S. 2009. Biohydrogen production from cellulosic hydrolysate produced via temperature-shiftenhanced bacterial cellulose hydrolysis. **Bioresour. Technol.** 100(23):5802–5807.

Lozano, J.J. y Vigata, J.L. 1985. Fundamentos de Química General. Madrid, España: Alhambra.

Lubitz, W. y Tumas, W. 2007. Hydrogen: An Overview. **Chemical Reviews**. 107 (10):3900-3903.

Lund, B., Jensen, V.F., Have, P. y Ahring, B. 1996. Inactivation of virus during anaerobic digestion of manure in laboratory scale biogas reactors. Antonie Van Leeuwenhoek. **International Journal of General and Molecular Microbiology**. 69:25–31.

Luo, G., Xie, L., Zou, Z., Zhou, Q. y Wang, J.Y. 2010a Fermentative hydrogen production from cassava stillage by mixed anaerobic microflora: Effects of temperature and pH. **Applied Energy**. 87:3710–3717.

Luo, G., Talebnia, F., Karakashev, D., Xie, L., Zhou, Q. y Angelidaki, I. 2011. Enhanced bioenergy recovery from rapeseed plant in a biorefinery concept. **Bioresour. Technol.** 102(2), 1433-1439.

Luo, G., Xie, L., Zou, Z.H., Wang, W., Zhou, Q., 2010b. Evaluation of pretreatment methods on mixed inoculum for both batch and continuous thermophilic biohydrogen production from cassava stillage. **Bioresour. Technol.** 101(3):959–964.

Lynd, L.R., Weimer, van Zyl, W.H. y Pretorius, I.S. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** 66:506-577.

Mars, A.E., Veuskens, T., Budde, M.A.W., van Doeveren, P.F.N.M., Lips, S.J., Bakker, R.R., de Vrije, T. y Claassen, P.A.M. 2010. Biohydrogen production from untreated and hydrolyzed potato steam peels by the extreme thermophiles *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga neapolitana*. **Int. J. Hydrogen Energy.** 35:7730–7737.

Matus, P. 2009. Generación de hidrógeno a partir de desechos por fermentación oscura. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química. Facultad de Química, UNAM. México, D.F., México.

Mejía, A. 2006. Identificación de enterobacterias y anaerobios en aguas residuales obtenidas a partir de un tratamiento de filtración en una granja porcina a pequeña escala. Tesis de Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México, D.F., México.

Mena, J. 2011. Guía de minerales y roca. Rocas sedimentarias. Colecciones de los Departamentos de Ciencias del Instituto de Enseñanza Secundaria Recesvinto, Venta de Baños, Palencia, España e Instituto de Enseñanza Secundaria Santa Catalina, Burgo de Osma, Soria, España.

Middlebrooks, E. J., Middlebrooks, C. H., Reynolds, J. H., Watters, G. Z., Reed, S. C. y George, D. B. 1982. Wastewater Stabilization Lagoon Design, Performance and Upgrading. Macmillan Pub. Co. Nueva York, EE. UU.

Minnan, L., Jinli, H., Xiaobin, W., Huijuan, X., Jinzao, C., Chuannan, L., Fengzhang, Z. y Liangshu, X. 2005. Isolation and characterization of a high H<sub>2</sub>-producing strain *Klebsiella oxytoca* HP1 from a hot spring. **Res. Microbiol.** 156(1): 76–81.

Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L. y Noike, T. 2000. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. **Bioresource Technology.** 73(1):59-65.

Mohan, S.V., Mohanakrishna, G. y Sarma, P. N. 2008. Integration of acidogenic and methanogenic processes for simultaneous production of biohydrogen and methane from wastewater treatment. **Int. J. Hydrogen Energy.** 33:2156-2166.

Montes, M. E., 2008. Estudio técnico-económico de la digestión anaerobia conjunta de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos y lodos de depuradora para la obtención de biogás. Tesis Doctoral Ingeniería Química. Departamento de Ingeniería Civil: Ordenación del Territorio, Urbanismo y Medio Ambiente E.T.S. I. de Caminos, Canales y Puertos. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España.

Moreno, M. D. 1991. Depuración por lagunaje de aguas residuales. Manual de Operadores. MOPT. Madrid, España.

Najafpour, G., Younesi, H. y Mohamed, A.R. 2004. Effect of organic substrate on hydrogen production from synthesis gas using *Rhodospirillum rubrum*, in batch culture. **Biochemical Engineering Journal.** 21(2):123-130.

Natesakhawat, S., Culp, J.T., Matranga, C. y Bockrath, B., 2007. Adsorption Properties of Hydrogen and Carbon Dioxide in Prussian Blue Analogues M<sub>3</sub>[Co(CN)<sub>6</sub>]<sub>2</sub>, M = Co, Zn. **Journal of Physical Chemistry.** 111(2):1055-1060.

Nath, K., Kumar, A. y Das, D. 2006. Effect of some environmental parameters on fermentative hydrogen production by *Enterobacter cloacae* DM11. **Canadian Journal of Microbiology**. 52(6):525-532.

Nicoletti, G. 1995. The Hydrogen Option for Energy - A Review of Technical, Environmental and Economic-Aspects. **Int. J. Hydrogen Energy**. 20(10):759-65.

Nielsen, J.B.H., Seadi, T.A. y Popiel P.O. 2009. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**. 100:5478–84.

Nigim, K.A. y Parker, P. 2007. Heuristic and probabilistic wind power availability estimation procedures: improved tools for technology and site selection. **Renewable Energy**. 32(4):638–48.

Nijkamp, M.G. 2002. Hydrogen storage using physisorption. Modified carbon nanofibers and related materials. Tesis Doctoral, Debye Institute, Utrecht University. Holanda, Países Bajos.

Nishihara, H., Miyashita, Y., Aoyama, K., Kodama, T., Igarashi, Y. y Takamura, Y. 1997. Characterization of an extremely thermophilic and oxygen-stable membranebound hydrogenase from a marine hydrogen-oxidizing bacterium *Hydrogenovibrio marinus*. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** 232:766–770.

Ntaikou, I., Antonopoulou, G. y Lyberatos, G. 2010. Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: A review. **Waste & Biomass Valoriz.** 1(1):21–39.

Oh, Y.K., Kim, S.H., Kim, M.S. y Park, S., 2004. Thermophilic biohydrogen production from glucose with trickling biofilter. **Biotechnol. Bioeng.** 88(6):690–698.

Oh, Y.K., Seol, E.H., Kim, J.R. y Park, S. 2003. Fermentative biohydrogen production by a new chemoheterotrophic bacterium *Citrobacter* sp. Y19. **Int. J. Hydrogen Energy**. 28:1353–1359.

Okamoto, M., Miyahara, T., Mizuno, O. y Noike, T., 2000. Biological hydrogen potential of materials characteristic of the organic fraction of municipal solid wastes. **Water Sci. Technol.** 41(3):25-32.

Orimo, S.-I., Nakamori, Y., Eliseo, J.R., Züttel, A. y Jensen C.M. 2007. Complex hydrides for Hydrogen Storage. **Chemical Reviews.** 107:4111-4132.

Pain, B.F. y Hephherd, R.Q. 1985. Anaerobic digestion of livestock wastes. In: Pain, B.F. y Hephherd, R.Q. (Eds.) Anaerobic Digestion of Farm Waste. NIRD Technical Bulletins, pp. 9–14. National Institute for Research in Dairying, Shinfield. Inglaterra, Reino Unido.

Perego, P., Fabiano, B., Ponzano, G.P. y Palazzi, E. 1998. Experimental study of hydrogen kinetics from agroindustrial by-product: optimal conditions for production and fuel cell feeding. **Bioprocess. Eng.** 19:205–211.

Pinkerton, F. E., Meisner, G. P., Meyer, M. S., Balogh, M. P. y Kundrat, M. D. 2005. Hydrogen Desorption Exceeding Ten Weight Percent from the New Quaternary Hydride Li<sub>3</sub>BN<sub>2</sub>H<sub>8</sub>. **Journal of Physical Chemistry.** B, 109(1):6-8.

Poggi-Varaldo, H.M., Valdés, L., Esparza-García F. y Fernández-Villagomez, G. 1997. Solid substrate anaerobic co-digestion of paper mill sludge, biosolids, and municipal solid waste. **Water Sci. Technol.** 35:197-204

Ramírez, G. 2002 Evaluación microbiológica de excretas porcinas sólidas y frescas de 10 granjas ubicadas en la región central de México. Tesis de Maestría en Ciencia Veterinarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Ciudad Universitaria, D.F., México.

RAE, 2001. Real Academia Española. Turba. En *Diccionario de la lengua española* (22<sup>a</sup> ed.). Madrid, España.

Redwood, M.D., Paterson-Beedle, M. y Macaskie, L.E. 2009. Integrating dark and light bio-hydrogen production strategies: towards the hydrogen economy. Rev. in **Environ. Sci. Biotechnol.** 8(2):149–185.

Reith J.H., Wijffels, R.H. y Barten, H. 2003. Bio-methane & bio-hydrogen status and perspectives of biological methane and hydrogen production, Energy Research Centre of the Netherlands (ECN), Petten, Países Bajos. ISBN: 90-9017165-7

Ren, N., Wang, A., Cao, G., Xu, J. y Gao, L., 2009. Bioconversion of lignocellulosic biomass to hydrogen: potential and challenges. ***Biotechnol. Adv.*** 27(6):1051–1060.

Renewables, 2010. Global status report. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH. Alemania.

Ritter, 2011. Aparatos e instrumentos Ritter. Medición y regulación de caudal y flujos: Medidores de volumen de gas. Manual de operación para medidores de gas tipo tambor modelo TG 05. Bochum, Alemania.

Rojas-Rejón, O.A., Poggi-Varaldo, H.M., Ramos-Valdivia, A. C., Martínez-Jiménez, A., Cristiani-Urbina E., de la Torre M. y Ponce-Noyola M.T. 2010. Production of cellulases and xylanases under catabolic repression conditions from mutant PR-22 of *Cellulomonas flavigena*. ***J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*** En prensa

SAGARPA, 2014 Bionergéticos. Definición, ventajas y desventajas. Publicación de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F. México.

Sahaym, U. y Norton, M.G. 2008. Advances in the application of nanotechnology in enabling a “hydrogen economy”. ***J. of Materials Science.*** 43:5395-5429.

Sahlstrom, L. 2003. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. ***Bioresource Technology.*** 87(2):161–6.

Sakintuna, B., Lamari-Darkrim, F. y Hirscher, M., 2007. Metal hydride materials for solid hydrogen storage. A review. ***International Journal of Hydrogen Energy.*** 32:1121-1140.

Schlapbach, L. y Zuttel, A. 2001. Hydrogen-storage materials for mobile applications. **Nature**. 414(6861):353-358.

Schröder, C., Selig, M. y Schönheit, P. 1994. Glucose fermentation to acetate, CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> in the anaerobic hyperthermophilic eubacterium *Thermotoga maritima*: involvement of the Embden-Meyerhof pathway. **Arch Microbiol**. 161:460-470

SEV, 2011. Sistemas y Equipos de Vidrio. Instructivo de baño recirculador modelo C-10. Puebla, México.

Shima, S., Pilak, O., Vogt, S., Schick, M., Stagni, M.S., Meyer-Klaucke, W., Warkentin, E., Thauer, R.K. y Ermler, U. 2008. The crystal structure of [Fe]-hydrogenase reveals the geometry of the active site. **Science**. 321(5888):572-575.

Shin, H.S. y Youn, J.H. 2005. Conversion of food waste into hydrogen by thermophilic acidogenesis. **Biodegradation**. 16(1):33–44.

Smet, E., Van Langenhove, H. y De Bo, I. 1999. The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste. **Atmospheric Environment**. 33:1295–1303.

RIKEN y JASRI, 2013. Elucidating Gas Molecular Adsorption Phenomena by Nanoporous Materials, Topic 24. Publicación del Instituto de Investigación en Física y Química de Japón (RIKEN) e Instituto de Investigación de Radiación Sincrotón de Japón (JASRI). Laboratorios SPring-8 Kyoto, Japón.

Sprott, G.D., Jarrell, K. F. y Shaw, K.M. 1982. Acetylene as an Inhibitor of methanogenic bacteria. **J. Gen Microbiol**. 128:2453-2462

Suban, M., Tusek, J. y Uran, M. 2001. Use of hydrogen in welding engineering in former times and today. **Journal of Materials Processing Technology**. 119:193-197 y 198

Tafdrup, S. 1995. Viable energy production and waste recycling from anaerobic digestion of manure and other biomass materials. ***Biomass & Bioenergy***. 9:303–314.

Takagi, H., Hatori H., Soneda, Y., Yoshizawa, N. y Yamada, Y. 2004. Adsorptive hydrogen storage in carbon and porous materials, ***Mat. Sci. Eng. B***. 108:143-147.

Tamagnini, P., Axelsson, R., Lindberg, P., Oxelfelt, F., Wünschiers, R. y Lindblad, P. 2002. Hydrogenases and hydrogen metabolism of cyanobacteria. ***Microbiology and Molecular Biology Reviews***. 66(1):1-20

Tanisho, S., Kuromoto, M. y Kadokura, N. 1998. Effect of CO<sub>2</sub> removal on hydrogen production by fermentation. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 23(7):559-563.

Tanisho, S., Suzuki, Y. y Wakao, N. 1987. Fermentative hydrogen evolution by *Enterobacter aerogenes* strain E.82005. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 12:623-627.

Tanisho, S., Wakao, S. y Kosako, Y. 1983. Biological hydrogen production by *Enterobacter aerogenes*. ***J. Chem. Eng. Japan***. 16:529-530.

Temudo, M.F., Kleerebezem, R. y van Loosdrecht, M. 2007. Influence of the pH on (open) mixed culture fermentation of glucose: A chemostat study. ***Biotechnology and Bioengineering***. 98(1):69-79.

Tenca, A., Schievano A., Perazzolo F., Adani F. y Oberti R. 2011. Biohydrogen from thermophilic co-fermentation of swine manure with fruit and vegetable waste: Maximizing stable production without pH control. ***Bioresour. Technol.*** 102(18):8582-8588.

Texier-Mandoki, N., Dentzer, J., Piquero, T., Saadallah, S., David, P. y Vix-Guterl C. 2004. Hydrogen storage in activated carbon materials: role of the nanoporous texture. ***Carbon***. 42:2735-2777.

Thomas, K. M. 2007. Hydrogen adsorption and storage on porous materials. ***Catalysis Today***. 120(3-4):389-398.

Tiwari, M.K., Guh, S., Harendranath, C.S., Tripathi, S., 2006. Influence of extrinsic factors on granulation in UASB reactor. ***Appl. Microbiol. Biotechnol.*** 71(2):145–154.

Turner, J., Sverdrup, G., Mann, M.K., Maness, P.C., Kroposki, B., Ghirardi, M., Evans, R.J., Blake, D., 2008. Renewable hydrogen production. ***Int. J. Energy Res.*** 32(5):379–407.

Ueno, Y., Fukui, H. y Goto, M. 2007. Operation of a two-stage fermentation process producing hydrogen and methane from organic waste. ***Environ. Sci. Technol.*** 41:1413-1419.

Uffen, R.L. 1997. Xylan degradation: a glimpse at microbial diversity, ***J Ind Microbiol Biotechnol.*** 19:1-16

Valdez-Vazquez, I., Ríos-Leal, E., Esparza-García, F., Cecchi, F. y Poggi-Varaldo, H. 2005. Semicontinuous solid substrate anaerobic reactors for H<sub>2</sub> production from organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime. ***Int. J. Hydrogen Energy.*** 30(13-14):1383-1391.

Valdéz-Vázquez, I. y Poggi-Varaldo, H. M. 2009. Hydrogen production by fermentative consortia. ***Ren. Sust. Energy Rev.*** 13:1000-1013.

Van Den Berg A.W.C. y Areán C.O. 2008. Materials for hydrogen storage: current research trends and perspectives. ***Chemical Communications.*** 6:668-681.

Van Den Berg, A.W.C., Bromley, S.T. y Jansen, J.C. 2005. Thermodynamic limits on hydrogen storage in sodalite framework materials: a molecular mechanics investigation. ***Microporous Mesoporous Mater.*** 78(1):63-71.

Van Groenestijn, J.W., Hazewinkel, J.H.O., Nienoord, M. y Bussmann, P.J.T. 2002. Energy aspects of biological hydrogen production in high rate bioreactors operated in the thermophilic temperature range. ***Int. J. Hydrogen Energy.*** 27(11-12):1141-1147.

Van Niel, E.W.J., Budde, M.A.W., de Haas, G.G., Van der Wal, F.J., Claasen, P.A.M. y Stams, A.J.M. 2002. Distinctive properties of high hydrogen producing extreme thermophiles, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga elfii*. ***International Journal of Hydrogen Energy***. 27(11-12):1391-1398.

Varin, R.A., Czujko, T. y Wronski Z.S. 2009. Nanomaterials for Solid State Hydrogen Storage. New York, EE. UU.: **Springer**

Venkata, S. 2009. Harnessing of biohydrogen from wastewater treatment using mixed fermentative consortia: Process evaluation towards optimization. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 34(17):7460–7474.

Wang, J. y Wan, W. 2009. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. ***Int. J. Hydrogen Energy***. 34(2):799–811.

Wang, Y.Z., Liao, Q., Zhu, X., Tian, X. y Zhang, C. 2010. Characteristics of hydrogen production and substrate consumption of *Rhodospseudomonas palustris* CQK01 in an immobilized-cell photobioreactor. ***Bioresour. Technol.*** 101(11): 4034–4041.

Wu, S.Y., Hung, C.H., Lin, C.N., Chen, H.W., Lee, A.S. y Chang, J.S. 2006. Fermentative hydrogen production and bacterial community structure in high-rate anaerobic bioreactors containing silicone-immobilized and self-flocculated sludge. ***Biotechnol Bioeng.*** 93(5):934–46.

Wu, X.B., Li, Q.Y., Dieudonne, M., Cong, Y.B., Zhou, J. y Long, M.N. 2010. Enhanced H<sub>2</sub> gas production from bagasse using adhE inactivated *Klebsiella oxytoca* HP1 by sequential dark-photo fermentation. ***Bioresour. Technol.*** 101: 9605–9611.

XiangDong, Y. y GaoQing, L. 2008. Magnesium-based materials for hydrogen storage: recent advances and future perspectives. ***Chinese Science Bulletin.*** 53:2421-2431.

- Xing, Y., Li, Z., Fan, Y.T. y Hou, H.W. 2010. Biohydrogen production from dairy manures with acidification pretreatment by anaerobic fermentation. **Enviro. Sci Pollut. Res.** 17:392-399.
- Yokoi, H., Saitsu, A., Uchida, H., Hirose, J., Hayashi, S., Takasaki, Y., 2001. Microbial hydrogen production from sweet potato starch residue. **J. Biosci. Bioeng.** 91(1): 58–63.
- Yokoyama, H., Moriya, N., Ohmori, H., Waki, M., Ogino, A. y Tanaka, Y. 2007b. Community analysis of hydrogen-producing extreme thermophilic anaerobic microflora enriched from cow manure with five substrates. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 77(1):213–22
- Yokoyama H, Waki M, Moriya N, Yasuda T, Tanaka Y, Haga K. 2007a. Effect of fermentation temperature on hydrogen production from cow waste slurry by using anaerobic microflora within the slurry. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 74(2):474e83.
- Zhang, Z.P., Show, K.Y., Tay, J.H., Liang, T.D. y Lee, D.J. 2008b. Enhanced continuous biohydrogen production by immobilized anaerobic microflora. **Energy Fuels.** 22(1):87–92.
- Zhang, H.S., Bruns, M.A. y Logan, B.E. 2006a. Biological hydrogen production by *Clostridium acetobutylicum* in an unsaturated flow reactor. **Water Res.** 40(4):728–734.
- Zhang, M.L., Fan, Y.T., Xing, Y., Pan, C.M., Zhang, G.S. y Lay, J.J. 2007. Enhanced biohydrogen production from cornstalk wastes with acidification pretreatment by mixed anaerobic cultures. **Biomass Bioenergy.** 31(4):250–254.
- Zhang, Z.P., Adav, S.S., Show, K.Y., Tay, J.H., Liang, D.T. y Lee, D.J., 2008a. Characteristics of rapidly formed hydrogen-producing granules and biofilms. **Biotechnol. Bioeng.** 101(5):926–936.

Zhang, Z.P., Show, K.Y., Tay, J.H., Liang, D.T., Lee, D.J. y Jiang, W.J. 2006b. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. ***Process Biochem.*** 41(10):2118–2123.

Züttel, A. 2004. "Hydrogen storage methods", Review, *Naturwissenschaften* 91, Springer-Verlag Heidelberg, pp. 157-172.

Züttel, A. 2003. Materials for hydrogen storage. ***Materials Today.*** 6(9):24-33.

Züttel, A., Borgschulte A. y Schlapbach L., 2008. Hydrogen as a future energy carrier. Weinheim, Baden-Württemberg, Alemania: WileyVCH.

Züttel, A., 2007. Properties and Application of Complex Metallic Alloys. European School in Materials Science. 21-26 Mayo 2007. Liubliana, República de Eslovenia.