

Producción de BioH₂ a partir de residuos de biomasa

Paula S. Mateos, Sofía Sampaolesi y Laura E. Briand

Resumen

El hidrógeno se puede producir a partir de fuentes biológicas y no biológicas. Existen varias vías de generación de hidrógeno que se clasifican por color según las materias primas, la fuente de energía y la tecnología utilizada en el proceso de producción. Biohidrógeno se refiere al hidrógeno obtenido a partir de fuentes biogénicas (por ejemplo, biogases y biomasa). La fermentación oscura, la foto-fermentación, la biofotólisis y la electrólisis microbiana son ejemplos de procesos biológicos que se pueden utilizar para producir biohidrógeno. Para lograr una producción por métodos biológicos económicamente competitivos, es crucial considerar materias primas de bajo costo como los residuos de sustratos lignocelulósicos derivados de actividades agroindustriales. La generación de bioH₂ permite la utilización de materiales lignocelulósicos crudos, materiales lignocelulósicos después de una etapa de pretratamiento, e hidrolizados que provienen de una etapa de pretratamiento con ácidos o bases, seguida de hidrólisis enzimática.

Palabras clave: Biohidrógeno; BioH₂;

Biorresiduos; Lignocelulósico; Fermentación;

Sacarificación; Hidrólisis; Microorganismos.

Abstract

Hydrogen can be produced from biological and non-biological sources. There are a number of production pathways for hydrogen; these are categorized by color according to feedstocks, power source and technique used in the production process. Biohydrogen refers to the hydrogen obtained from biogenic sources (for instance biogases and biomass). It can be produced via a range of production technologies. Dark fermentation, photo-fermentation, bio-photolysis and microbial electrolysis are examples of the biological processes which can be used. To achieve economically competitive biological hydrogen production, it is crucial to consider inexpensive materials such as lignocellulosic substrate residues derived from agroindustrial activities. It is possible to use lignocellulosic raw materials, lignocellulosic materials after a pretreatment step, and hydrolysates originating from a pretreatment step followed by enzymatic hydrolysis.

Keywords: Biohydrogen; BioH₂; Bioresidues; Lignocellulosic; Fermentation; Saccharification; Hydrolysis; Microorganism.

1. Introducción

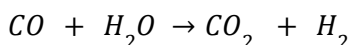
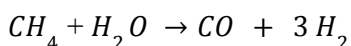
El creciente efecto negativo que tiene la utilización de fuentes de energía provenientes del petróleo en el calentamiento global ha impulsado políticas enfocadas en el desarrollo verde, resiliente e inclusivo, tendiente a reducciones mensurables de los gases de efecto invernadero GEI.

A lo largo de los últimos años se han buscado nuevas alternativas que garanticen el abastecimiento de energía en el mundo. En este contexto, el uso de hidrógeno como molécula transportadora de energía de alta capacidad (120-142 MJ/kg) presenta un gran interés debido a que es uno de los elementos que más abundan en la naturaleza [1]. El uso de este combustible en motores de combustión interna puede mejorar la eficiencia térmica y reducir, considerablemente, las emisiones de GEI [2]. Sin embargo, el mismo no se encuentra disponible como H₂ puro, sino que está presente formando otras sustancias como agua e hidrocarburos, entre otras, habilitando su producción a partir de numerosos compuestos.

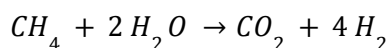
A lo largo del capítulo se presentan los diversos procesos para generar hidrógeno con especial énfasis en aquellos tendientes a la producción de biohidrógeno (bioH₂).

1.1 Metodologías de producción de hidrógeno y clasificación por color

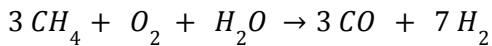
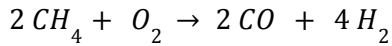
Actualmente, el método más utilizado para producir hidrógeno es el reformado de metano con vapor, también conocido como reformado con vapor de gas natural o SMR, donde el gas natural se calienta con vapor de agua a alta presión y temperatura en presencia de un catalizador a base de níquel [3]. Durante este proceso se genera el llamado "gas de síntesis" el cual está compuesto por hidrógeno y monóxido de carbono; éste último reacciona con el agua para generar dióxido de carbono:



La reacción global del proceso es:



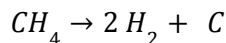
El reformado de metano también puede llevarse a cabo mediante la oxidación parcial del mismo, seguido por el reformado autotérmico. Para ello, se mezcla metano con oxígeno o aire a fin de obtener gas de síntesis, impulsando el reformado con vapor gracias al calor producido durante la oxidación. Por lo tanto, el gas de síntesis reacciona con el agua y produce más hidrógeno:



Otro método utilizado en la producción de este combustible es la electrólisis del agua, en el que se disocia la molécula de agua en H_2 y O_2 mediante el uso de una corriente eléctrica y pueden utilizarse diferentes tipos de electrolizadores. Hoy en día, la técnica más desarrollada es la electrólisis alcalina, donde los iones de hidróxido transportan la corriente de un electrodo a otro de la celda electrolítica.

Otra tecnología desarrollada, pero en menor medida, es la electrólisis de membrana de intercambio de protones (PEM), en la cual los protones transportan la corriente eléctrica. Por otro lado, se encuentran los electrolizadores de óxido sólido (SOE), que constan de una membrana sólida cerámica que presenta una alta conductividad del electrolito y requiere altas temperaturas [4].

Asimismo, es posible obtener hidrógeno a partir de hidrocarburos mediante otras técnicas como la pirólisis de hidrocarburos [5]. En este caso, no hay liberación de CO_2 debido a que el metano (o hidrocarburo empleado) se transforma en H_2 y carbono sólido, mediante descomposición térmica en ausencia de oxígeno:



Otro método utilizado es la gasificación de carbón, el cual es impulsado por el uso de vapor y oxígeno o aire, permitiendo producir grandes cantidades de gas natural sintético.

Por otra parte, el hidrógeno puede obtenerse por medio de procesos biológicos como la biofotólisis, la foto-fermentación y la fermentación oscura. Estos métodos son llevados a cabo por diferentes tipos de microorganismos, a partir de la ruptura de agua o fermentación de materia orgánica en presencia o ausencia de luz solar según el caso, como se describe en la sección 1.2.

Según el método de producción y el tipo de energía utilizados, el hidrógeno se clasifica en diferentes colores como se ve en la Figura 1.

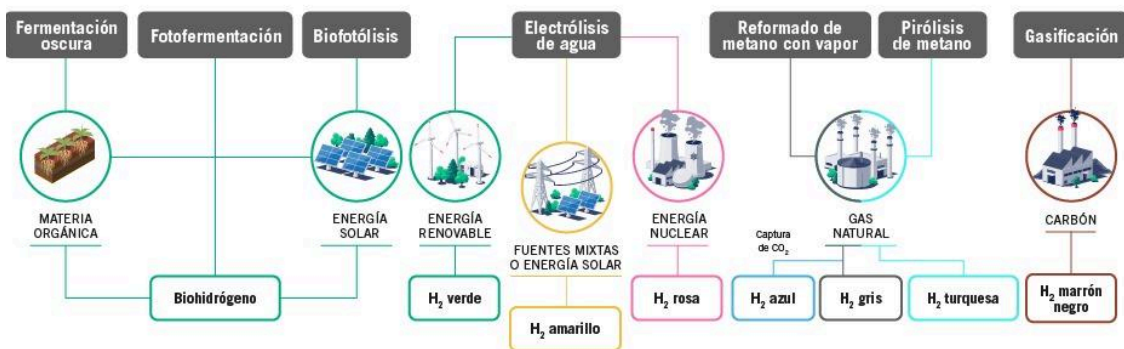


Figura 1. Métodos de producción de H₂, fuentes de energía asociadas al proceso y clasificación por color.

Cuando el hidrógeno se obtiene a partir de la gasificación del carbón se clasifica como hidrógeno marrón o negro, este proceso libera CO₂ a la atmósfera siendo el método más contaminante [6].

El hidrógeno gris es el sintetizado a partir de gas natural mediante reformado de metano con vapor y, en este caso, el CO₂ también es liberado a la atmósfera. El hidrógeno azul se obtiene de la misma manera que el hidrógeno gris, pero capturando el CO₂ generado, mientras que mediante pirólisis de metano se obtiene el hidrógeno turquesa.

Al llevar a cabo la electrólisis de agua se obtienen distintos tipos de hidrógeno según la fuente de energía utilizada, como el hidrógeno amarillo, el rosa y el verde. De esta manera, el hidrógeno amarillo es el producido al realizar la ruptura de agua utilizando fuentes de energía mixtas y es llamado de la misma manera que al obtenido por energía solar. Cuando se utiliza energía eléctrica proveniente de la energía nuclear, el hidrógeno sintetizado es clasificado como rosa y, el obtenido a través del uso de fuentes renovables es llamado hidrógeno verde.

Otro tipo de hidrógeno, considerado un subtipo de hidrógeno verde, es el biohidrógeno, el cual se obtiene de fuentes biogénicas y es sintetizado por diversos tipos de microorganismos, con y sin luz solar, según la metodología utilizada.

1.2 Biohidrógeno: ¿qué es y cómo se obtiene?

Tanto al hidrógeno producido a partir de recursos biológicos, tales como biomasa o biogás, como al hidrógeno obtenido mediante una transformación biológica llevada a cabo por microorganismos se les denominan biohidrógeno [7, 8].

Mediante procesos biológicos se produce biohidrógeno a partir de biofotólisis, fotofermentación o fermentación oscura, según el tipo de fuente de energía que emplean los microorganismos para llevar a cabo su metabolismo. De esta manera, si la fuente utilizada es la energía solar se dice que ocurre por vía fotobiológica; mientras que, si

obtiene la energía de la liberación de electrones durante la descomposición de materia orgánica, se considera que ocurre por vía fermentativa.

La producción de hidrógeno mediante fermentación oscura permite la utilización de una amplia variedad de materia prima, tales como azúcares sencillos, residuos alimenticios, biomasa lignocelulósica, glicerol, entre otros. Este proceso mediado por microorganismos no requiere de energía solar y ocurre en ausencia de oxígeno. Según el microorganismo empleado sigue diferentes rutas metabólicas, transformando la materia orgánica en diferentes ácidos grasos produciendo hidrógeno. Este método de producción de biohidrógeno es considerado un proceso prometedor por sus altos rendimientos a hidrógeno y debido al uso de materiales de desecho orgánicos y fuentes renovables de biomasa lignocelulósica.

Como se mencionó anteriormente, también es considerado biohidrógeno el producido a partir de métodos químicos en los cuales se utilizan recursos biológicos como materia prima. De esta manera, se genera biohidrógeno mediante métodos termoquímicos, como la gasificación y pirólisis de biomasa y el reformado de biometano o biogás, así como también por procesos bioelectroquímicos, tales como la electrólisis microbiana, donde las bacterias oxidan sustancias orgánicas transfiriendo electrones al ánodo.

2. Bioprocesos utilizados en la obtención de biohidrógeno

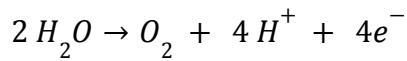
En esta sección se introducirá la obtención de hidrógeno a partir de procesos biológicos que emplean células procariontas y/o eucariotas como biocatalizadores, aprovechando su maquinaria enzimática y optimizando las condiciones de cultivo para lograr los mejores rendimientos en el metabolito de interés. Es interesante destacar que estos rendimientos se alejan del máximo teórico esperable para cierto bioproceso, ya que la célula priorizará su propio mantenimiento y reproducción (producción de biomasa) a la síntesis de metabolitos secundarios, como el biohidrógeno.

Se han estudiado una variedad de bioprocesos a partir de los cuáles obtener hidrógeno como se discutió en la sección anterior. Éstos se clasifican de acuerdo a las reacciones involucradas, enzimas que las catalizan y fuentes de carbono y energía que emplean. A continuación, se desarrollan aspectos generales de cada una de ellas.

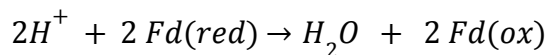
2.1. Biofotólisis

La biofotólisis, o ruptura de la molécula de H_2O durante la fotosíntesis, es un proceso en el cual la energía solar es transformada en energía química. Microorganismos autótrofos eucariotas, como las microalgas verdes *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella* y *Scenedesmus*, y autótrofos procariontas, como las cianobacterias *Anabaena variabilis*, *Nostoc punctiforme* y *Synechocystis* sp., catalizan estos bioprocesos, entre los que

se distinguen la biofotólisis directa e indirecta [9]. La reacción neta que describe a ambas puede representarse como:

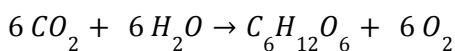


En la *biofotólisis directa*, los electrones generados por la ruptura de la molécula de H₂O mediada por energía solar son transferidos a través del fotosistema II y el fotosistema I de la célula hacia el transportador Ferredoxina (Fd), que a continuación reduce a la enzima hidrogenasa presente en los cloroplastos celulares [7], responsable de la generación de H₂:

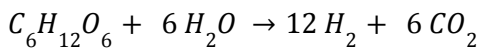


Alternativamente, en la *biofotólisis indirecta*, la energía solar es transformada en energía química contenida en los carbohidratos (fase luminosa de almacenamiento), que luego son utilizados por las bacterias y microalgas para el funcionamiento celular (fase oscura de crecimiento) [7], con formación concomitante de biohidrógeno:

Fase I de almacenamiento:



Fase II de crecimiento:



La principal ventaja de la biofotólisis es la abundancia, ubicuidad y bajo costo de su sustrato, el agua. La biofotólisis indirecta es además virtuosa en términos de fijación de CO₂, pudiendo acoplarse a procesos de emisión de este gas de efecto invernadero y reducir su impacto negativo en el ambiente.

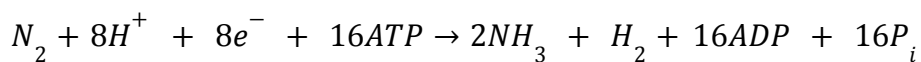
Sin embargo, muchos son los puntos a considerar en su aplicación a escala industrial. Por un lado, dado el requerimiento permanente de energía solar, el diseño de los fotobiorreactores debe contemplar una amplia relación superficie/volumen de cultivo. Por otro lado, las enzimas hidrogenasas que catalizan la biofotólisis directa son sensibles al O₂ que se acumula en las células durante el proceso. Esto condiciona la velocidad del intercambio gaseoso dentro de los biorreactores, que deben garantizar una veloz eliminación del oxígeno. En cuanto a la biofotólisis indirecta, aún no se han superado las limitaciones metabólicas que restringen la capacidad fotosintética microbiana dedicada a la síntesis de H₂ a un máximo del 10% [7].

Para abordar estas problemáticas, el enfoque biotecnológico propone el diseño de condiciones de cultivo limitantes en nitrógeno para conducir el metabolismo en favor de la

obtención de H₂ frente al crecimiento microbiano. Por su lado, la ingeniería metabólica concentra esfuerzos en el diseño de microorganismos y enzimas con mayor tolerancia al O₂ y mayor tasa de conversión a H₂. Aún con todos los avances tecnológicos logrados, la producción de biohidrógeno a partir de biofotólisis tiene rendimientos muy inferiores a los que pueden obtenerse por la vía fermentativa.

2.2 Foto-fermentación

La foto-fermentación tiene en común con la biofotólisis el requerimiento de la energía solar como catalizador, pero a diferencia de ésta, es llevada a cabo por microorganismos heterótrofos de los géneros *Rhodobacter* y *Rhodospseudomonas*, también denominados bacterias púrpuras (PNS, del inglés "purple non-sulfur") [7]. Estos microorganismos oxidan ácidos orgánicos como el acético, láctico y butírico a través del ciclo de Krebs para obtener CO₂ y electrones, que luego se utilizan en la fijación de N₂ en forma de NH₃ en un proceso mediado por energía solar que genera H₂ como metabolito secundario. Las enzimas que lo catalizan se denominan nitrogenasas y son sensibles al O₂, mas no lo generan, a diferencia de las enzimas involucradas en la biofotólisis. La reacción catalizada por la nitrogenasa puede representarse del siguiente modo:



Entre las dificultades asociadas al escalado de la foto-fermentación, debe considerarse la baja actividad catalítica de las nitrogenasas, su reducida eficiencia fotoquímica y la inhibición de su expresión por acumulación del producto, NH₃. Además, el proceso requiere de fotobiorreactores que optimicen el acceso a la luz solar. Como ventajas, la utilización de ácidos orgánicos como sustrato refleja la versatilidad de estos sistemas para ser aplicados en una variedad de tratamientos de biorremediación y en esquemas integrados para potenciar la producción de biohidrógeno.

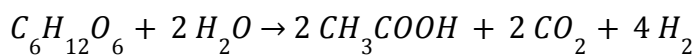
2.3 Fermentación oscura

El concepto reúne a un conjunto de reacciones del metabolismo microbiano que utiliza diversos sustratos orgánicos para dar origen a ácidos grasos de cadena corta y, en las condiciones adecuadas, biohidrógeno. El biocatalizador consiste en lodos microbianos donde co-existen bacterias anaerobias facultativas, como *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Escherichia coli* y *Citrobacter intermedius*, y anaerobias obligadas, como *Clostridium beijerinckii*, *C. paraputrificum* y *Ruminococcus albus*, entre otras [9]. Además de su potencial para generar energía limpia, la fermentación oscura es interesante como alternativa eco-compatible para el tratamiento de diversos desechos, entre los que se han estudiado las melazas subproducto de la industria azucarera, residuos lignocelulósicos agroindustriales, efluentes de lechería y otras industrias alimenticias con alto contenido de materia orgánica y el glicerol.

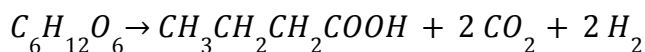
Los distintos microorganismos que componen los lodos biocatalíticos emplean diferentes vías fermentativas, pudiendo generalizarse dos grandes rutas. Por un lado, la catalizada por la enzima piruvato formato liasa, predominante en anaerobios facultativos, que transforma el piruvato en acetil-CoA y formiato, el cual es luego transformado en H₂ a través de la formato hidrógeno liasa. Por otro, la ruta facilitada en anaerobios obligados por la enzima piruvato ferredoxina oxidorreductasa, que cataliza la conversión de piruvato a acetil-CoA y CO₂ con reducción de la ferredoxina, que luego es restaurada a su forma oxidada con obtención de H₂. Estos bioprocesos ocurren a mayor velocidad de conversión que la biofotólisis y la foto-fermentación y con mayor rendimiento en H₂; sin embargo, este último puede verse desfavorecido por el desvío del flujo metabólico hacia la formación de otros metabolitos [7].

De forma global, la generación de ácidos grasos con producción (o consumo) de biohidrógeno a partir de glucosa puede representarse de la siguiente forma:

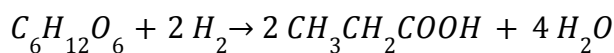
Ruta del ácido acético:



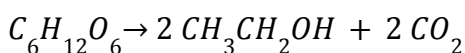
Ruta del ácido butírico:



Ruta del ácido propiónico:



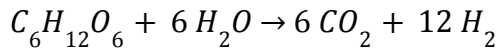
Ruta del etanol:



El empleo de consorcios microbianos tiene ventajas operativas, como la estabilidad del biocatalizador, la variedad de reacciones bioquímicas catalizadas, el evitar costosos procesos de esterilización del sistema y la posibilidad de proteger a los anaerobios obligados del impacto de fugas de aire gracias a la presencia de los anaerobios facultativos que toleren el O₂ presente. Sin embargo, es necesario regular la presencia relativa de bacterias productoras de ácido propiónico (que consumen H₂) y de bacterias productoras de etanol y lactato (que no producen ni consumen H₂) para optimizar la obtención de biohidrógeno [9].

2.4 Esquemas integrados

Si representamos la obtención de H₂ a partir de glucosa por vía fermentativa, podemos deducir que el rendimiento teórico en biohidrógeno es de 12 moles/mol glucosa [7]:



Sin embargo, los rendimientos reales vía fermentación oscura se reducen a 4 moles de H_2 /mol de glucosa (límite de Thauer), dados los desvíos a flujos metabólicos alternativos necesarios para el crecimiento y mantenimiento celular [1]. Este rendimiento reducido representa un problema sustancial para la aplicación del bioproceso en la obtención de biohidrógeno.

Una ingeniosa alternativa para mejorar el rendimiento implica el diseño de esquemas secuenciales integrados, donde los ácidos grasos subproducto de la fermentación oscura (etapa I) son reutilizados como sustrato de un segundo bioproceso (etapa II), con producción de más biohidrógeno y consumo de la fracción orgánica residual de la fermentación, mejorando tanto aspectos económicos como ecológicos del proceso. Se han propuesto diversos sistemas acoplados a la fermentación oscura, como la metanogénesis para la obtención de metano; la fermentación acidogénica para mejorar el rendimiento en H_2 ; los procesos anoxigénicos bajo limitación de nutrientes para la producción de bioplásticos; y el cultivo de algas heterotróficas para la síntesis de lípidos.

Retomando conceptos previos de esta sección, la fermentación oscura puede utilizar gran variedad de sustratos orgánicos y generar biohidrógeno y ácidos grasos como productos. Estos últimos son, a su vez, potenciales sustratos de la foto-fermentación, lo que permite proponer el diseño de un proceso secuencial para el tratamiento de biomásas residuales que, además, genere energía limpia en forma de H_2 . Esta interesante estrategia de fotofermentación (etapa II) acoplada a fermentación oscura (etapa I) logró rendimientos de 6,85 moles de H_2 /mol de hexosa utilizando melaza de remolacha como sustrato, valor muy superior al obtenido únicamente con fermentación oscura (4 moles H_2 /mol hexosa), y que representa un 57% del máximo teórico para la reacción [7].

Otro planteo de esquema integrado propone la utilización de *Celdas de Electrólisis Microbiana* (MEC, por sus siglas en inglés) como segunda etapa de obtención de biohidrógeno.

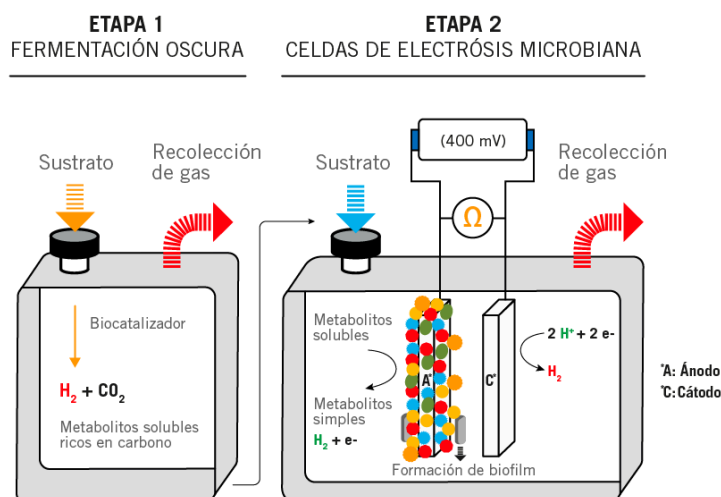


Figura 2. Esquema integrado de los procesos de fermentación oscura y electrólisis biocatalizada.

Las MEC, también conocidas como *celdas de electrólisis biocatalizada* o *electrofermentación*, emplean una variedad de sustratos para la obtención de H₂ con aplicación de un pequeño potencial externo. Estas celdas son capaces de lograr un 90% de eficiencia en la producción de biohidrógeno, dependiendo del tipo de microorganismos que utiliza, los materiales de electrodo, el tipo de membrana, la composición y concentración del sustrato y su diseño [9].

En esquemas integrados, como el ilustrado en la Figura 2, se comprobó la capacidad de estas celdas de generar H₂ a partir del subproducto rico en ácidos orgánicos de la fermentación oscura realizada sobre efluentes con diferentes cargas orgánicas (etapa I). Al operar la MEC con una pequeña rampa de potencial aplicado (0,2 a 1,1 V), empleando un sustrato de efluente rico en ácidos de 3000 mg/L y un consorcio microbiano como biocatalizador, lograron una velocidad máxima de producción de biohidrógeno de 0,53 mmol/h, con 49% de los ácidos grasos consumidos a 0,6 V de potencial aplicado [9].

3. Biorresiduos como materia prima de bioH₂

Según lo discutido en las secciones anteriores, el hidrógeno se produce a partir de combustibles fósiles, incluyendo gas natural, petróleo, nafta y carbón utilizando técnicas de reformado con vapor, pirólisis y gasificación, así como la electrólisis del agua. La producción de hidrógeno a partir de combustibles fósiles es no renovable y contribuye al calentamiento global. Aunque la electrólisis del agua podría ser un método limpio para generar hidrógeno, requiere una considerable cantidad de energía [10].

Sin embargo, la generación de hidrógeno a través de procesos biológicos que utilizan pilas de combustible microbianas, y procesos fermentativos, es considerada una fuente de energía verde. El H₂ generado por la vía fermentativa se realiza en condiciones suaves de reacción y permite la utilización de biorresiduos como materia prima. Los biorresiduos son aquellos provenientes de prácticas domésticas (residuos sólidos municipales), la industria alimenticia, agrícolas y forestales. Si bien, los residuos de origen orgánico representan una materia prima abundante y económica, requieren pretratamientos para su utilización en procesos fermentativos.

Las investigaciones de Sampaolesi *et al.*, en relación a la disponibilidad de biomasa lignocelulósica residual directa e indirecta en América del Sur, indican que Brasil y Colombia producen el 97% del total de la biomasa residual de la región, proveniente de las plantaciones de caña de azúcar [11]. Además, Argentina genera el 45% del total de la biomasa indirecta, seguida de Brasil, Perú, Chile y Paraguay. La principal fuente de estos residuos son los subproductos de la madera (43%) e industrias alimentarias (20% de caña de azúcar y 11% de té). Asimismo, cantidades significativas de los residuos agrícolas provienen de la soja y el maíz, ya que el continente produce el 50% y el 11% de la cosecha mundial de estos cultivos, respectivamente. El mayor contenido de celulosa en los residuos de eucalipto y sauce (49%), entre los residuos leñosos, junto con sus bajos niveles de

lignina, los hace más adecuados para la deslignificación y explotación como materia prima en biorrefinerías de hidrógeno.

3.1 Biomasa lignocelulósica residual

La generación de biohidrógeno por fermentación oscura o por fotofermentación, requiere materias primas ricas en carbohidratos y ácidos orgánicos, respectivamente. En general, el mecanismo involucrado en los procesos fermentativos se fundamenta en la conversión bioquímica de glucosa en H_2 , CO_2 y ácidos orgánicos como se comentó en la sección 2.3.

La biomasa lignocelulósica está constituida fundamentalmente por celulosa, un polímero de glucosa y el heteropolisacárido denominado hemicelulosa. Además, posee lignina que constituye el componente más complejo y recalcitrante a la deconstrucción, siendo la principal barrera para el acceso de los biocatalizadores. Es así que requiere pretratamientos para lograr la disponibilidad de azúcares fermentables [12].

Los métodos de pretratamiento físico incluyen el tratamiento térmico, la exposición a vapor a temperatura y presión elevada seguida de despresurización (explosión por vapor), congelación y descongelación, radiación de microondas, ultrasonicación, radiación gamma, y molienda. Asimismo, se han desarrollado varias tecnologías de pretratamiento químico aplicadas tanto a los inóculos como a los sustratos que mejoran el rendimiento a biohidrógeno. Los agentes utilizados en el pretratamiento químico incluyen: ácidos, álcalis, inhibidores de microorganismos metanógenos como el sulfonato de 2-bromoetano (BES) y el ácido 2-bromoetanosulfónico (BESA); tratamiento de oxidación con ozono, cloroformo, yodopropano y acetileno. Por su parte, los pretratamientos biológicos son más eficaces y eco-compatibles que los convencionales debido a su menor consumo energético. Las endoglucanasas, celobiohidrolasas y glucosidasas hidrolizan la celulosa (proveniente de la biomasa pretratada) en unidades de glucosa, los componentes clave para la fabricación de biocombustibles y bioproductos [11]. Los cócteles enzimáticos con actividad hidrolítica se obtienen a partir de hongos basidiomicetos y son producidos por unas pocas empresas y comercializados a nivel mundial.

En general, los residuos lignocelulósicos requieren la combinación de metodologías de pretratamiento físicos y químicos, seguido de una etapa de sacarificación enzimática. En este contexto hay tres posibles procedimientos dependiendo que el pretratamiento, la hidrólisis y la fermentación, se realicen por separado o en el mismo reactor, como se muestra en la Figura 3 [13].

La sacarificación de la biomasa puede realizarse en las condiciones óptimas de la hidrólisis en un reactor y luego el hidrolizado (compuesto mayormente por pentosas y hexosas) se transfiere a otro reactor en el cual se lleva a cabo la fermentación tendiente a la generación de $bioH_2$.

Otra opción es la sacarificación y la fermentación en el mismo reactor, lo que reduce los costos y el tiempo de operación. En ambos casos, las enzimas celulolíticas se cultivan en una etapa independiente que resulta la más costosa del proceso.

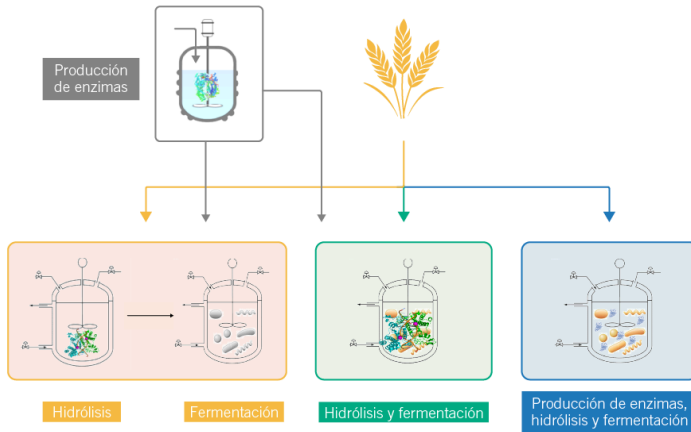


Figura 3. Representación esquemática de las metodologías de hidrólisis y fermentación de biomasa lignocelulósica para la generación de biohidrógeno.

En este sentido, el diseño de un proceso integrado de producción de enzimas, sacarificación y fermentación en un solo paso, presenta ventajas en términos económicos. Las metodologías integradas utilizan un consorcio de microorganismos termófilos capaces de degradar celulosa y hemicelulosa, y a su vez producir hidrógeno [13].

La Tabla 1 muestra el efecto de los pretratamientos en el rendimiento a hidrógeno. Los estudios que comparan el rendimiento a bioH₂ a partir de biomasa con y sin tratamiento, como es el caso de los residuos de trigo y arroz, evidencian claramente que es necesaria la deconstrucción de la materia prima antes del proceso de fermentación para aumentar el rendimiento [14, 15]. Los pretratamientos con ácidos o álcalis seguido de la hidrólisis enzimática son métodos muy eficaces para sacarificar sustratos lignocelulósicos. Sin embargo, dependiendo del tipo de sustrato y las condiciones de pretratamiento empleadas, los hidrolizados pueden inhibir la producción fermentativa de H₂. El tratamiento con ácido diluido a temperatura elevada, si bien es eficiente para la sacarificación de hemicelulosa, provoca la generación de formiatos, acetatos, furfural e hidroximetilfurfural que inhiben la actividad de los microorganismos durante la fermentación y disminuyen la producción de H₂.

El tallo de maíz es la biomasa lignocelulósica más estudiada como sustrato para la producción de H₂. El rendimiento promedio en biohidrógeno usando un hidrolizado es 5,93 mmol de H₂/g de sustrato, que es superior al que ofrece esa biomasa sin tratamiento (2,17 mmol de H₂/g de sustrato) y pretratada con ácido o base (4,00 mmol de H₂/g de sustrato), respectivamente.

Tabla 1. Efecto del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica en la producción de hidrógeno.

Materia prima	pretratamiento	Rendimiento (mmol H ₂ /g sustrato)	Ref.
Bagazo de caña de azúcar	H ₂ SO ₄	1,73 ^a	14
	H ₃ PO ₄ + enzimas	1,08 ^a	
	Alcalino + hidrólisis enzimática	0,96 ^a	
	NaOH + celulasas	13,4	
	biológico	0,733	15
Paja de trigo	Ninguno	0,41-1,59	14
	HCl	3,04	
	Hidrotérmico 180 °C	7,36 ^b	
	Ácido + enzimático	5,56	
	Ozono + hidrólisis enzimática	3,2	
Rastrojos de maíz	H ₂ SO ₄ + vapor	0,73	14
	Digestión ácida con microondas	0,68	15
	Hidrolizado enzimático	8,78-9,17 ^c	
Paja de arroz	Ninguno	0,78-2,3	14
	NH ₃ + H ₂ SO ₄	2,70	15
	Alcalino + hidrólisis enzimática	0,76 ^a	
	Biológico	6,42	
Tallos de maíz	Ninguno	2,17	15
	Alcalino	5,69	
	HCl	5,90	

H ₂ SO ₄	6,44
Enzimático	4,01
Hidrólisis fúngica	3,28
Ácido + Hidrólisis enzimática	8,58

14

^a Rendimiento en términos de mol H₂/mol azúcares

^b Rendimiento en términos de mmol H₂/mol azúcares

^c Rendimiento en términos de mmol H₂/g azúcares

En general, el pretratamiento biológico proporciona el mayor rendimiento en comparación con los que involucran ácidos o álcalis. Asimismo, el rendimiento a bioH₂ de los hidrolizados, obtenidos de una etapa de pretratamiento e hidrólisis enzimática, es menor en comparación con el rendimiento de sustratos pretratados por métodos biológicos únicamente, demostrando que es importante evitar la formación de inhibidores generados por sustancias químicas.

Conclusiones

La producción de biohidrógeno es ecológica en comparación con otros métodos de producción de hidrógeno. Además, tiene el potencial de reemplazar a los combustibles fósiles convencionales sin liberar gases de efecto invernadero. La tecnología para generar biohidrógeno a partir de biomasa, depende de la naturaleza y del pretratamiento del sustrato. Esta última, es una etapa relevante que afecta el rendimiento de biohidrógeno. Si bien los métodos biológicos pueden ser más ecológicos y rentables en comparación con otros métodos físicos y químicos, aún se necesita una investigación más amplia para explotar el potencial de los enfoques combinados de pretratamiento. En este contexto, un método integrado debe orientarse a mejorar la hidrólisis del sustrato de forma rápida, rentable y con bajo consumo de energía.

Referencias

- [1] J. Xuan, L. He, W. Wen, Y. Feng, "Hydrogenase and Nitrogenase: Key Catalysts in Biohydrogen Production", *Molecules*, vol. 28, 1392, 2023.
- [2] B. Shadidi, G. Najafi, T. Yusaf, "A Review of Hydrogen as a Fuel in Internal Combustion Engines", *Energies*, vol. 14, 6209, 2021.
- [3] J. Kilner. "Hydrogen production methods and its colours". CICenergiGUNE. Acceso: 15 de julio de 2024. [Online]. <https://cicenergigune.com/en/blog/hydrogen-production-methods-colours>
- [4] J. A. Serván Sócola, Optimización de diseño y dimensionamiento de matriz de generación fotovoltaica para sistema de producción de hidrógeno mediante electrólisis del agua. Piura: Facultad de Ingeniería, 2024.
- [5] J. Riley, C. Atallah, R. Siriwardane, R. Stevens, "Technoeconomic analysis for hydrogen and carbon Co-Production via catalytic pyrolysis of methane", *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 46, pp. 20338-20358, 2021.
- [6] M. Pasteris, A. Lorin, M. Decorte, A. Clinkscales, G. Lourinho, K. Bienert, P. Zambaldi, K. Guerrero, D. Bonse, P. Foody, C. Dubois, M. Köttner, M. Antonini, "Hydrogen in Europe," en: Decarbonising Europe's hydrogen production with biohydrogen. Bruselas, Bélgica, 2023, pp. 8-11.
- [7] P. Doménech Martínez, "Tecnologías de producción de hidrógeno basadas en métodos biológicos". Ciemat, Madrid, España, Inf. téc.1481, Dic. 2020.
- [8] M. Pasteris, A. Lorin, M. Decorte, A. Clinkscales, G. Lourinho, K. Bienert, P. Zambaldi, K. Guerrero, D. Bonse, P. Foody, C. Dubois, M. Köttner, M. Antonini, "Biohydrogen production technologies" en: Decarbonising Europe's hydrogen production with biohydrogen. Bruselas, Bélgica, 2023, pp. 12-18.
- [9] K. Chandrasekhar, Y.-J. Lee, D.-W. Lee, "Biohydrogen production: strategies to improve process efficiency through microbial routes", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, pp. 8266-8293, 2015.
- [10] E. M. Chandran, E. Mohan, "Sustainable biohydrogen production from lignocellulosic biomass sources-metabolic pathways, production enhancement, and challenges", *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 30, pp. 102129-102157, 2023.
- [11] S. Sampaolesi, L. E. Briand, M. C. N. Saparrat, M. V. Toledo, "Potential of biomass waste valorization: Case of South America", *Sustainability*, vol. 15, 8343, 2023.
- [12] H. Singh, S. Tomar, K. A. Qureshi, M. Jaremko, P. J. Rai, "Recent advances in biomass pretreatment technologies for biohydrogen production", *Energies*, vol. 15, 999, 2022.
- [13] S. K. Bathia, S. S. Jagtap, A. A. Bedekar, R. K. Bhatia, K. Rajendran, A. Pugazhendhi, Ch. V. Rao, A. E. Atabani, G. Kumar, Y.-H. Yang, "Renewable biohydrogen production from lignocellulosic biomass using fermentation and integration of systems with other energy generation technologies", *Sci. Total Environ.*, vol. 765, 144429, 2021.
- [14] V. Reginatto, R. Vasconcellos Antônio, "Fermentative hydrogen production from agroindustrial lignocellulosic substrates", *Braz. J. Microb.*, vol. 46, 323-335, 2015.
- [15] R. Saha, B. Bhattacharya, M. Mukhopadhyay, "Enhanced production of biohydrogen from lignocellulosic feedstocks using microorganisms: A comprehensive review", *Energy Convers. Manage.: X*, vol. 13, 100153, 2022.

AUTORES

oooooooooooo

Paula S. Mateos

47 N° 257, La Plata, Argentina
stefaniamateos@quimica.unlp.edu.ar
<http://www.cindeca.quimica.unlp.edu.ar>

Licenciada en Química y Doctora en
Química de la Facultad de Ciencias Exactas
de la UNLP

Becaria posdoctoral de CONICET y Jefa de
Trabajos Prácticos en la cátedra de
Química Orgánica

Sofía Sampaolesi

47 N° 257, La Plata, Argentina
sampaolesi@quimica.unlp.edu.ar
<http://www.cindeca.quimica.unlp.edu.ar>

Es Licenciada en Biotecnología y Biología
Molecular y Doctora de la Facultad de
Ciencias Exactas de la UNLP (2020)

Egresada de la carrera de Especialización en
Docencia Universitaria de la UNLP (2019)

Actualmente se desempeña como becaria
posdoctoral en el campo de la catálisis
química y como Jefa de Trabajos Prácticos
de la Cátedra de Introducción a la
Química y Química General

Laura E. Briand

47 N° 257, La Plata, Argentina
briand@quimica.unlp.edu.ar
<http://www.cindeca.quimica.unlp.edu.ar>

Licenciada en Química de la UNL y Doctora
de la Facultad de Ciencias Exactas
de la UNLP

Profesora Adjunta de la Facultad de
Ciencias Exactas
Investigadora Principal de CONICET

Autora de 88 publicaciones científicas en
revistas internacionales, 3 libros, 10
capítulos de libros y 7 patentes de
invención en tecnologías catalíticas