

Longitud de onda: Efecto sobre el crecimiento de la *chlamydomonas reinhardtii* y la producción de hidrógeno

L. Cruz, M. Gómez, F. Lugo y C. Torres

L. Cruz, M. Gómez, F. Lugo y C. Torres
Universidad Politécnica de Altamira
Carretera Tampico - Mante, entronque con Libramiento Corredor Industrial km. 1.5, Altamira, Tams.
mario.gomez@upalt.edu.mx

M. Ramos., V. Aguilera., (eds.) .Ciencias Naturales y Exactas, Handbook -©ECORFAN- Valle de Santiago, Guanajuato, 2013.

Abstract

The hydrogen in our planet is the tenth more abundant element in the terrestrial crust. The versatility of the hydrogen in the power sector puts to its favor to great part of the potential consumers of the area of the transport. The cells that use hydrogen as energy produces few polluting emissions. Hydrogen and oxygen can be obtained as a result of the photolysis from water and solar light. In addition some microorganisms like the algae (*Chlamydomonas reinhardtii*) green are used (fotocatalizadores). The algae requires of a time of anaerobic incubation in the dark to induce the synthesis or the activity of involved enzymes in the metabolism of hydrogen, like hydrogenases reversible and irreversible. The algae canalizes the production of two protons ($2H^+$) to gaseous hydrogen (H_2). In first stage, the reproduction of the algae under controlled conditions to assure its growth and conservation like generating hydrogen. Later the algae were implanted in a bioreactor, where not only they produced hydrogen, but also that the algae consume more carbon dioxide del that they generate, obtaining like result combustible hydrogen on small scale of safe and clean way.

18 Introducción

La energía es vital para la prosperidad global, con todo la dependencia de los combustibles fósiles como nuestra fuente de energía primaria contribuye al cambio de climático, la degradación ambiental, y a los problemas de salud (Levin, 2004; Bockris, 2002). La búsqueda de recursos energéticos alternativos se ha vuelto necesaria por las preocupaciones medioambientales y políticas asociadas al consumo de los combustibles fósiles. (Weaver et al., 1980; Benemann, 1996; Hansel and Lindblad, 1998).

El hidrógeno es el elemento más abundante del Universo. Representa, en peso, el 92% de la materia conocida; del resto, un 7% es de He y solamente queda un 1% para los demás elementos. En nuestro planeta es el 10° elemento más abundante en la corteza terrestre. Lo encontramos combinado en forma de agua (su compuesto más abundante; cubre el 80% de la superficie del planeta), materia viva (hidratos de carbono y proteínas; constituye el 70% del cuerpo humano), compuestos orgánicos, combustibles fósiles (petróleo y gas natural), etc. (Contreras et. al, 2008, Matthew et. al, 2004).

Algunas bacterias y algas verdes bajo ciertas condiciones biológicas de producir H_2 . Sin embargo, la producción de hidrógeno a través de algas verdes fotolíticas plantea una serie de interrogantes e incógnitas relativas al desarrollo de reactores biológicos; de explotación a alta escala (miles o millones de hectáreas); de modificaciones genéticas para mejorar eficiencias (después de todo, las algas buscan su desarrollo mientras que para esta tecnología su desarrollo es totalmente innecesario) y de validación de los conocimientos científicos y empíricos pertinentes a la fotosíntesis en condiciones extrañas a la operación típica de estos microorganismos (Contreras et. al, 2008; Forestier et. al. 2003).

La habilidad de las algas verdes de producir hidrógeno molecular ha atraído el interés de la comunidad científica durante los pasados 60 años debido a la importancia del proceso fundamental y práctico del proceso.

En la naturaleza bajo condiciones fisiológicas relevantes, la actividad fotosintética de las algas verdes, la “hidrogenasa” era solamente transcendental en éste nivel (Anastasios, 2002).

Se ha confirmado que bajo ciertas condiciones de limitación de nutrientes, con un medio libre de azufre (como sulfato) y en condiciones anaerobias, algunas microalgas como *Chlamydomonas reinhardtii* son capaces de producir hidrógeno de manera sostenida en el tiempo (Contreras et. al, 2008; Matthew et. al, 2004; Schulz R., 1996; Vignais, 2001). El hidrógeno se puede quemar o utilizar con tecnologías de la celda de combustible. Varios microorganismos, incluyendo *Chlamydomonas reinhardtii*, se consideran prometedores como productores de H₂.

El hidrógeno se puede producir a partir del agua por cuatro métodos principales: Método termoquímico, Electrólisis, Fotofermentación y Fotólisis. El Método por Fotólisis. Cuando las moléculas de agua absorben energía a partir de radiación ultravioleta en principio el hidrógeno puede ser liberado. Algunos fotocatalizadores son usados para absorber luz visible y luego transmitir la energía de apropiada longitud de onda e intensidad a las moléculas de agua para liberar los gases constituyentes. Este proceso se conoce con el nombre de fotólisis. Como fotocatalizadores se pueden usar algunos compuestos de sal, semiconductores, algas verdes y/o rojas, algunas bacterias fotosintéticas, etc. Hace más de 60 años se descubrió que un alga verde microscópica —cuyo nombre científico es *Chlamydomona reinhardtii* y que todos conocemos como el verdín de los estanques— puede descomponer el agua en hidrógeno y oxígeno en condiciones de laboratorio. Recientemente se logró aumentar de manera importante el rendimiento de este proceso, a tal punto que una empresa de Berkeley, California, entendió que era el momento de intentar comercializar el hidrógeno producido mediante este método (Anastasios, 2002; Greenbaum, 1988; Ley, 1982).

Un bioreactor de algas tiene ventajas seguras, dice Hankamer. No sólo producirían energía renovable, sino que además las algas consumen más dióxido de carbono del que generan. Además tienen la ventaja sobre otras energías renovables, que no ocupan superficies arables de terreno, porque los biorreactores pueden ubicarse incluso en áreas desérticas.

18.1 Método

La iniciación de este proyecto se distribuyó en dos etapas fundamentales, las cuales mencionamos el procedimiento de reproducción de las *Chlamydomona reinhardtii* hasta su producción de hidrógeno: Reproducción de las algas y la Producción de H₂.

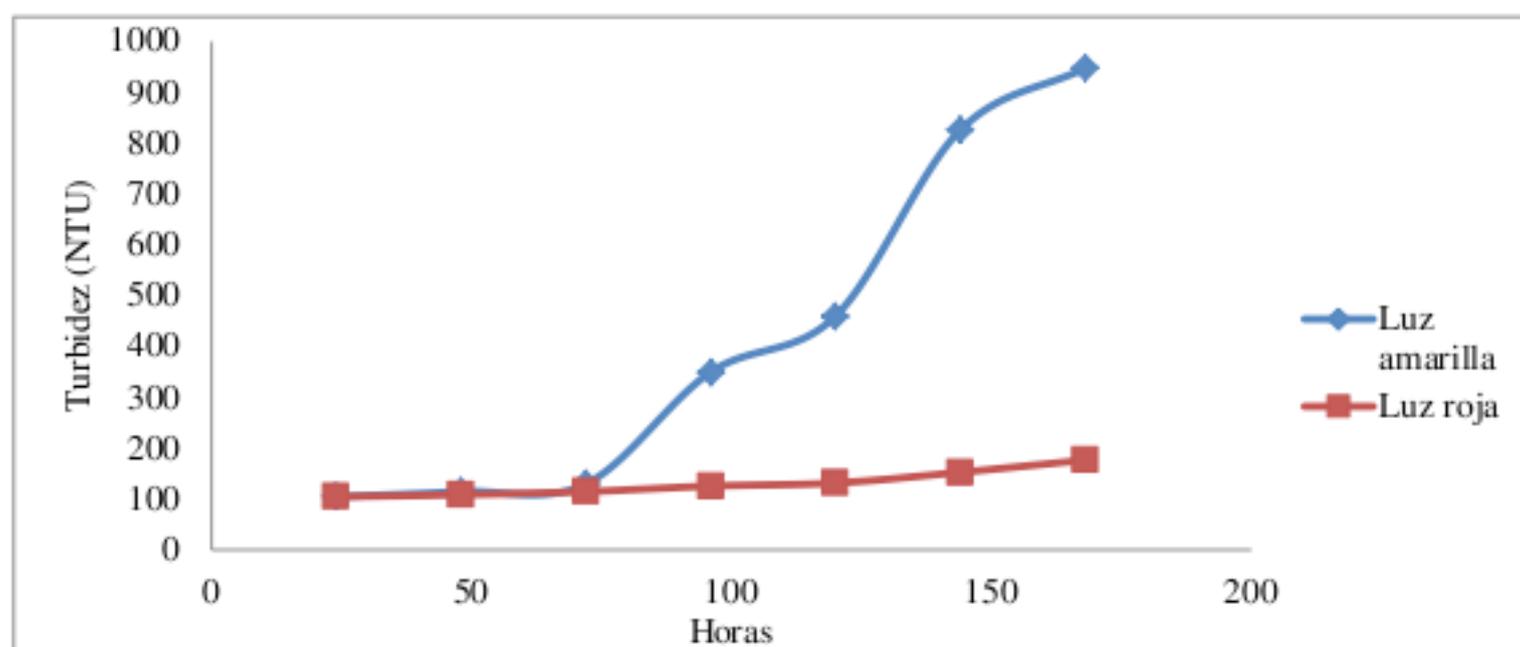
Reproducción. Se inició con pruebas en un matraz fondo plano de 100ml dentro de un vaso de precipitado, usando 40ml. del medio Sueoka con 4ml de algas. Posteriormente se aumento el tamaño a un Erlenmeyer de 500ml al igual que la producción, usando la misma cantidad de algas ya producidas se le agrega 400ml del medio Sueoka. Ya obtenida una mayor producción de algas se pretende elaborar un medio más grande para su mejor reproducción, elevando el medio de alimentación así como espacio y oxigenación.

Se procedió a experimentar la reproducción de algas a diferentes colores de luz; utilizando posteriormente un contenedor de vidrio reforzado con una capacidad de 20L de volumen. A ésta, se le agregaron 5L del medio Sueoka y las algas ya obtenidas. Esto con el fin de tener una mayor reproducción, para así poder hacer las pruebas necesarias para la mejor reproducción y producción de H_2 . Continuar la reproducción monitoreando los parámetros necesarios de temperatura, presión y pH. Producción de H_2 . Se realizó un estudio sobre producción de H_2 generado, donde se instaló en un soporte con pinza sosteniendo tubos de ensayo de 100ml boca abajo en un vaso de precipitado con agua, dentro de la probeta esta el conducto que llega directo del reactor donde la presión por el gas que desprende el reactor empuje el agua que se encuentra dentro de la probeta debido a su diferencia de densidades.

18.2 Resultados

Se monto un bioreactor de algas, cumpliendo con las especificaciones de inocuidad previo al cultivo, así como un sistema de bombeo de aire, control de la temperatura y pH del medio, para una vez establecido esto someterse a dos ambientes fotoreactivos, según lo descrito en el desarrollo experimental (Tsygankov et al, 2002). Se realizaron las mediciones de turbidez. En la figura 18. se observa el crecimiento de las algas utilizando una lámpara de luz roja y luz amarilla. Es claramente apreciable como el mayor crecimiento celular de las micro-algas corresponda a la luz amarilla. Durante las primeras 72 horas se observa un comportamiento muy semejante con el uso de las distintas lámparas empleadas, siendo el punto crítico después de las 72 horas, donde despunta el crecimiento de la población algarea, mientras la luz roja no ofrece un gran desempeño para esta fase.

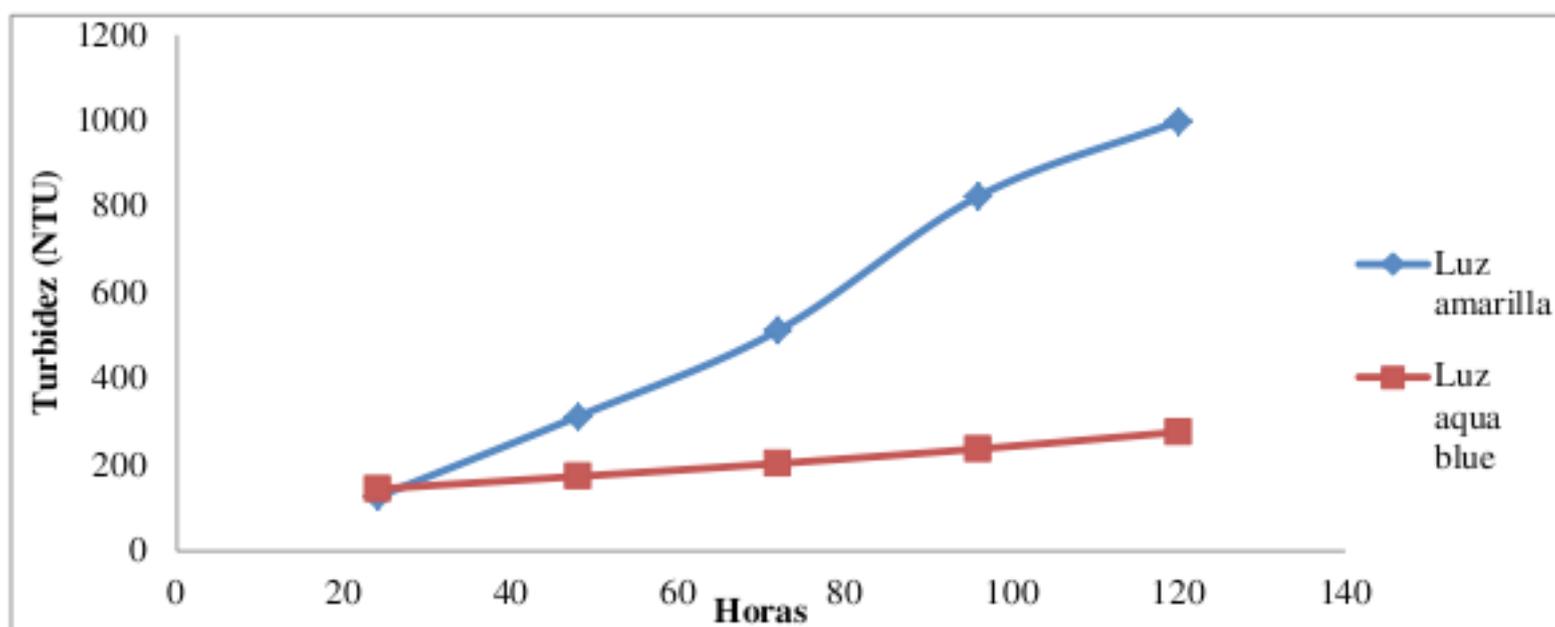
Gráfico 18. Comparación de reproducción de algas expuestas con luz amarillo vs luz roja



Posteriormente se realizó una nueva comparación de la luz amarilla vs. la luz azul. La nueva fuente radiante azul fue el inicio de la etapa de reproducción, donde se observaron también favorables resultados en cuanto a reproducción celular.

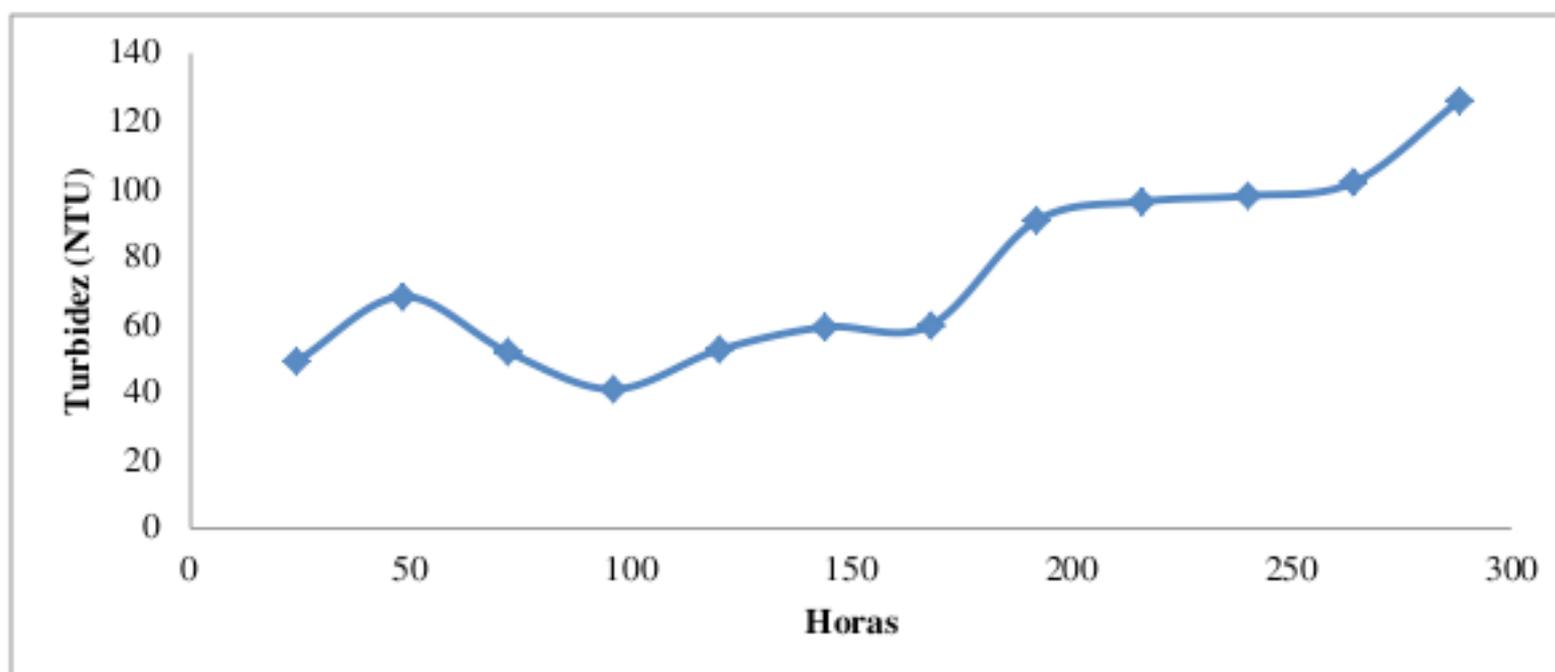
En la figura 18,18.1, el desarrollo es similar al de la figura 18 al ser la luz amarilla la que ofrece un mayor desarrollo de las microalgas al recordar que la longitud de onda es la más cercana a la luz solar idónea para este propósito. La luz aqua blue, aunque de menor intensidad que la amarilla, mostró un mejor desarrollo que el revelado por la luz roja debido a su longitud de onda. Se puede observar que la turbidez en la figura 18,18.2, después de las 72 horas, hacia las 96 horas de la inoculación, presenta un incremento en la turbidez, a pesar de efectuar un mezclado con aire.

Grafico 18.1 Comparación de reproducción de algas expuestas con luz amarillo vs aqua blue



Además, se logra apreciar que dentro de las primeras 48 horas aparece un primer máximo en la turbidez, esto coincide también con las investigaciones de Tsygankov et al, 2002, donde reportan un aumento en la generación de hidrógeno dentro de éste intervalo de tiempo. El comportamiento posterior de la turbidez se presenta de manera escalonada cada 24 a 72 horas después de un período de estabilidad.

Grafico 18.2 Turbidez del medio de reproducción



18.3 Discussion

Es bien sabido que las algas requieren de luz para crecer y su versatilidad de adaptación al medio las hace posibles de llevar a cabo su cultivo natural con luz solar, por medio de luz artificial, o ambas. Dado que las microalgas son un grupo diverso de microorganismos fotosintéticos de estructura simple lo que permite el rápido crecimiento celular y por lo tanto una gran producción de sí mismas como biomasa productora de hidrógeno, el éxito de esta capacidad de reproducción además del control de las variables del medio de crecimiento dependen del color de la luz de cultivo, en otras palabras de la energía de la longitud de onda, además del diseño del biorreactor, el cual debe ser capaz de aprovechar la emisión de la luz para irradiar. Entonces para que la luz artificial sea de utilidad en el proceso fotosintético de las microalgas, los fotones generados deben encontrarse a una longitud de onda de entre los 600 y 700 nm, longitudes de onda que corresponden a las estudiadas en esta investigación. Adicional al diseño del biorreactor para optimizar la captación de la luz, su capacidad de aislamiento del medio ambiente exterior que puede alterar la tasa de crecimiento de las algas, éste debe ser diseñado de manera que su limpieza requiera ser realizada en períodos largos de tiempo, sin afectar por mucho su detención en la reproducción de las algas.

18.4 Conclusiones

Se debe poner especial atención en la selección de la luz a utilizar durante la reproducción y generación del hidrógeno al estar en constante monitoreo en el laboratorio, donde la luz natural resulta ser escasa. Para abatir el impedimento del paso de la luz originado por el propio desarrollo de la *Chlamydomonas reinhardtii*, es necesario asegurar la agitación del medio, utilizando medios físicos como un sistema de inyección de aire o agitación mecánica de manera que las microalgas reciban la cantidad necesaria de energía radiante.

Los cultivos de algas produjeron hidrógeno entre las 48 y las 72 horas después de su inoculación en el bioreactor. La generación de hidrógeno tuvo lugar en un intervalo de temperaturas entre 25 y 32 grados centígrados.

18.5 Referencias

Anastasios, M., (2002), Green alga hydrogen production: progress, challenges and prospects, *International Journal of Hydrogen Energy*, Department of Plant and Microbial Biology, University of California at Berkeley, , USA, pp. 1 – 12.

Bockris JO'M., (2002), The origin of ideason a hydrogen economy and itss olution to the decay of the environment, *Int. J. Hydrogen Energy*, 27, pp. 731–40.

Contreras et al., (2008), Potencial de algas verdes para la producción fotobiológica de hidrógeno, Instituto Tecnológico de Santo Domingo, República Dominicana, *Ciencia y Sociedad*, Vol. XXXIII, Núm. 3, julio-septiembre, pp. 307-326.

Forestier M., et al, (2003), Expression of two [Fe]-hydrogenases in *Chlamydomonas reinhardtii* under anaerobic conditions, *Eur. J. Biochem.*, 270, pp. 2750–2758 .

Greenbaum E., (1988), Energetic efficiency of H₂ photoevolution by algal water-splitting, *Biophys J.*, 54:365–8.

Hansel, A., and Lindblad, P., (1998), Towards optimization of cyanobacteria as biotechnologically relevant producers of molecular hydrogen, a clean and renewable energy source, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50, 153–160.

Levin D. B., et al., (2004), Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application, *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 173 – 185.

Ley A.C., Mauzerall DC., (1982), Absolute absorption cross sections for photosystem II and the minimum quantum requirement for 45 photosynthesis in *Chlorella vulgaris*, *Biochim Biophys Acta*, pp. 95–106.

Matthew C. et al., (2004), Hydrogen Photoproduction Is Attenuated by Disruption of an Isoamylase Gene in *Chlamydomonas reinhardtii*, *The Plant Cell*, Vol. 16, 2151–2163.

Schulz R., (1996), Hydrogenases and hydrogen production in eukaryotic organisms and cyanobacteria, *J. Mar Biotechnol*, 4:16–22.

Vignais P.N., Billoud B, Meyer J., (2001), Classification and phylogeny of hydrogenases, *FEMS Microbiol Rev*;25:455–501.

Weaver, P.F., Lien, S., and Seibert, M., (1980), Photobiological production, of hydrogen, *Sol. Energy*, 24, 3–45.

Tsygankov A., et al., (2002), Hydrogen photoproduction under continuous illumination by sulfur-deprived, synchronous *Chlamydomonas reinhardtii* Cultures, *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, pp. 1239 – 1244.

