

Influencia del dióxido de carbono y fotoperiodo en la producción de biohidrógeno por *Arthrospira jenneri* "espirulina" en fotobiorreactor solar

Priscilla Seijas Bernabé¹; Segundo Seijas Velásquez³; Nadia Seijas Bernabé⁴

¹Instituto de Investigación en Ciencias e Innovación Tecnológica (IICITEC), ³Facultad de Ingeniería-Universidad Nacional de Trujillo, ⁴Instituto de Investigación en Ciencias e Innovación Tecnológica (IICITEC).

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo principal determinar la influencia de dióxido de carbono y fotoperiodo en la producción de biohidrógeno en un fotobiorreactor solar empleando la cianobacteria "espirulina". El estudio se inició con la instalación del fotobiorreactor solar de tipo tubular en el que se llevó a cabo la etapa de cultivo de la espirulina y la producción de hidrógeno. Las variables independientes fueron: Concentración de CO₂ (% v/v) y fotoperiodo (horas luz/horas oscuridad) y como variable dependiente: producción de H₂ (mL de H₂ /mg . h). La evaluación de la producción de hidrógeno se realizó por método indirecto de desplazamiento del agua. Además, se determinó la densidad celular en tricomas /mL. La mayor producción de biohidrógeno fue de 1,78 mL de H₂/mg.h con una densidad celular de 198 891 tricomas/mL mientras que la menor producción de H₂ con 0,452 mL fue de H₂/mg.h con una densidad celular de 122 250 tricomas/mL. Se concluye que la concentración de CO₂ y el fotoperiodo influyen de manera inversamente proporcional en la producción de biohidrógeno de "espirulina" cultivada en fotobiorreactor solar.

Palabras clave: Biohidrógeno, fotobiorreactor solar, espirulina, fotoperiodo, dióxido de carbono.

ABSTRACT

The present research had for major objective to determine CO₂ and photoperiod influence in biohydrogen production using spirulina, produced in a solar photobioreactor. The study began with the installation of the solar tubular photobioreactor in which was carried out the stage of cultivation of the spirulina and the production of hydrogen. The independent variable were : CO₂ concentration and photoperiod and depend variable: Production of H₂ (mL of H₂/mg .h). The evaluation of hydrogen production was measured for indirect displacement method of the water. Besides, its evaluated microalgal growth using parameter: Cellular Density (tricommas /mL). Obtained than the optimal biohidrógeno's production was 1,78 mL of H₂/mg .h with 198 891 tricommas/mL (cellular density) while that lesser production H₂ was 0,452 mL of H₂/mg .h, obtained 122 250 tricommas/mL. Its concluded than concentration CO₂ and photoperiod influence of inversely proportional mode biohydrogen production of spirulina grown in solar photobioreactor.

Keywords: Biohydrogen, solar photobioreactor, spirulina, photoperiod, carbon dioxide.

I. INTRODUCCIÓN

La sustitución de los combustibles denominados fósiles o tradicionales, derivados del petróleo, por otros que provengan de fuentes no convencionales, cobra una gran importancia en nuestros días debido tanto a los problemas ambientales - producto de la emisión de gases con efecto invernadero (CO₂, NO_x, etc.) producidos en la combustión de combustibles fósiles, como al eventual agotamiento de sus fuentes (Esper *et al.*, 2006: 543; Seijas y Salgado, 2006: 64).

Al respecto, el uso de hidrógeno es una fuente alterna atractiva por su numerosas ventajas incluyendo la de ser limpia ambientalmente, liberar grandes cantidades de energía por unidad de peso en combustión, su producto final es agua y es transportable (relación peso por unidad de energía es muy baja, a diferencia de las baterías eléctricas), a parte de su capacidad de renovación. Por ello el hidrógeno es considerado como una energía futura deseable a producir, por diversos procesos tales como electrólisis de agua, reformación termocatalítica de compuestos ricos en hidrógeno y procesos biológicos. La producción biológica de hidrógeno (biohidrógeno), una nueva área excitante de la biotecnología es casi libre de contaminación, ya que los otros métodos, emplean técnicas que requieren aún combustibles fósiles (Melis y Happe, 2001:740; Seijas y Salgado, 2006:65). Esta tecnología incluye los siguientes procesos: reacción de intercambio gaseoso (water-shift-reaction), fermentación oscura, foto-fermentación y biofotólisis. A pesar que la foto-fermentación es uno de los procesos donde se obtiene una alta productividad de hidrógeno un aspecto crítico es que al final produce dióxido de carbón por lo que diversos autores consideran que la tecnología con mejores perspectivas sería la que se basa en el proceso de biofotólisis puesto que, aparte de producir el gas hidrógeno tiene como subproducto el oxígeno el cual tiene mayor utilidad industrial y no produce perjuicio al ambiente (Hallenbeck y Benemann, 2002: 1185).

La producción de hidrógeno por biofotólisis, también citada como fotodisociación biológica del agua, se refiere a la conversión de agua y energía solar (utilizada) a hidrógeno y oxígeno usando microorganismos, comúnmente microalgas y/o cianobacterias, principalmente fotoautótrofas. Dentro de este proceso hay dos tipos: la biofotólisis directa y la indirecta, siendo esta última de una mayor productividad que la primera (Apt y Behrens, 1999: 215; Tamagnini *et al.*, 2002:1).

La biofotólisis indirecta se basa en la utilización de la energía solar para la fotodisociación del agua y la consecuente transferencia de electrones en una cadena transportadora ubicada en estructuras como los tilacoides, tanto para cianobacterias como para microalgas. En este proceso fotosintético el CO₂ es fijado a sustratos ricos en hidrógeno endógeno generando luego hidrógeno molecular cuando estos microorganismos se incuban en condiciones anaerobias (Apt y Behrens, 1999: 216; Hallenbeck y Benemann, 2002: 1186; Tamagnini *et al.*, 2002:2).

En el proceso se requiere un sistema de fotobiorreactores de cultivo inicial para la fotosíntesis normal y otro sistema aparte para la generación de hidrógeno (Apt y Behrens, 1999: 217; Axelsson y Lindblad, 2002:444; Tamagnini *et al.*, 2002:3). Este proceso ha sido estudiado por cerca de tres décadas y se ha revelado que la eficiente fotoconversión de agua en hidrógeno es influenciada por muchos factores, siendo la intensidad de luz, el fotoperiodo así como los niveles de oxígeno y dióxido de carbono en el medio de cultivo los más importantes. Además, otro aspecto crítico relacionado a la producción de hidrógeno son las especies de cianobacterias involucradas en el proceso (Apt y Behrens, 1999 : 218; Hallenbeck y Benemann, 2002: 1187).

Un número de cepas de cianobacterias han sido estudiadas por su potencial para producir grandes cantidades de hidrógeno, tales como *Anabaena variabilis* y diversas especies de *Nostoc*, *Anabaena cylindrica*, *Synechocystis* y *Gloeocapsa* han mostrado el potencial para la producción de hidrógeno (Appel *et al.*, 2000: 333; Borodin *et al.*, 2000:478; Gabel y Tsoglin, 2000:1; Hahn *et al.*, 2004:989; Antal y Lindblad, 2005: 98;).

La cianobacteria del género *Arthrospira* produce biohidrógeno por biofotólisis indirecta; que en algunos países son cultivadas comercialmente a gran escala para la obtención de productos en la industria alimentaria, farmacológica y cosmética (Pelizer *et al.*, 2002:251; Carlozzi y Pinzani, 2005:675; Seijas y Salgado, 2007: 121).

La producción de biohidrógeno necesariamente se debe realizar en biorreactores y no en estanques abiertos con la finalidad de coleccionar el producto (Pelizer *et al.*, 2002: 252). La luz es un parámetro esencial para el crecimiento cianobacterial y el biorreactor debe incorporar algún tipo de fuente de luz; a este tipo de reactores que se denominan fotobiorreactores. Todos los fotobiorreactores requieren de una adecuada entrada de luz, la cual usualmente es solar pero en algunos fotobiorreactores tienen otras fuentes de luz artificiales, las que deben ser controladas para una óptima producción. La producción del hidrógeno tiende a disminuir a mayores intensidades de luz porque la fotosíntesis desvía la ruta de producción de hidrógeno; de aquí que el régimen de luz (fotoperiodo) debe ser controlado (Ogbonna y Tanaka, 2000:207; Mund *et al.*, 2001: 327; Claassen y Lier, 2005:741). Otro factor que afecta la producción de H₂ es el requerimiento de nutrientes en

especial de la fuente de carbono ya sea añadida en el medio empleando bicarbonato de sodio o en dióxido de carbono, siendo considerado ambos parámetros como los puntos críticos para una óptima producción de hidrógeno, por lo que deben ser controlados y estudiados durante el proceso de fermentación con la finalidad de alcanzar una alta eficiencia.

En base a los antecedentes antes mencionados que muestran lo promisorio que sería producir hidrógeno como energía no convencional, se realizó el presente estudio que tuvo por objetivo principal determinar la influencia del dióxido de carbono y el fotoperiodo en la producción de hidrógeno biológico empleando para ello a la cianobacteria *Arthrospira jenneri* "espirulina" cultivada en un fotobiorreactor.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 OBJETO DE ESTUDIO

Material biológico: *Arthrospira jenneri* "espirulina".

Muestra biológica y preparación de cultivo inicial

Las muestras de *Arthrospira jenneri* "espirulina", fueron recolectados de los humedales de Chou-Chou del distrito de Salaverry -La Libertad (Enero-Marzo 2010).

Para realizar el respectivo cultivo de la microalga espirulina se empleó un sustrato económico y alternativo como la vinaza la cual se obtuvo de las empresas DESTILERIAS UNIDAS S.A.C, Cartavio-La Libertad (Perú) en un volumen de 18 L. En el laboratorio se mantuvo en un recipiente herméticamente cerrado y sellado ubicado en un ambiente oscuro a 25 ± 2 °C (fig 1 y 2).

El medio de cultivo contenía 2% de vinaza aforado con agua potable, además se les añadió 2,6 g de NaHCO_3/L y después se estandarizó a un pH de 8,5. El medio se mantuvo agitado y aireado de manera permanente, y se iluminó por lámparas fluorescentes de luz blanca de 40 watt (320 lux) a temperatura de 25 ± 2 °C y 45 % humedad relativa promedio.



Fig. 1. Sistema productor de biohidrógeno empleando espirulina cultivada en vinaza.



Fig. 2. Observación de *Arthrospira jenneri* "espirulina" a 150x empleando microscopía óptica.

2.2 MEDIOS

Equipos e instrumentos

- Fotobiorreactor solar tipo tubular y sistema activo.
- Espectrofotómetro de UV marca HEWETT PACKARD
- Balanza analítica marca SARTORIUS, 200 g. y sensibilidad $\pm 0,0001$ g.
- Kid de laboratorio, para mediciones de reactivos y proteínas
- Centrífuga de 13000 r.p.m
- Balón de vidrio marca PIREX
- Microscopio óptico NIKON
- Termómetro de mercurio de -5 °C a 110 °C marca PYREX.

2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS

El método empleado para obtener los parámetros óptimos de dióxido de carbono y fotoperiodo fue el diseño factorial considerando como variables independientes:

Concentración de CO₂ (% v/v); fotoperiodo (h.luz/h.oscuridad)

Se empleó 06 niveles para cada variable (tabla 1) y como variable dependiente se tomó: Producción de H₂ (mL de H₂/mg .h).

Tabla 1. Esquema de los seis grupos experimentales empleados

	B1	B2	B3
A1	A1B1	A1B2	A1B3
A2	A2B1	A2B2	A2B3
A3	A3B1	A3B2	A3B3

Dónde:

A= concentración de CO₂: A1:0,05 % v/v; A2:0,15 % v/v; A3: 0,25 % v/v

B= Fotoperiodo: B1: 8 /16 h; B2: 10 /14 h; B3 : 12 / 12 h.

Implementación del sistema experimental

El sistema experimental estuvo conformado por nueve recipientes de vidrio cada uno correspondía para cada tratamiento como se detalla en la tabla1, además de instalar un sistema de agitación y aireación. Después del periodo de pruebas y determinar cuál fue el grupo experimental en donde se obtuvo los parámetros óptimos de proceso, se diseñó e instaló un fotobiorreactor tubular solar de 620 mL de capacidad y de vidrio Pyrex (fig 3.), en el cual se realizó el cultivo de la cianobacteria espirulina y la producción respectiva del biohidrógeno y donde se realizó los ensayos experimentales con los parámetros óptimos que se obtuvieron en la primera fase de pruebas.



Fig. 3. Instalación del Fotobiorreactor tubular solar.

Evaluación de la producción de hidrógeno (mL de H₂/mg.h)

Después de instalar el sistema experimental, se procedió a realizar la determinación de la concentración de biohidrógeno en el medio de cultivo y la toma de datos semanalmente. Luego, después de un periodo de 40 días de cultivo se procedió a cosechar la biomasa, empleando filtros de 80 mm. Luego, se determinó la producción de la biomasa según la densidad celular. Se realizó por método indirecto de desplazamiento del agua. El gas hidrógeno fue drenado a través de una siringa colocada en la salida del fotobiorreactor, ya que las burbujas de este gas se emanan hacia la superficie del líquido del medio, por lo que a través de un tubo de teflón se colectaron hacia una bureta invertida y se midió por el método antes mencionado.

Evaluación de la producción de biomasa de espirulina

El número de tricomas fue determinado por observaciones en microscopio compuesto a 100 X. Se tomó una alícuota de 10 µl de muestra de cada tratamiento y se colocó en una lámina portaobjeto, abarcando todo el cubre objeto de tal manera que se cuente en su totalidad. Este conteo fue realizado cada siete días durante tres semanas. El promedio de conteos se reporta en tricomas /mL.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados con respecto a la producción de hidrógeno y densidad celular por *A. jenneri* "espirulina" en los nueve grupos experimentales durante veinticuatro semanas cultivada en vinaza al 2% (tablas 1-9).

Tabla 1. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A1 B1 (CO₂: 0,05 % v/v y fotoperiodo 8/16 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg . h)
1	10 230	0.35
4	38 230	0.78
8	50 306	0.105
12	95 550	0.210
16	120 658	0.456
20	160 859	0.786
24	190 231	1.56

Tabla 2. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A1 B2 (CO₂: 0,05 % v/v y fotoperiodo 10/14 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg . h)
1	10 558	0.48
4	30 250	0.69
8	48 310	0.95
12	75 500	0.156
16	92 750	0.185
20	110 920	0.396
24	130 180	0.568

Tabla 3. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A1 B3 (CO₂: 0,05 % v/v y fotoperiodo 12/12 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg . h)
1	10 600	0.51
4	28 670	0.65
8	45 920	0.82
12	72 650	0.142
16	88 520	0.165
20	103 920	0.186
24	122 250	0.452

Tabla 4. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A2 B1 (CO₂: 0,15 % v/v y fotoperiodo 8/16 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg .h)
1	10 540	0.44
4	40 030	0.82
8	46 326	0.108
12	96 150	0.235
16	122 157	0.481
20	174 051	0.806
24	198 891	1.78

Tabla 5. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A2 B2 (CO₂: 0,15 % v/v y fotoperiodo 10/14 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg .h)
1	10 301	0.375
4	29 880	0.665
8	46 110	0.93
12	73 540	0.152
16	90 520	0.168
20	108 728	0.378
24	128 700	0.581

Tabla 6. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A2 B3 (CO₂: 0,15 % v/v y fotoperiodo 12/12 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg .h)
1	10 402	0.379
4	25 110	0.61
8	43 107	0.85
12	68 502	0.138
16	88 890	0.155
20	105 457	0.286
24	125 131	0.569

Tabla 7. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A3 B1 (CO₂: 0,25 % v/v y fotoperiodo 8/14 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg .h)
1	10 328	0.34
4	24 830	0.587
8	40 096	0.80
12	65 550	0.136
16	84 980	0.146
20	100 989	0.189
24	121 731	0.548

Tabla 8. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A3 B2 (CO₂: 0,25 % v/v y fotoperiodo 10/14 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg .h)
1	10 130	0.35
4	23 180	0.55
8	39 105	0.75
12	62 950	0.120
16	82 668	0.136
20	98 159	0.176
24	119 201	0.548

Tabla 9. Producción de hidrógeno por *A. jenneri* "espirulina" y densidad celular en el grupo experimental A3 B3 (CO₂: 0,25 % v/v y fotoperiodo 12/12 h) durante veinticuatro semanas

Nº de Semana	Densidad Celular (tricomas /mL)	Producción de hidrógeno (mL de H ₂ /mg .h)
1	10 270	0.378
4	23 100	0.53
8	37 175	0.73
12	60 300	0.116
16	79 708	0.129
20	96 789	0.147
24	117 784	0.529

El grupo A2B1 en cuyo tratamiento se empleó concentración de CO₂: 0,15 % v/v y fotoperiodo 8/16 h, fue donde se logró obtener una mayor producción de gas H₂ (1,78 mL de H₂/mg.h). Además, se

obtuvo una mayor densidad celular (crecimiento microalgal) con 198 891 tricomas/mL. Mientras que el grupo A1B3 con el tratamiento: CO₂: 0,05 % v/v y fotoperiodo 12/12 h, fue el grupo donde se obtuvo la menor producción de H₂ (0,452 mL de H₂/mg .h) y una densidad celular de 122 250 tricomas/mL.

La concentración de dióxido de carbono y el fotoperiodo fueron los puntos críticos al realizar el cultivo de espirulina destinado para la producción de biohidrógeno ya que actuaron de manera inversamente proporcional a diferencia del efecto de esos parámetros sobre la producción de biomasa, pues actuaron de forma directa en el crecimiento de estos organismos expresado en el aumento de la densidad celular.

La producción de hidrógeno por las cianobacterias como espirulina se basa en la utilización de la energía solar para la fotodisociación del agua y la consecuente transferencia de los electrones a través de una cadena transportadora, ubicada en estructuras llamadas Tilacoides. En la membrana de estas estructuras está la serie de proteínas y compuestos que en último término transportan los electrones desde el agua hacia moléculas como NADH (Dinucleótido de Adenina y Nicotinamida) y el H₂ (Melis y Happe, 2001:741; Seijas y Salgado, 2006: 66).

Esta transferencia de electrones hacia la enzima reversible hidrogenasa, reduce los protones del hidrógeno, oxidando a la ferredoxina, que pasa de su estado reducido al estado oxidado. Las cianobacterias poseen varias enzimas involucradas directamente en el metabolismo del hidrógeno. En el caso de espirulina las enzimas más importantes que intervienen en este proceso, son las hidrogenasas bidireccionales que tienen la habilidad de oxidar y sintetizar hidrógeno en el medio acuoso que se encuentren (Apt y Behrens, 1999: 217; Tamagnini *et al.*, 2002:3).

Cabe resaltar que la cianobacteria como espirulina no tiene organelos celulares y toda la maquinaria fotosintética está ubicada en estructuras denominadas tilacoides. Esto es considerado una ventaja en el momento de la difusión del oxígeno y el hidrógeno para la producción de estos gases (Apt y Behrens, 1999: 224;Hallenbeck y Benemann ,2002: 1191).

Pero la producción del hidrógeno cianobacterial depende de diversos factores que en un fotobiorreactor está relacionada con la luz por lo que tiende a disminuir a mayores intensidades, porque la fotosíntesis desvía la ruta de producción de hidrógeno; de aquí que el régimen de luz (fotoperiodo) debe ser controlado, pues es responsable de una alta producción (Ogbonna y Tanaka, 2000: 208). Otro factor que interacciona conjuntamente con el fotoperiodo, es la cantidad de CO₂ como nutriente que se adiciona en el cultivo de la cianobacteria (Salgado, 2005).

Dentro de este contexto, se ha reportado que bajo ciertas condiciones de limitación de nutrientes (es decir bajas concentraciones de CO₂) en condiciones anaerobias, algunas microalgas como *Chlamydomonas reinhardtii* son capaces de producir hidrógeno de manera sostenida en el tiempo (Hallenbeck y Benemann ,2002: 1191). En el caso del presente estudio donde se empleó a la microalga *Arthrospira* "espirulina", las condiciones empleadas fueron aeróbicas , pues se evaluó producción de gas H₂ pero contrastando con el crecimiento microalgal determinando para ello la respectiva densidad celular, observándose que hubo mayor producción de H₂ en los grupos A1B1 con 1, 56 mL de hidrógeno/mg .h y 190 231 tricomas /ml y A2B1(tablas 1 y 4), 1,78 mL de hidrógeno/mg.h y 198 891 tricomas /ml considerándose este sistema el adecuado con los parámetros de fotoperiodo : 8/16 h y CO₂: 0,15 % v/v.

Si se contrastan los resultados, principalmente de las tablas 1 - 9 donde se observa que a medida que aumentaban las concentraciones de CO₂ y los ciclos de fotoperiodo, fue disminuyendo la producción de H₂ en el medio a excepción del sistema A2B1 donde se llegó a estabilizar.

Por lo que se señalará, además, que la producción de H₂ también depende del tipo de microalga que se emplee así como las condiciones en que se da el cultivo ya sea aeróbicas , anaeróbicas (o anoxigénicas) , pues tienen diferente comportamiento en el medio. Así, por ejemplo se reportó que *Anabaena cylindrica*, en cultivos continuos produjeron 30 mL de hidrógeno/L.h y la producción de hidrógeno continuó por un periodo de 7-19 días (Borodin *et al.*, 2000:483). Además, algunas cianobacterias unicelulares incluyendo cepas de *Synechocystis* y *Gloeocapsa* han mostrado el potencial para la producción de hidrógeno. *Gloeocapsa alpicola* especie cuyo proceso fermentativo reportó una productividad 1,6 mmol/L.h. mientras que *Synechocystis sp.* presentó 0,0078 mmol/L.h (Appel *et al.*, 2000: 336; Axelsson y Lindblad, 2002: 445; Antal y Lindblad ,2005:115).Cabe destacar

que condiciones anoxigénicas sobre los periodos de oscuridad tienen un efecto negativo en la producción de hidrógeno en estas especies (Gabel y Tsoglin,2000:1;Seijas y Salgado,2007:122).

Con respecto a lo reportado a otra especie de *Arthrospira*, la cepa *A. máxima* exhibe diversos atributos que contribuirían a un alto nivel basal de producción y control de H₂ tal como que el proceso es dependiente solamente de la hidrogenasa y la alta productividad fotosintética primaria (5,8 días de multiplicación, max.1,5 mg de peso seco celular/ml). Además se reportó que la producción fermentativa de H₂ por *A. máxima* bajo condiciones anaeróbicas oscura produjo 2,5 ml H₂/ mg.h para periodos continuos de 6 días a 23 °C. Esta tasa se incrementó aproximadamente el doble a 30 °C (Pelizer *et al.*, 2002: 255; Carozzi y Pinzani, 2005:682; Seijas y Salgado, 2007: 122).

Contrastando con los resultados obtenidos en esta investigación que fue 1,78 mL de hidrógeno/mg .h, siendo ligeramente menor debido a las diferentes condiciones brindadas ya que una fue anoxigénica mientras la que se realizó en este estudio fue de tipo aeróbico, pues no solo se realizó la producción de gas H₂ sino también el crecimiento microalgal (densidad celular) el cual se da principalmente en estas condiciones, siendo importante la determinación de este parámetro porque se le considera como un indicador para determinar la calidad de biomasa que se produce en el sistema.

IV. CONCLUSIONES

La concentración de dióxido de carbono y el fotoperiodo influyen de manera inversamente proporcional en la producción de biohidrógeno de "espirulina" cultivada en fotobiorreactor solar.

La mayor producción de biohidrógeno fue de 1,78 ml de H₂/mg.h siendo los parámetros óptimos del sistema: fotoperiodo: 8/16 h y concentración de CO₂: 0,15 % v/v.

AGRADECIMIENTOS

Al Blgo. Ludwig Salgado Rodríguez por su apoyo logístico y colaboración en la obtención del material biológico empleado en esta investigación.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTAL., T.K Y P. LINDBLAD. **Production of H₂ by sulphur-deprived cells of the unicellular cyanobacteria *Gloeocapsa alpicola* and *Synechocystis* sp. PCC 6803 during dark incubation with methane or at various extracellular pH.** *J. Appl Microbiol.* 2005; 98:114-120.
- APPEL., J.; S. PHUNPRUCH; K. STEINMULLER Y R. SCHULZ. **The bidirectional hydrogenase of *Synechocystis* sp. PCC 6803 works as an electron valve during photosynthesis.** *Arch. Microbiol.* 2000, 173: 333-338.
- APT., K. E Y P.W. BEHRENS. **Commercial developments in microalgal biotechnology.** *J. Phycol.* 1999; 35:215-226.
- AXELSSON., R Y P. LINDBLAD. **Transcriptional regulation of *Nostoc* hydrogenases: effects of oxygen, hydrogen, and nickel.** *Appl. Environ Microbiol.* 2002, 68:444-447.
- CLAASSEN., P; B. LIER, A. CONTRERAS; W. SIJTSMA; J. STAMS; S. VRIES Y R. WEUSTHUIS . **Utilization of biomass for the supply of energy carriers.** *Applied Microbiology Biotechnology.* 2005, 52: 741-755.
- CARLOZZI., P Y E. PINZANI. **Growth characteristics of *Arthrospira platensis* cultured inside a new close-coil photobioreactor incorporating a mandrel to control culture temperature.** *Biotechnol. Bioeng.* 2005; 90(6):675-684.
- BORODIN., V.B; A.A. TSYGANKOV; K.K RAO Y D.O. HALL. **Hydrogen production by *Anabaena variabilis* PK84 under simulated outdoor conditions.** *Biotechnol. Bioeng.* 2000, 69:478-485.

- ESPER.,B; A. BADURA Y M. ROGNER. (2006). **Photosynthesis as a power supply for (bio-) hydrogen production.** *TRENDS in Plant Science*.2006,11(11):543-549.
- GABEL., B Y L. TSOGLIN. **The semi-industrial photobioreactor. Abstracts of the 4th European workshop on biotechnology of microalgae.** Bergholz-Rehbrücke, Germany. 2000.
- HAHN., J.J; M.L. GHIRARDI Y W.A. JACOBY. **Effect of process variables on photosynthetic algal hydrogen production.** *Biotechnol. Prog.* 2004, 20: 989-991.
- HALLENBECK., P.C Y J.R. BENEMANN. **Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes.** *International Journal of Hydrogen Energy* 2002; 27:1185-1193.
- MELIS., A Y T. HAPPE. **Update On Hydrogen. Production.Hydrogen Production.** Green Algae as a Source of Energy. *Plant Physiol.* 2001; 127: 740-748.
- MUND., S; A. KREILOW; A. NOWOTNY Y U. EFFMERT. **Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria.** *International Journal of Hygiene and Environmental Health.* 2001; 203:327-334.
- OGBONNA., J.C Y H. TANAKA. **Light requirement and photosynthetic cell cultivation: development of processes for efficient light utilization in photobioreactors.** *J. Appl Phycol.* 2000; 12:207.
- PELIZER., L; J. CARVALHO; S. SATO Y I. DE OLIVEIRA. **Spirulina platensis growth estimation by pH determination at different cultivations conditions.** *Journal Biotechnology.* 2002; 5(3):251-257.
- SALGADO., L. **Vinaza como medio de cultivo alternativo en el crecimiento y producción de pigmentos de Arthrospira jenneri (Hassall) Stinzenberg "espirulina"** Tesis para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2005.
- SEIJAS., P Y L. SALGADO. **Hidrogeno Cianobacterial: Alternativa biotecnológica y ecológica de energía renovable.** Investigación -Desarrollo e Innovación I+D+I 2006; 21 (3): 64-69.
- SEIJAS., P.A Y L.E. SALGADO. **Nuevos Aspectos biotecnológicos y perspectivas en la investigación y producción de compuestos obtenidos del género Arthrospira "espirulina"**. *Sciendo* 2007; 10 (2): 121-134.
- TAMAGNINI., P; R. AXELSSON; P. LINDBERG; F. OXELFELT, R. WÜNSCHIERS Y P. LINDBLAD. **Hydrogenases and Hydrogen Metabolism of Cyanobacteria.** *Microbiol Mol Biol Rev.* 2002; 66(1): 1-20.