

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRÍCOLA



**EVALUACIÓN DEL ESTADO DE DESARROLLO DE LA
TECNOLOGÍA DE PRODUCCIÓN DE BIO-HIDRÓGENO
UTILIZANDO DESECHOS DE ALIMENTO**

KATHERINE VANESSA PAVEZ ULLOA

HABILITACIÓN PROFESIONAL
PRESENTADA A LA FACULTAD DE
INGENIERÍA AGRÍCOLA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AMBIENTAL

CHILLÁN-CHILE

2022

**EVALUACIÓN DEL ESTADO DE DESARROLLO DE LA TECNOLOGÍA DE
PRODUCCIÓN DE BIO-HIDRÓGENO UTILIZANDO DESECHOS DE
ALIMENTO**

Aprobado por:

Jose Fernando Reyes Aroca
Ing. Civil Metalúrgico, Ph. D.
Profesor asociado

Profesor guía

Pedro Aqueveque Muñoz
Profesor de Biología, Dr.
Profesor Asociado

Profesor asesor

Gastón Merlet Venturelli
Ingeniero de ejecución en Química, Dr.
Profesor Asistente

Profesor asesor

Marco López Roudergue
Ingeniero Civil Industrial, Mg. Sc.
Profesor Asistente

Director de departamento

María Eugenia Rodríguez
Ingeniera Agrónoma Ph.D.
Profesora Asociada

Decana

ÍNDICE DE MATERIAS

	Página
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. HIPÓTESIS.....	6
3. OBJETIVOS.....	6
3.1 Objetivo general.....	6
3.2 Objetivo específico.....	6
4. METODOLOGÍA.....	7
5. ANTECEDENTES GENERALES.....	8
5.1 Fermentación oscura.....	9
5.2 Foto fermentación.....	10
5.3 Biofotólisis.....	11
5.3.1 Biofotólisis directa.....	12
5.3.2 Biofotólisis indirecta.....	13
5.4 Parámetros en la producción de biogás.....	14
5.4.1 Microorganismos.....	15
5.4.2 Temperatura.....	18
5.4.3 pH.....	21
5.4.4 Tiempo de retención hidráulica.....	22
5.5 Índices técnicos de otros procesos de generación de bio hidrógeno.....	24
5.5.1 Electrólisis de agua.....	24
5.5.2 Gasificación.....	27
5.6 Índices de calidad del bio hidrógeno.....	28
5.7 Aplicabilidad de esta tecnología en Chile.....	31
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
6.1 Procesos tecnológicos fundamentales para la producción de biohidrógeno.....	41
6.2 Variables fundamentales en la producción de H ₂ para los métodos con mayor producción	46
6.3 Potencial de aplicación local de estas tecnologías.....	47
7. CONCLUSIONES.....	51
8. LITERATURA CITADA.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Actual demanda nacional de H ₂ en toneladas anuales.....	36
Figura 2.	Número de publicaciones referentes al bio hidrógeno, en función de las revistas en la plataforma Science Direct.	38
Figura 3.	Número de publicaciones referentes al biohidrógeno en función de las revistas citadas.....	39
Figura 4.	Número de publicaciones sobre bio hidrógeno en función de los años 2010 hasta 2021, desde la plataforma Science Direct.....	40
Figura 5.	Número de publicaciones sobre Bio hidrógeno en funciones de los autores.....	41
Figura 6.	Métodos de producción de hidrógeno en función del número de publicaciones realizadas desde la plataforma Science Direct.....	42
Figura 7.	Métodos de producción biológica de hidrógeno en función del número de publicaciones citadas.....	43
Figura 8.	Número de publicaciones sobre fermentación oscura, en función de los años en que se publicaron.....	44
Figura 9.	Número de publicaciones sobre foto fermentación en función de los años en que se publicaron.....	44
Figura 10.	Número de publicaciones sobre biofotólisis directa, en función de los años en que se publicaron.....	45
Figura 11.	Número de publicaciones sobre biofotólisis indirecta en función de los años en que se publicaron.....	45

Figura 12.	Número de publicaciones citadas sobre fermentación oscura en función de los parámetros más mencionados.....	46
Figura 13.	Número de publicaciones sobre Bio hidrógeno en función de los países.....	47

EVALUACIÓN DEL ESTADO DE DESARROLLO DE LA TECNOLOGÍA DE PRODUCCIÓN DE BIO-HIDRÓGENO UTILIZANDO DESECHOS DE ALIMENTO

EVALUATION OF THE STATE OF DEVELOPMENT OF BIO-HYDROGEN PRODUCTION TECHNOLOGY USING FOOD WASTE

Palabras claves: Bio-hidrogeno, producción de biohidrógeno, fermentación oscura, foto-fermentación, biofotólisis.

RESUMEN

El avance acelerado del cambio climático y sus efectos ha traído como consecuencia una mayor presión sobre las matrices ambientales, por lo que buscar nuevas formas de energía se hace primordial para ayudar a mitigar esos efectos; La generación de bio hidrógeno utilizando desechos de alimentos como sustrato se hace una buena alternativa, puesto que el biogás tiene aproximadamente 3 veces la capacidad energética que los combustibles a hidrocarburo, además de reducir significativamente las emisiones de gases de efecto invernadero.

En este estudio se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de ver el avance que el biohidrógeno ha tenido en los últimos 11 años, y es a raíz de esto que se obtuvo como resultado que el método con mayor posibilidad de ser aplicado a gran escala es el método de fermentación oscura, en donde según una serie de estudios analizados para este propósito, las bacterias del

género de las *Clostridium* son las que presentaron el mayor rendimiento en la producción del gas y aunque aún falta abaratar los costos del proceso para poder aplicar esta tecnología de manera masiva, el hecho de utilizar desechos de alimentos como sustrato para obtener energía genera interés de potencias mundiales como China y EE.UU, países que realizan la mayor cantidad de estudios referente a esta materia.

EVALUATION OF THE STATE OF DEVELOPMENT OF BIO-HYDROGEN PRODUCTION TECHNOLOGY USING FOOD WASTE

Keywords: Bio-hydrogen, biohydrogen production, dark fermentation, photo fermentation, biophotolysis.

ABSTRACT

The accelerated progress of climate change and its effects has resulted in greater pressure on environmental matrixes, so the search for new forms of energy is essential to help reduce these effects; The generation of bio hydrogen using food waste as a substrate is a good alternative, since biogas has approximately 3 times the energy capacity of hydrocarbon fuels, in addition to significantly reducing greenhouse gas emissions.

In this study, a bibliographic review was carried out with the objective of seeing the progress that biohydrogen has had in the last 10 years, it is as a result of this that it was obtained as a result that the method with the greatest possibility of being applied on a large scale is the dark fermentation method, where according to a series of studies analyzed for this purpose, bacteria of the Clostridium genus are the ones that appeared the highest yield in gas production and although the costs of the process still need to be lowered in order to apply this technology On a massive scale, the fact of using food waste as a substrate to obtain energy generates interest from world powers such as

China and the US, countries that carry out the largest number of reference studies on this matter.

1. INTRODUCCIÓN

El aumento en el número de la población mundial ha traído como consecuencia que la dependencia a las energías no renovables derivadas del petróleo aumente, generando así un daño directo al medioambiente y calidad de vida de las personas; Según el reporte mensual de la Comisión Nacional de Energía, la inyección de centrales de Energía Renovable No Convencional a la matriz durante el mes de diciembre de 2018 fue de 1.229 GWh, lo que corresponde a un 20% de la generación total, del cual 78 GWh fueron a partir de biomasa. (CNE, 2019). Debido a esto, las investigaciones y proyectos en el último siglo han estado enfocadas en buscar nuevas formas de energías que cumplan con la demanda, que sean más limpias, eficaces, y con un menor impacto a las matrices ambientales. Por lo tanto, la producción de biohidrógeno a partir de recursos biológicos renovables es una ruta atractiva para la producción de energía verde, debido a sus convincentes ventajas de relativa alta eficiencia, costo-efectividad y menor impacto ecológico. (Sun et al., 2019); Además debido a sus excelentes características, como tener la densidad de energía más alta entre otros combustibles y una limpieza completa después de la combustión, el hidrógeno ha atraído mucha atención como portador de energía. (Navlani et al., 2018).

El presente estudio tiene como objetivo hacer un análisis del estado de desarrollo tecnológico del biohidrógeno de la última década, para observar de forma concisa el avance que existe en esta materia, así también las ventajas y desventajas de esta tecnología y la aplicabilidad que presenta.

2. HIPÓTESIS

Existen tecnologías que permiten convertir los residuos de alimentos industriales y domiciliarios en biohidrógeno utilizando procesos biológicos.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Evaluar el estado de desarrollo de la tecnología de producción de Bio hidrogeno, a través de la revisión de publicaciones científicas.

3.2. Específicos

- Identificar los "procesos tecnológicos" más importantes en la producción de Biohidrógeno a partir de RA.
- Identificar las variables más importantes en la producción de Biohidrógeno de los dos métodos con mayor producción.
- Describir índices técnicos de otros procesos de generación de hidrógeno.
- Caracterizar índices de calidad del biohidrógeno generado a partir de RA.
- Evaluar potencial de aplicación local de estas tecnologías.

4. METODOLOGÍA

El propósito del siguiente trabajo es evaluar el estado del arte de las tecnologías de producción de bio hidrogeno a partir de residuos de alimentos domiciliarios e industriales, a través de la revisión de publicaciones científicas con la finalidad de obtener el método que presente las mayores ventajas en la producción de este gas.

Desde la plataforma de Science Direct y Scopus, se obtuvieron los datos de publicaciones que van desde los años 2010 a 2021; Para ello se utilizaron las herramientas de búsqueda que tiene la página usando palabras clave como "bio hidrogeno", "producción de bio hidrogeno", "hidrogeno fermentativo" entre otras, además se realizó una clasificación de las publicaciones citadas en el presente informe, con la finalidad de obtener una visión más objetiva en cuanto al desarrollo tecnológico que ha tenido el bio hidrógeno y el interés científico que actualmente posee.

Se tomó como base los procesos actuales que se utilizan en la producción biológica de hidrógeno, dando más enfoque a los métodos que tienen un mayor rendimiento y que poseen el mayor número de estudios. Posteriormente toda las publicaciones recabadas fueron clasificadas en función de la información que contenía para ser graficada y obtener de forma sintetizada los avances en esta materia.

5. ANTECEDENTES GENERALES

La fermentación microbiana de materia orgánica en condiciones anaeróbicas es actualmente la vía principal para la producción de biohidrógeno; Los desechos orgánicos son un sustrato de bajo costo que se usa comúnmente como materia prima para generar biohidrógeno. (Urbaniec y Bakker, 2015).

Los residuos alimentarios se usan comúnmente como materia prima en los sistemas de digestión anaeróbica para producir energía debido a sus características fisicoquímicas y biológicas confiables, como el contenido de humedad (75-90%), alta concentración de sustrato (demanda química de oxígeno (DQO): 19–346 g/L, contenido de carbohidratos: 25,5–143 g/L) y una proporción de alto contenido de carbono y nitrógeno (C:N) (14–37). (Karthikeyan et al., 2018).

En cuanto a los procesos biológicos mediados por microbios, estos tienen una ventaja significativa en términos de su temperatura y presión de funcionamiento, y la capacidad de los microorganismos para utilizar una amplia gama de sustratos. Por lo tanto, este enfoque es más práctico y relevante para la producción de (bio) hidrógeno porque los costos son mucho más bajos que los de los procesos fisicoquímicos convencionales. (Arimi et al., 2015); Además el hidrógeno tiene una alta densidad energética que es aproximadamente 2,75 veces mayor que la de los combustibles de hidrocarburos. (Tian., et al 2019).

Es a raíz de lo anterior que se han desarrollado métodos para obtener una máxima producción de biohidrógeno, cuatro de los cuales se describen a continuación:

5.1. Fermentación oscura

Entre los distintos procesos de producción de hidrógeno por vía biológica, es el proceso de fermentación oscura el que mayores posibilidades tiene de una producción a escala y aplicación industrial, gracias a la similitud de las condiciones de operación frente a los procesos de digestión anaerobia convencional. (Redondas, 2013)

La fermentación oscura es un proceso fermentativo, en el que las sustancias orgánicas e inorgánicas se convierten en biohidrógeno por bacterias anaeróbicas en ausencia de luz; La fermentación oscura es una tecnología prometedora ya que es económica, tiene una mayor tasa de producción de hidrógeno y es fácil de integrar con el tratamiento de desechos o aguas residuales para la producción de biohidrógeno a gran escala. (Lay et al., 2012; Nagarajan et al., 2017).

En el proceso de fermentación oscura, los sustratos son convertidos por bacterias anaeróbicas que crecen en la oscuridad. El hidrógeno es el sustrato clave en el metabolismo de muchos microorganismos anaeróbicos. Dichos microorganismos son capaces de utilizar moléculas de hidrógeno ricas en

energía, si están disponibles, y utilizan los electrones de la oxidación del hidrógeno para producir energía. En ausencia de aceptores externos de electrones, los organismos tienen un exceso de electrones generados en los procesos metabólicos como resultado de la reducción de protones que producen moléculas de hidrógeno. Las principales enzimas que regulan el metabolismo del hidrógeno son las hidrogenasas. Las dos hidrogenasas básicas, filogenéticamente diferentes y con diferentes sitios activos son la [FeFe] -hidrogenasa y la [NiFe] -hidrogenasa. (Lukajtisa et al., 2018).

Aunque el rendimiento de H₂ fermentativo depende del tipo de sustrato, el inóculo y los parámetros del proceso, incluidos el pH, la temperatura, etc., el rendimiento máximo de hidrógeno en la fermentación oscura está metabólicamente restringido a las vías del proceso. Sin embargo, la viabilidad estequiométrica de la fermentación oscura produjo cerca de 12 mol de hidrógeno almacenado en una molécula de glucosa. (Mishra et al., 2019).

5.2. Foto fermentación

Las bacterias fotosintéticas moradas sin azufre (PNS) tienen la capacidad de producir hidrógeno a partir de ácidos orgánicos (acetato, butirato, malato, succinato, etc. como fuente de carbono) junto con CO₂ en condiciones anoxigénicas utilizando la luz como fuente de energía. (Argun y Kargy, 2010).

En este proceso las bacterias capturan energía solar para producir ATP y electrones de alta energía. Luego la nitrogenasa de la bacteria combina ATP, protones de hidrógeno disueltos en agua y electrones para generar hidrógeno. El organismo es incapaz de obtener electrones del agua por lo que se requiere del uso de compuestos orgánicos (ácidos orgánicos) como sustratos. (Azwar et al., 2014).

La producción de biohidrógeno por la nitrogenasa es una reacción irreversible y se requieren cuatro ATP por mol de biohidrógeno producido. La tasa de producción de biohidrógeno dependiente de ATP por la enzima nitrogenasa es directamente proporcional a la intensidad de la luz hasta un cierto nivel que no inhibe el crecimiento celular (Koku et al., 2002). Por lo tanto, la intensidad de la luz es uno de los principales factores que influyen en la producción de biohidrógeno de las bacterias fotosintéticas.

5.3. Biofotólisis

La biofotólisis está asociada con el proceso de fotosíntesis de tipo vegetal, conocido como alga azul-verde que usa luz para dividir el agua para la formación de hidrógeno, y tiene lugar en condiciones anaeróbicas. (Javed et al., 2022). La biofotólisis involucra indirectamente a las cianobacterias que generalmente usan carbohidratos para almacenar energía de la fotosíntesis para producir hidrógeno a partir del agua. (Azwar et al., 2014).

El hidrógeno se separa del agua u otros compuestos orgánicos mediante la fotosíntesis utilizando la luz solar como fuente de energía. La luz solar y el CO₂ son los principales insumos para hacer crecer los organismos en el proceso fotobiológico apoyado por la enzima hidrogenasa. (Brentner et al., 2010).

La actividad de oxidación del agua en el fotosistema II (PS II) produce protones y O₂ cuando la energía de la luz llega por primera vez a la membrana tilacoide de las algas. Los electrones generados durante la división del agua en PS II se transfieren al fotosistema I (PS I) a través de diferentes complejos proteicos (p. ej., plastoquinona (PQ) y citocromo (b6f) en la membrana tilacoide). Los electrones se transfieren directamente de PS I a ferredoxina (FDX) con la ayuda de la energía cosechada por PS I y PS II y reduce NADP⁺ a NADPH. FDX sirve como la única fuente natural de electrones, que luego contribuye a la producción de H₂ a partir de protones (Eroglu y Meli 2011). Durante la fermentación oscura, los carbohidratos (glucosa) producidos durante la fijación de CO₂ es consumida por algas y cianobacterias para producir gas H₂. (Javed et al., 2022).

5.3.1. Biofotólisis directa

La biofotólisis directa es un proceso biológico que puede producir hidrógeno directamente a partir del agua utilizando el sistema de fotosíntesis de

microalgas para convertir la energía solar en energía química en forma de hidrógeno. (Azwar et al., 2014).

La vía de biofotólisis directa solo se ha informado con especies de microalgas fotosintéticas y algunas cianobacterias unicelulares específicas. Estos organismos oxidan moléculas de agua de baja energía para extraer electrones y protones y luego los usan para reducir FDX y NADP (Rochaix J.D., 2011). La generación de H₂ no es continua en las microalgas verdes porque la actividad de división del agua de PS II es susceptible al O₂ que se desarrolla durante la fotosíntesis. Por lo tanto, el H₂ se produce solo durante un período corto después de la iluminación, porque el O₂ producido inhibe la continuación del proceso. (Javed et al., 2022)

5.3.2. Biofotólisis indirecta

Para evitar la dificultad de la inhibición del O₂ en la biofotólisis directa, se ha explorado el proceso denominado "biofotólisis indirecta", en el que el CO₂ se fija primero en carbohidratos y luego se utiliza en pasos separados para generar H₂. (Azwar et al., 2014).

Tanto las microalgas como las cianobacterias pueden realizar biofotólisis indirecta en la que la luz se usa para producir carbohidratos en una reacción química. Estos carbohidratos luego se convierten en H₂. Las cianobacterias pueden utilizar enzimas nitrogenasa e hidrogenasa para la evolución de H₂.

Por el contrario, las microalgas dependen únicamente de las enzimas hidrogenasas. Las nitrogenasas tienen la ventaja de actuar unidireccionalmente, mientras que las hidrogenasas cianobacterianas actúan bidireccionalmente (es decir, pueden consumir o producir H_2 a través de una reacción reversible). (Javed et al.,2022)

A diferencia de las microalgas, con las cianobacterias, las reacciones pueden tener lugar temporalmente por separado durante los ciclos de luz y oscuridad. Como el proceso biofotólisis indirecta ocurre en dos etapas separadas, la etapa de evolución de O_2 está separada de la etapa de producción de H_2 . Por lo tanto, se representa la sensibilidad de la enzima hidrogenasa al O_2 en la etapa de producción de H_2 . En la primera etapa, las cianobacterias realizan la fotosíntesis durante el ciclo de la luz y generan sustancias orgánicas y O_2 como resultado de una reacción de CO_2 y H_2O . La segunda etapa es seguida por un ciclo independiente de luz/ciclo oscuro donde las sustancias orgánicas se convierten en metabolitos solubles, H_2 y CO_2 . (Javed et al., 2022)

5.4. Parámetros en la producción de biohidrógeno

Luego de estudiar los métodos más utilizados en la producción de hidrogeno, y en base a la literatura citada se observó que los métodos de producción con mayor rendimiento de H_2 son la fermentación oscura y foto fermentación, los

cuales se rigen por una serie de parámetros que influyen de manera directa en la producción final del gas.

A continuación, se presentan cinco de estos parámetros, basados en diversos estudios que demostraron lo primordial que son para la generación de Bio hidrogeno.

5.4.1. Microorganismos

Los microorganismos se pueden clasificar en tres categorías diferentes en función de su óptima temperatura, estas categorías son psicrófilos (0-25 °C), mesófilos (25-45 °C), y termófilos (45-65 °C), siendo los mesófilos y termofílicos los más utilizados para la fermentación y producción de biohidrógeno (Tian et al., 2019). Los microorganismos productores de hidrógeno también se pueden clasificar basado en su tolerancia al hidrógeno, como anaerobios estrictos y anaerobios facultativos. (Tian et al., 2019).

Abdeshahian et al., (2014) realizo un estudio el cual fue un ensayo básico para evaluar la factibilidad de producir hidrógeno por la nueva cepa mesófila *Clostridium sp. YM1* en proceso de fermentación oscura. Los estudios experimentales revelaron que este aislado produjo con éxito hidrógeno fermentativo con el mayor rendimiento de hidrógeno de 1,7 mol H₂/mol de glucosa; El inicio rápido de la generación de hidrógeno después de la inoculación del medio hace que *Clostridium sp. YM1* sea una cepa

prometedora para estudios adicionales para mejorar la producción de hidrógeno mediante el co-cultivo de esta cepa con otras bacterias productoras de hidrógeno y modificaciones de ingeniería genética.

En cuanto a la foto fermentación, en la actualidad, *Rhodobacteria sphaeroides*, *Rhodopseudomonas palustris* y *Rhodobacter capsulatus* son las principales bacterias fotosintéticas productoras de hidrógeno. (Zhang., et al 2021).

En un estudio realizado por Liu et al., (2010), se emplearon *Clostridium butyricum* y *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 para producir hidrógeno en cultivo mixto con glucosa como único sustrato. Debido a la gran diferencia en la tasa de crecimiento y la capacidad resistente a los ácidos entre las bacterias foto fermentativas y las bacterias fermentadoras oscuras, en este trabajo se estudió el cultivo directamente mixto de los dos tipos de bacterias en diferentes proporciones. Se evaluó rendimiento de hidrógeno, ácidos volátiles, pH y biomasa en diferentes periodos. El ácido acético y el ácido butírico producidos por *C. butyricum* fueron los productos de fermentación terminal dominantes y fueron sustratos efectivos para las bacterias fotofermentativas. La cooperación se formó de una manera como la cadena alimentaria. Pero en comparación con la tasa de producción de ácidos volátiles producidos por *C. butyricum*, la tasa de utilización por parte de las bacterias fotofermentativas fue mucho más lenta. Los resultados demostraron que el crecimiento de las bacterias fotofermentativas se vio limitado cuando el pH disminuyó drásticamente. La mejor proporción de *C. butyricum* a *R. faecalis* RLD-53 fue 1:600. El

rendimiento máximo de hidrógeno alcanzó los 122,4 ml-H₂/recipiente y la tasa de producción de hidrógeno fue de 0,5 ml-H₂/ml-cultivo/día.

En otro estudio realizado por Laocharoen y Reungsang (2014), aislaron una bacteria fotofermentativa recientemente identificada como *Rhodobacter sphaeroides* KKU-PS5 de UASB utilizada para la producción de metano. Operaron la fermentación por lotes en las condiciones óptimas; Malato, 30mmol/L; pH. 7.0, temperatura 30°C e intensidad lumínica de 6 klux. En estas condiciones, la tasa máxima de producción de hidrógeno y el rendimiento de hidrógeno informados fueron 11,08 ml-H₂/L y 3,80 mol H₂/mol-malato. Además, informaron que la intensidad de la luz proporcionada al medio a través de la oscuridad/luz disminuye la tasa de producción de hidrógeno y el rendimiento de hidrógeno en comparación con la iluminación continua.

Luongo et al. (2017) investigaron las condiciones operativas que afectan la producción de hidrógeno junto con poli-β-hidroxibutirato utilizando residuos municipales oscuros fermentados en las condiciones operativas; pH inicial 6,0, temperatura de 25°C e iluminación de 4000 lux. El experimento se ha investigado utilizando dos inóculos diferentes bajo las mismas condiciones físico-químicas. En primer lugar, utilizando *Rhodobacter sphaeroides* AV1b como inóculo y, en segundo lugar, mediante un consorcio mixto y se observaron las diferentes productividades de hidrógeno de 364 y 559 NmL H₂/L, respectivamente. Los resultados concluyeron que el uso del consorcio de mezclas es prometedor para aumentar la producción de hidrógeno foto

fermentativo a partir de efluentes fermentados oscuros, así como para eliminar la demanda química de oxígeno (DQO).

Argun y Kargi (2010) utilizaron almidón de trigo en una fermentación combinada continua en un biorreactor híbrido anular para la producción de gas hidrógeno mediante una mezcla de *Clostridium beijerinckii* y *Rhodobacter sphaeroides*. La producción diaria de hidrógeno en estado estacionario disminuyó, pero el rendimiento de hidrógeno aumentó con el aumento del tiempo de retención hidráulica. El mayor rendimiento de hidrógeno fue de 90 mL H₂ g⁻¹ de almidón con un tiempo de retención hidráulica de 6 días.

De manera similar Kargi y Ozmihci (2010), estudiaron la producción de biohidrógeno mediante fermentación combinada de almidón de trigo molido mediante fermentación discontinua. Frascos de suero que contienen lodo anaeróbico tratado térmicamente y una mezcla de *Rhodobacter sp.* se alimentó con un medio que contenía 20 g/L de trigo en polvo a flujo constante. La proporción óptima de luz/oscuridad fue de 1/2, lo que produjo la mayor producción acumulada de hidrógeno de 1,55 L y un rendimiento de hidrógeno de 65,2 mL H₂/g de almidón.

5.4.2. Temperatura

La temperatura es un factor clave que influye en el crecimiento microbiano, también afecta el rendimiento y la eficiencia de hidrógeno. Generalmente, las

bacterias pueden vivir en un rango de temperaturas de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $122\text{ }^{\circ}\text{C}$. (Cipolla et al., 2012).

En cuanto a los microbios mesófilos, estos tienen una productividad óptima a temperaturas entre 30 y $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ para ambos procesos de producción de hidrógeno, fermentación oscura y foto fermentación. (Park et al., 2021)

En un estudio reciente se encontró que la mejor temperatura para la foto fermentación estaba en el rango de 28 a $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ (condiciones mesófilas). (Tian et al., 2019). Aunque algunos microorganismos pueden funcionar más allá de los $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, no se ha informado sobre el uso de microorganismos termófilos para la foto fermentación. (Tian et al., 2019)

En base a lo anterior, Eroglu y Meli., (2011) realizó estudios de cultivo mixto mesofílico en sustrato de glucosa, en donde se observó que el rendimiento de hidrógeno y la tasa de crecimiento de la biomasa aumentó cuando la temperatura se elevó de $33\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $39\text{ }^{\circ}\text{C}$, en donde luego de los $39\text{ }^{\circ}\text{C}$ comenzó a desistir. La disminución de la productividad del hidrógeno más allá de los $39\text{ }^{\circ}\text{C}$ es el resultado de la desnaturalización de las enzimas microbianas. Cualquier aumento adicional de temperatura (por encima de $41\text{ }^{\circ}\text{C}$) da como resultado la disminución de la biomasa que es causada por la muerte de microorganismos.

En otra investigación se estudió el biohidrógeno generado a partir de la digestión anaeróbica de un residuo alimentario sintético de composición

constante y un residuo alimentario real recogido en Hong Kong; En este estudio se utilizaron microorganismos y cultivos celulares. Estas cepas fueron seleccionadas para el estudio de cribado ya que son comúnmente utilizado para la generación de biohidrógeno por digestión anaeróbica. Aunque las dos bacterias seleccionadas son bacterias mesófilas, de digestión anaeróbica en condiciones ambientales (21,5 °C). Los resultados experimentales muestran que ambas bacterias produjeron biohidrógeno a 21,5 °C y 37 °C, aunque la temperatura en la que se alcanzó un mayor rendimiento fue a los 37°C. (Xiao et al., 2013).

De manera similar en otro estudio, How et al., (2018) utilizo el efluente de la planta de aceite de palma (POME) en la producción de bio hidrógeno utilizando *Clostridium butyricum* EB6. El biogás consistió en 60-75% y 25-40% de biohidrógeno y dióxido de carbono, respectivamente, durante todo el experimento. La producción de biohidrógeno a 298 ml H₂/g de carbohidrato se estimó en condiciones optimizadas con un pH inicial de 6,05 y una temperatura de 36 °C.

Según Eroglu y Meli (2011) El rango de temperatura óptimo para *Rhodobacter* sp. se ha identificado entre 31 y 36 °C.

5.4.3. pH

El pH operativo es otro factor clave que puede afectar el rendimiento de hidrógeno y la eficiencia. Un cambio en el pH puede afectar la actividad y función biológica de los microorganismos, sus vías metabólicas, morfología celular y pH intracelular. (Tian et al., 2019).

Wongthanate et al., (2014) estudiaron el uso de residuos de leche de coco como sustrato a diferentes niveles de pH inicial, en un reactor discontinuo agitado. Informaron que la producción de hidrógeno más alta (0,28 l-H₂/l) fue a un pH inicial de 6,5. Los autores sugirieron mantener el pH operativo cercano a 6.0 para lograr una mayor conversión fermentativa de este sustrato a biohidrógeno.

Masset et al., (2010) estudiaron las condiciones de cultivo óptimas para la producción de biohidrógeno por *C. butyricum CWBI1009* utilizando glucosa y almidón como sustratos en modo discontinuo y discontinuo secuenciado. Para la glucosa, el rendimiento máximo de 1,7 mol H₂/ mol de glucosa se obtuvo cuando el pH se mantuvo en 5,2; Para el almidón, se obtuvo un rendimiento máximo de 2,0 mol H₂/ mol glucosa y una tasa de producción máxima de 15 mol H₂/ mol glucosa a pH 5,6.

Khanna et al. (2011) investigaron el efecto del pH y la formación de productos intermedios en la producción de hidrógeno biológico usando *Enterobacter cloacae IIT-BT 08*. Se encontró que el pH inicial tiene un efecto profundo en el

potencial de producción de hidrógeno, además se informó que mantener un pH de 6.5 a lo largo de la fermentación aumenta significativamente la tasa de producción de hidrógeno y el rendimiento. A un pH regulado de 6,5, se obtuvo un mayor rendimiento de H₂ de 3,1 mol H₂/mol de glucosa, un potencial específico de producción de hidrógeno de 798,1 ml/ g y una tasa específica de producción de H₂ de 72,1 ml/ Lhg.

En general, los pH óptimos para la fermentación oscura en la producción de biohidrógeno están en el rango de 6,0 a 8,0. (Sinha y Pandey 2011). Sin embargo, varios estudios en los que se utilizó flora mixta mostraron que un pH bajo de 4,2 a 5,0 podría respaldar la máxima producción de biohidrógeno. (Sinha y Pandey 2011). Cuando el pH del medio de fermentación es demasiado bajo, se inhibiría la actividad metabólica de una población de bacterias productoras de biohidrógeno o se produciría un cambio en la vía metabólica, lo que provocaría el cese de la producción de biohidrógeno. (Lin et al., 2012).

5.4.4. Tiempo de retención hidráulica (TRH)

El TRH depende principalmente de las características del sustrato utilizado, especialmente su biodegradabilidad (Sarangi y Nanda et al., 2020). Cuanto más fácil es la degradación del sustrato, menor TRH necesario; Además el TRH no puede ser demasiado bajo y debería ser más larga que el tiempo de

duplicación bacteriana para asegurar la proliferación bacteriana. (Habashy et al., 2021).

Karaosmanoglu y Karapinar (2019) estudiaron el efecto de la variación del TRH sobre el rendimiento de la producción de hidrógeno utilizando trigo de desecho como sustrato en un reactor de tanque agitado continuo; Disminuir la TRH de 8 h a 3 h mejoró el rendimiento de hidrógeno de 20 a 646 ml-H₂ / g-TS. Sin embargo, disminuyendo el TRH más de 1 h tuvo un impacto negativo en el rendimiento de hidrógeno porque el rendimiento disminuyó de 646 a 116 ml-H₂/ g-TS.

En otro estudio de manera similar durante una simulación de un sistema de fermentación de biohidrógeno integrado se observó que una TRH corta y una menor carga orgánica favorecen el proceso. (Hafez et al., 2010).

Para los carbohidratos simples, la TRH óptima suele ser de varias horas: 4 h (Chen et al., 2008), 2 h (Wu et al., 2008) o 12 h (Tapia et al., 2013). Con el fin de encontrar la TRH óptima para la fermentación de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, Zahedi et al., (2013) realizó el proceso en un modo semicontinuo con varios HRT que van desde 6 h a 10 días. Para este tipo de sustrato, la tasa de producción de hidrógeno más alta de 5.66 dm³ H₂/dm³ / d se obtuvo para una HRT = 12 h.

Moreno et al., (2015). Realizó un estudio con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes TRH sobre el producción de hidrógeno en un reactor discontinuo

de secuenciación anaeróbica (ASBR) utilizando residuos de alimentos como el sustrato. La comunidad microbiana fue analizada y correlacionada con el reactor. Los resultados mostraron que el mayor porcentaje de H₂ en biogás, máxima producción volumétrica de H₂, y la tasa máxima de producción de H₂ se obtuvo con una TRH de 24 h. El porcentaje de H₂ en el biogás varió del 22 al 53%, lo que dependió de la TRH.

5.5. Índices técnicos de otros procesos de generación de hidrógeno

Actualmente existen otros métodos de producción de hidrógeno que presentan altas ventajas y que están siendo aplicados a nivel industrial, debido principalmente a su bajo costo y alto rendimientos del gas. Entre los métodos más eficaces esta la electrólisis del agua en primer lugar, seguido de la gasificación los cuales se describen a continuación:

5.5.1. Electrólisis del agua

La electrólisis del agua corresponde a la circulación de corriente continua a través de dos electrodos (ánodo y cátodo) en contacto con agua, lo que permite separar sus moléculas en hidrógeno y oxígeno. Es una tecnología madura siendo el método más conocido y limpio para obtener hidrógeno a partir del agua mediante el uso de fuentes renovables. (Vásquez et al., 2019); Utiliza como insumos electricidad, agua pura (reacción exotérmica) para producir hidrógeno y oxígeno puro, único subproducto (Schmidt et al., 2017).

Desde un punto de vista estequiométrico, la producción de H₂ a través de la electrólisis del agua consume alrededor de 9 kg de agua por 1 kg de H₂ (Shi et al., 2020). Existen varios tipos de electrolizadores con diferente rendimiento tecnológico y, por lo tanto, niveles de consumo de agua. (Schmidt et al., 2017).

La variación en el consumo de agua también se debe a las diferentes tecnologías para la electrólisis del agua, a saber: (i) electrólisis de agua alcalina (ii) electrólisis de óxido sólido (SOE) (iii) celdas de electrólisis microbiana (MEC) y electrólisis de agua con membrana electrolítica de polímero (PEM). (Kumar y Himabindu, 2019).

i. Electrólisis alcalina

La electrólisis de agua alcalina es uno de los métodos más fáciles para la producción de hidrógeno, aunque es una tecnología relativamente cara; Esta técnica es muy limpia y produce más del 99,989% de pureza de gas hidrógeno. (Navarro et al.,2015).

Hoy en día, varias empresas están produciendo electrolizadores alcalinos para la producción de hidrógeno de grado electrolítico. La capacidad de producción de estos electrolizadores industriales está en el rango de 5-500 m³ H₂/h. (Navarro et al.,2015).

ii. Electrólisis de óxido sólido (SOE).

La celda de electrolizador de óxido sólido es el tipo de electrolizador más reciente, introducido en 1980 por Donitz y Erdle (Dönitz y Erdle,

1985). En este caso, el lado del cátodo se alimenta de agua y al recibir los electrones, forma iones oxígeno e hidrógeno. Los aniones se trasladan al ánodo a través del electrolito donde se convierten en oxígeno. (Flores E., 2020). La eficiencia del proceso de conversión electroquímico es del 100%. Toda la energía eléctrica aplicada es convertida en energía química almacenada en el hidrógeno y oxígeno. Sin embargo, este último punto también es su gran desventaja, debido a que el proceso debe efectuarse a altas temperaturas (entre 600 a 900 °C) con la consiguiente baja durabilidad de las cerámicas. Además, se necesita una fuente de energía adicional (nuclear, solar geotérmica u otra) que permita llegar a esas temperaturas. (Soto O., 2020).

iii. Celdas de electrólisis microbiana (MEC)

Una MEC consta de dos electrodos, ánodo y cátodo, generalmente separados por una membrana selectiva de intercambio de iones. Las reacciones que ocurren sobre cada electrodo no son espontáneas, por lo que se debe aplicar energía en forma de voltaje o corriente para que éstas ocurran. (Cercado B., 2016).

iv. Electrólisis de agua con membrana electrolítica de polímero (PEM).

Fue desarrollado por primera vez por Russel (Nuttall et al., 1975). Estos electrolizadores están constituidos por dos electrodos y un electrolito, y trabajan en un rango de temperaturas entre 50°C y 80°C. (Carmo et al., 2013).

Los electrolizadores PEM, son una tecnología relativamente reciente y aunque ya se encuentran unidades disponibles comercialmente, su costo aun es elevado en comparación con los alcalinos. (Cruz K., 2018).

5.5.2. Gasificación

La gasificación es un proceso de oxidación parcial de las materias primas orgánicas a altas temperaturas y, a veces, a alta presión (es decir, gasificación hidrotermal), con el objetivo de producir gas de síntesis (H_2 , CO , CH_4 y CO_2). En este proceso también se pueden encontrar varios subproductos, como hidrocarburos ligeros, biocarbón, alquitrán, etc. (Abdoulmoumine et al., 2015).

Diferentes tipos de gasificación predominante en estos años se han reportado para producciones de hidrogeno, tales como gasificación hidrotermal, gasificación de aire, gasificación de vapor y gasificación de dos etapas, sistema de pirólisis-gasificación. Además, también se informó sobre la gasificación por plasma específica con aire o vapor como agente. La gasificación hidrotérmica se ha aplicado a la producción de hidrógeno a partir de desechos orgánicos con alto contenido de humedad. (Okolie et al., 2019).

Se informó además que la gasificación con vapor es uno de los enfoques de producción de hidrógeno más prometedores, ya que genera hidrógeno con alta eficiencia y concentración debido al elemento de hidrógeno adicional

proporcionado por el vapor y la baja huella de carbono de este proceso. (Nipattumakul et al., 2011; Burra y Gupta., 2018)

Como se mencionó anteriormente el proceso más habitual para producir hidrógeno es el reformado de hidrocarburos el gas natural, los destilados del petróleo, el metanol, etc. También se puede producir hidrógeno a partir de recursos bio másicos, como en el caso del gas de vertedero, el biogás o el gas de síntesis. No obstante, el proceso más prometedor para la producción de hidrógeno a gran escala es la electrólisis del agua, siendo en principio indiferente el origen de la electricidad, aunque se trata un proceso mucho más sostenible si la electricidad proviene de fuentes energéticas renovables. En consecuencia, el impacto ambiental de la producción de hidrógeno por electrólisis del agua depende en gran medida del origen de la electricidad que se alimenta al proceso. (Aguado et al, 2021)

5.6. Índices de calidad del biohidrógeno generado a partir de R.A.

El biogás producido a partir de estos procesos fermentativos es una mezcla de H_2 y CO_2 . En consecuencia, existe la necesidad de separar H_2 de la mezcla en una etapa de purificación. Aparte de esto, el CO_2 debe capturarse y secuestrarse para evitar las emisiones de CO_2 a la atmósfera, lo que hace que el proceso sea neutral en carbono. (Ferraren De Cagalitan y Abundo, 2021).

En cuanto a los métodos, si bien el proceso de fermentación oscura es más rápido que la foto fermentación o la biofotólisis, su principal desventaja radica en su bajo rendimiento de H_2 causado por los diversos subproductos formados en la reacción (Chandrasekhar et al., 2015). Además de H_2 y CO_2 , este proceso también genera subproductos de metabolitos como ácido butírico ($C_4H_8O_2$), ácido láctico ($C_3H_6O_3$) y ácido acético (CH_3COOH). En la reacción también se puede formar metanol (CH_3OH), butanol ($C_4H_{10}O$) o acetona (C_3H_6O). El biogás producido también puede contener metano (CH_4) y pequeñas cantidades de sulfuro de hidrógeno (H_2S), dependiendo del tipo de microorganismo y sustrato utilizado (Sarangi y Nanda, 2020). Aunque estos subproductos son sustratos potenciales para otros métodos de producción de H_2 , como en un sistema híbrido de producción de H_2 , su formación hace que el rendimiento de H_2 disminuya en 1–2,5 mol de H_2 por mol de glucosa (Lukajtisa et al., 2018).

A raíz de esto, se realizó un estudio sobre la eficiencia del biohidrógeno a través de 26 métodos avanzados por medio de un análisis envolvente de datos (DEA) para evaluar la eficiencia de biohidrógeno con técnicas de fermentación oscura (DF), foto fermentación (PF) y ambas (DF-PF) para 55 DMU (Lee D.H. 2021); La eficiencia de una DMU se define como la relación entre una suma ponderada de salidas y una suma ponderada de entradas.

Coelli T.J., (1996) separó la eficiencia de una DMU en eficiencia técnica (TE) (la capacidad de producir una cierta cantidad de producto con insumos

mínimos) y eficiencia asignativa (AE) (la capacidad de absorber insumos en la proporción óptima, considerando los costos de insumos).

Se obtuvo que el DF-PF puede producir grandes cantidades de biohidrógeno porque es físicamente eficaz y rentable (Dinesh et al., 2020). Según la literatura (Mishra et al., 2019), el método DF-PF convierte la mayor parte del sustrato en hidrógeno (12 mol H₂ / mol-glucosa) y tiene un gran potencial para la producción comercial de biohidrógeno y la gestión sostenible (Dinesh et al., 2018). Sin embargo, las eficiencias de conversión de energía de PF, DF y DP-PF son 10,12%, 2,58% y 6,45% (Zhang et al., 2020), lo que revela que DF-PF es más eficiente que DF, pero menos eficiente que PF. La eficiencia del rendimiento puede mejorarse mediante pretratamiento (Phanduang et al., 2019). o nanotecnología (Kumar et al., 2019).

Por lo tanto se concluyó que la eficiencia de rendimiento más alta general de las tres tecnologías es DF-PF y la mejor combinación es *PhBR1 / Rhodobacter capsulatus B10* (oscuro) / *Rhodobacter capsulatus* (Lee D.H., 2021).

Por ende, el rendimiento de H₂ y la tasa de producción para los procesos fermentativos pueden mejorarse con la selección de microorganismos apropiados, tecnologías de pretratamiento y optimización de los parámetros del proceso y del reactor. (Ferraren De Cagalitan y Abundo, 2021).

5.7. Aplicabilidad de esta tecnología en Chile

El biohidrógeno posee un alto valor calorífico de aproximadamente 120 MJ/kg a 141 MJ/kg, que es el valor más alto entre todos los combustibles comerciales conocidos. Tomando en consideración el poder calorífico mínimo (120 MJ/kg), 1 kg de biohidrógeno equivale aproximadamente a 2,5 kg de gasolina (Sarangi y Nanda, 2020).

Aunque se sabe que existen métodos que son más efectivos para la producción a escala industrial de H₂, poder obtener energía de los desechos de alimentos le da un valor agregado a la generación de este gas y solución a un problema de gran escala como el de los residuos domiciliarios e industriales.

En una serie de estudios se estimó la eficiencia económica de varias plantas a base de biomasa para la producción de gas hidrógeno. El costo de producción de biogás H₂ en diferentes procesos depende directamente de las instalaciones utilizadas para el proceso de tratamiento, así como de la eficiencia del proceso. Por lo tanto, desde un punto de vista comercial, tanto la eficiencia de producción como el costo de instalación y operación deben ser considerados en su totalidad. (Arimi et al.,2015).

En un estudio realizado por Hosseinzadeh et al., (2022), se evaluaron los costos de producción de H₂ utilizando biomasa orgánica. Se afirmó que la fermentación oscura (2,57 USD por kg) era la más barata sobre la foto

fermentación (2,83 USD por kg). Así mismo en otro estudio similar se evaluó el valor de la producción de H_2 a través de la fermentación oscura y la foto fermentación, lo cual fue consistente con este análisis, y afirmaron que la fermentación oscura (1,87 USD por kg) era más económica que la foto fermentación (3,70 USD por kg). (Rai y Singh., 2016). Por lo tanto, desde una perspectiva económica, la producción de H_2 es relativamente más barata que la foto fermentación por fermentación oscura.

Lo anterior queda reflejado en un estudio realizado por Avendaño et al., (2019). Donde se evaluó la producción de hidrógeno con residuos de alimentos provenientes de la Plaza de Mercado El Mortiño (Bogotá, Colombia). Se construyó un diseño experimental en base a la caracterización fisicoquímica del sustrato donde se construyó un sistema factorial con dos variables independientes: carga orgánica, en 2 niveles, 15 gSV y 20 gSV; y la temperatura, trabajando bajo condiciones mesofílicas (35°C) y termofílicas (55°C). Para garantizar la estabilidad del proceso se establecieron condiciones de pH entre 5.5-6.0. Se realizó un seguimiento diario de la producción de H_2 , las pruebas finalizaron al identificar presencia de CH_4 . Los resultados evidenciaron que las mejores condiciones para producción de hidrógeno con este residuo son a 20gSV, con una producción de hidrógeno igual a 1032 mL/gSV.

Con esta investigación se evaluó la producción de hidrógeno a partir de los residuos sólidos orgánicos; y las pruebas construidas en el laboratorio

arrojaron resultados de productividad que conllevaron al dimensionamiento de una planta de producción de hidrógeno, en la cual se concluyó que no es viable económicamente; La evaluación económica realizada apunta a que el proyecto no es viable por tema de costos, ya que la inversión necesaria para satisfacer las características técnicas de una planta de producción de H₂ es muy alta, debido a que la suma de los flujos de fondos es menor a la inversión inicial.

Aplicar esta tecnología a nivel local, utilizando desechos urbanos tiene grandes dificultades puesto que se deben abaratar los costos para hacer más accesible la producción de bio H₂ por esta vía.

A nivel industrial, la utilización de desechos industriales para generar el biogás tiene más posibilidades de ser integrado. Kargi et al., (2012). obtuvo hidrógeno a partir de una solución de suero de queso en polvo (CWP) mediante fermentación termófila oscura. La solución concentrada de CWP se desactivó en autoclave a 121 °C durante 15 min, lo que permitió que la mayoría de las proteínas precipitaran y luego la solución se filtrara. El sustrato así preparado se fermentó. El rendimiento de hidrógeno fue de 1,03 mol H₂/mol de glucosa.

Otra alternativa es la yuca (*Manihot esculenta* Crantz), una planta nativa sudamericana de importante valor nutricional, utilizada como alimento o materia prima para algunos productos procesados como harina de yuca, tapioca y almidón de yuca. (Santos et al., 2017). Pason et al., (2020). Realizo un estudio con el fin de producir biohidrógeno a partir de pulpa de yuca (CP) no tratada utilizando un nuevo consorcio seleccionado de bacterias termófilas

anaerobias y las comunidades microbianas asociadas fueron dilucidadas mediante análisis metagenómico. Se eligió CP como única fuente de carbono para enriquecer a los productores eficientes de hidrógeno a partir de un total de 100 compost y sedimentos de suelo diferentes bajo fermentación anaeróbica oscura a 60 °C. El consorcio seleccionado, a saber, BK16 del residuo de sedimento del suelo alrededor de los manglares en la provincia de Bangkhuntiean, Tailandia, muestra el mayor rendimiento de producción de hidrógeno (35,08 ml H₂/g de sustrato) y la tasa de producción de hidrógeno (64,47 ml/día) en un solo paso.

Otro estudio realizado por Valdez et al., (2019) tuvo como objetivo comparar el potencial de producción de biohidrógeno de hidrolizados ácidos no detoxificados y detoxificados a partir de bagazo de A. tequilana. La detoxificación se realizó con carbón activado a diferentes concentraciones y valores de pH. (carbón activado 1% p/v y pH 0,6). En condiciones óptimas, el hidrolizado detoxificado produjo un 33% más de biohidrógeno que el no detoxificado. Los rendimientos molares de hidrógeno fueron 1,71 y 1,23 mol H₂/mol de azúcar, respectivamente.

En el caso de Chile, el cual no es un país pionero en la generación de bio H₂ a diferencia de países como China, Estado unidos o la India, en la última década se han realizado estudios referente a la producción de H₂ a partir de residuos alimenticios en donde según lo informado por Vásquez et al., (2019), las investigaciones académicas han ido en aumento y entre las universidades

que aportan mayor número de estudios sobre hidrogeno producido a partir de biomasa son las Universidad Federico Santa María, la Universidad Católica de Valparaíso, Universidad de Chile, y la Universidad de Concepción en la cual las investigaciones se han basado en el estudio de materiales para la aceleración de reacción catalítica de la conversión en metano del gas de síntesis en biomasa además del diseño de aleaciones metálicas y materiales nanoparticulados, para diseño de catalizadores que transforman el CO₂ en metanol utilizando hidrogeno verde.

A pesar de esto, nuestro país presenta otra estrategia para poder ingresar al mercado del H₂, pues tiene la ventaja de tener abundantes recursos solares e hídricos por lo que el hidrógeno puede ser producido a través de fuentes renovables o de combustibles convencionales con abatimiento de CO₂, con la ventaja que produce cero emisiones en el punto de uso y, además, puede ser almacenado y transportado con seguridad, para finalmente ser quemado o transformado en electricidad en una celda de combustible. Por lo tanto, Chile, como potencial productor de energías renovables a precios competitivos, tiene una oportunidad única para producir hidrógeno renovable o verde y desarrollar múltiples aplicaciones basadas en este elemento. (Vásquez et al., 2019).

Por todas las ventajas competitivas que presenta Chile, es que la estrategia impulsada por el gobierno tiene como objetivo: contar con 5 GW de capacidad de electrólisis en desarrollo al 2025, producir el Hidrógeno Verde más

económico en el año 2030, y estar entre los 3 principales exportadores para el año 2040.

Hoy en día el sector industrial de nuestro país, está ingresando de manera paulatina el H₂ como fuente de energía, esto lo podemos observar en la Fig. 10 que nos muestra la demanda nacional de hidrogeno durante el año 2020, en donde se puede ver que la mayor demanda de este gas es realizada por ENAP que es la cadena principal de abastecimiento, ambas refinerías poseen en sus cercanías plantas de la empresa Linde S.A. donde se produce hidrógeno partir de reformado de vapor de gas natural, estas abastecen a través de cañerías la demanda de ENAP y lo distribuye en tanques presurizados a las empresas que lo requieren en menor medida como las industrias del vidrio, cemento y alimentos. (ENAP, 2018).

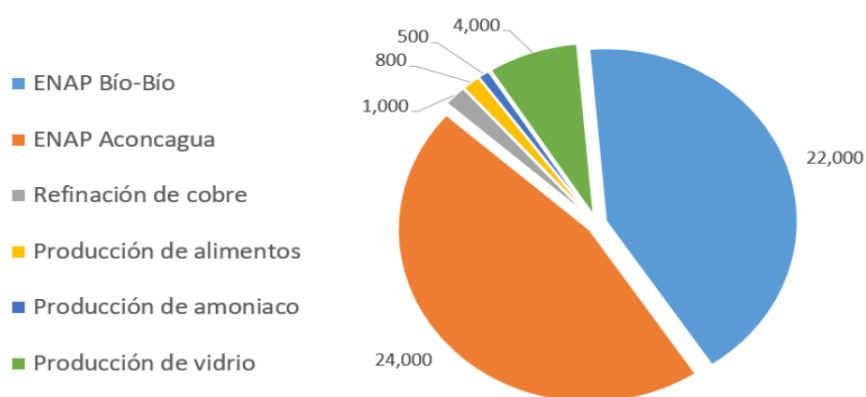


Figura 1. Actual demanda nacional de H₂ en toneladas anuales. [Jiménez F., (2020) Evaluación técnica y económica del uso de hidrógeno verde en aplicaciones para la industria y desplazamiento de combustible fósil, memoria para optar al título de ingeniero civil eléctrico]

A nivel mundial India y Japón son las dos economías que más se beneficiarán de una mayor eficiencia en la producción de biohidrógeno. Las mejoras en la eficiencia del rendimiento del biohidrógeno aumentarán el crecimiento macroeconómico y acelerarán el desarrollo de la industria del biohidrógeno. La producción de biohidrógeno tiene un gran potencial para desarrollarse bien en los países asiáticos. (Lee D.H., 2021).

En general para que el biohidrógeno sea renovable y sostenible, debe producirse utilizando fuentes renovables, y la producción de biohidrógeno es uno de los enfoques más adecuados para la generación de energía renovable y sostenible (Veeravalli et al., 2019).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto al estado del arte, se clasificó la información para obtener los puntos de mayor relevancia los cual fueron graficados dando los siguientes resultados:

En la figura 2, se realizó una búsqueda en la plataforma con la palabra "biohydrogen" tomando en consideración las 14 revistas que presentan un mayor número de publicaciones referentes al tema, obteniendo como resultado que la revista International Journal of Hydrogen Energy (ISSN: 0360-3199) tiene un mayor número de contenido registrado en comparación a las demás, debido a que esta tiene como objetivo "publicar todo lo referente a

nuevas ideas, desarrollo tecnológico e investigación en el campo de la energía de hidrógeno”. (Elsevier.com). La siguen la revista Bioresource Technology (0960-8524), Renewable and Sustainable Energy Reviews (1364-0321), Fuel and Energy Abstracts (0140-6701) respectivamente.

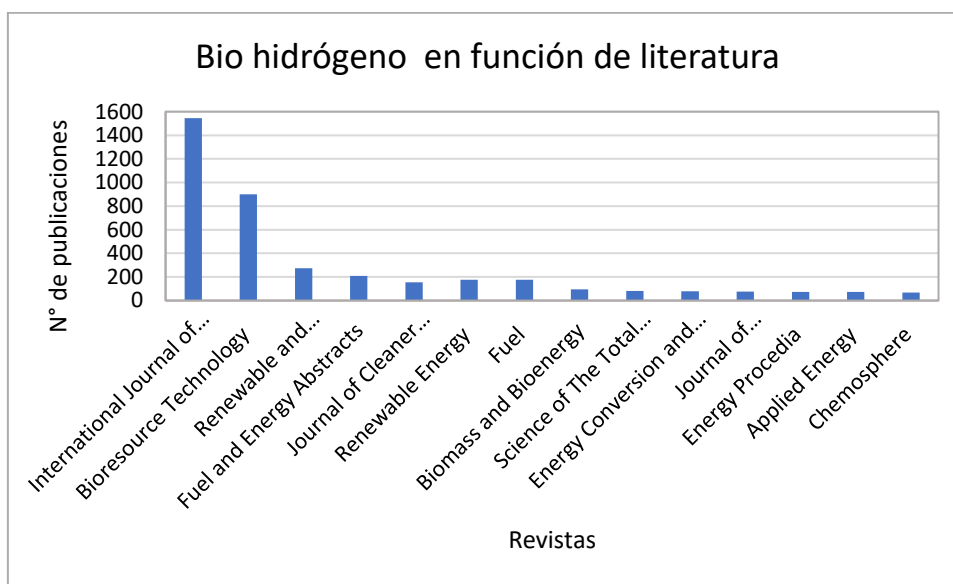


Figura 2. Número de publicaciones referentes al bio hidrógeno, en función de las revistas desde plataforma Science Direct. [Elaboración propia con datos obtenidos de Science Direct]

De la misma manera se clasificaron las publicaciones citadas en este informe en base a los títulos que utilizaban la palabra “biohydrogen” como tema principal de estudio, dando como resultado que la revista International Journal of Hydrogen Energy (ISSN: 0360-3199) tiene el mayor número de citas, seguida de las revistas Renewable and Sustainable Energy (ISSN: 1364-0321), Bioresource Technology (ISSN: 0960-8524), y Applied Energy (ISSN 0306-2619) respectivamente.

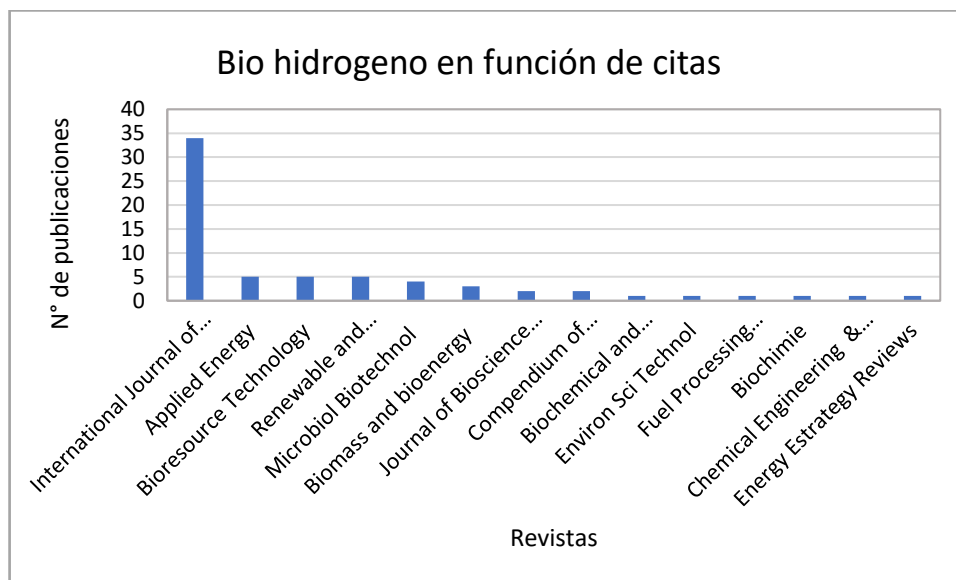


Figura 3. Número de publicaciones referentes al biohidrógeno en función de las revistas citadas. [Elaboración propia]

Posteriormente se hizo una búsqueda del número de publicaciones realizadas en los últimos 11 años desde la plataforma Science Direct, utilizando nuevamente la palabra clave "Biohydrogen" en donde se puede observar en la figura 4 un aumento en el número de publicaciones en los últimos años, con un crecimiento exponencial entre 2018 y 2021, esto se puede explicar debido al interés por buscar nuevas fuentes de energía que puedan suplir la demanda, sean económicamente viables y que no contribuyan a acelerar los efectos del cambio climático.



Figura 4. Número de publicaciones sobre bio hidrógeno en función de los años 2010-2021, desde la plataforma Science Direct. [Elaboración propia con datos obtenidos de Science Direct]

Desde la plataforma Scopus que es una base datos de los mismos desarrolladores de Science Direct, se obtuvo el nombre de los autores que presentan más publicaciones en base al tema de "Biohydrogen", en donde podemos observar que en primer lugar se encuentra a Zhang Q. con un total de 82 publicaciones, seguido de Ren N.Q. con un total de 78 publicaciones y Kumar G. con un total de 77 publicaciones.

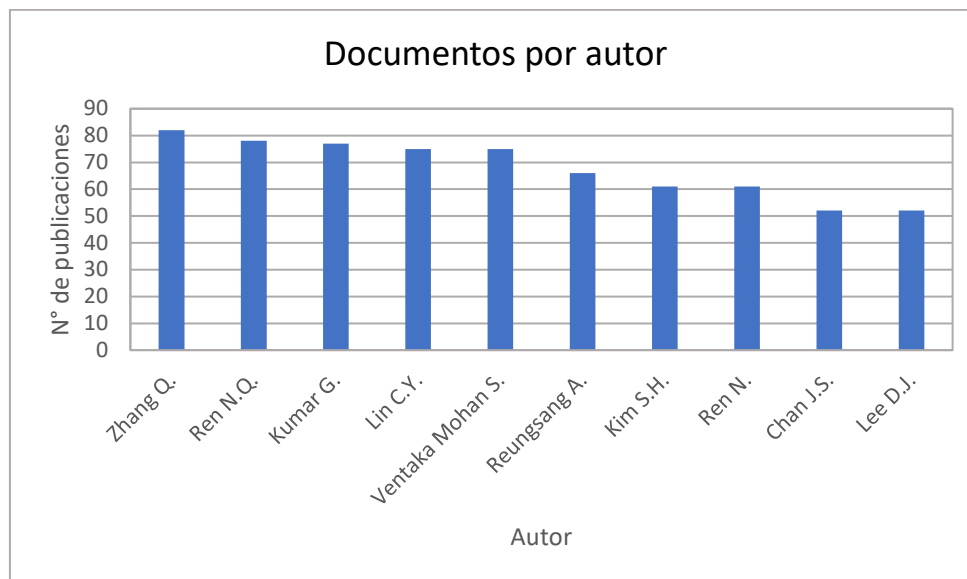


Figura 5. Número de publicaciones sobre Bio hidrógeno en función de los autores. [Elaborado con datos de Scopus.com]

En tres de los objetivos específicos se realizaron graficas con la información obtenida desde la plataforma Science Direct generando los siguientes resultados:

6.1. Procesos tecnológicos fundamentales para la producción de biohidrógeno:

Se clasifico el número de publicaciones realizadas en función de los métodos de producción de Bio hidrógeno, utilizando palabras claves como "dark fermentation to produce biohydrogen" (Fermentacion oscura para producir Bio hidrógeno) con un total de 2.796 publicaciones, seguido de "photofermentation to produce biohydrogen" (Foto fermentación para producir Bio hidrógeno) con un total de 581 publicaciones y " direct and indirect biophotolysis to produce

biohydrogen” (biofotólisis directa e indirecta para producir hidrógeno) con un total de 389 y 309 publicaciones respectivamente:

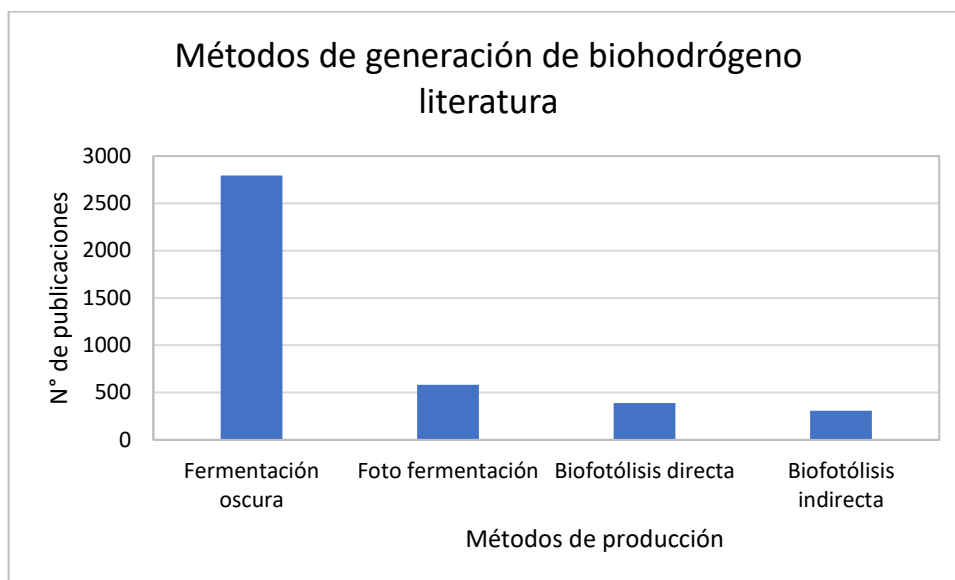


Figura 6. Métodos de producción de hidrógeno en función del número de publicaciones realizadas desde la plataforma Science Direct. [Elaboración propia con datos obtenidos de Science Direct].

Posteriormente se clasificó el número de publicaciones citadas en el presente informe en función de los métodos de producción de Bio hidrógeno, tomando en consideración los títulos que tuvieran relación con alguno de los 4 métodos, Obteniendo como resultado que el método con mayor número de estudios fue el de fermentación oscura con un total de 41 publicaciones, seguido de la foto fermentación con 24 publicaciones y la biofotólisis directa e indirecta con 9 y 8 publicaciones respectivamente, esto debido a que se le dio mayor énfasis a los métodos más usados y con un mayor rendimiento de H₂.

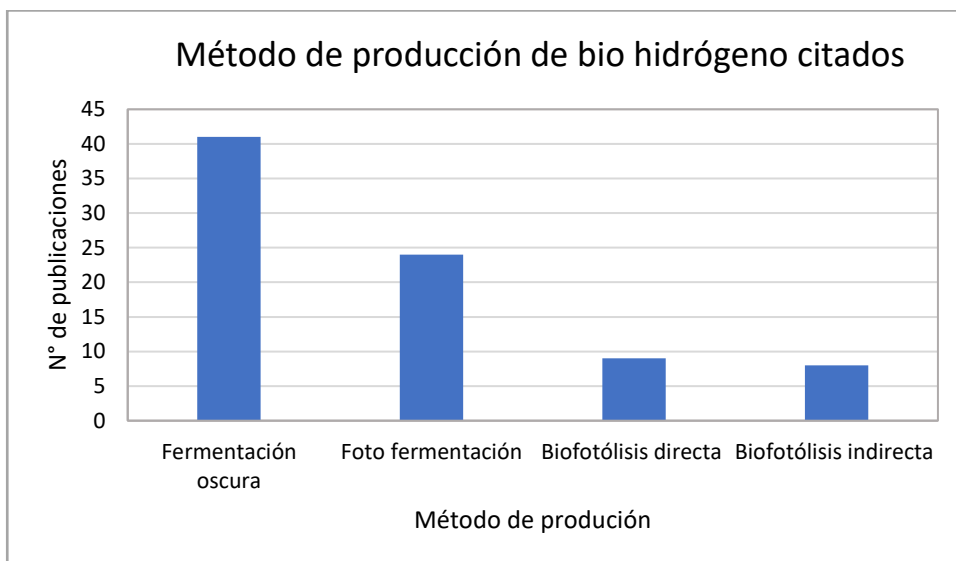


Figura 7. Métodos de producción biológica de H₂ en función del número de publicaciones citadas. [Elaboración propia]

Para complementar la información anterior sobre los procesos de producción de biohidrógeno, en las siguientes figuras se graficaron las publicaciones sobre cada método de producción realizadas entre los años 2010 a 2021 desde la plataforma Science Direct para poder observar de forma gráfica cómo el estudio de esta tecnología ha ido en aumento a través de los años, debido al interés científico por conseguir una máxima producción de este gas.

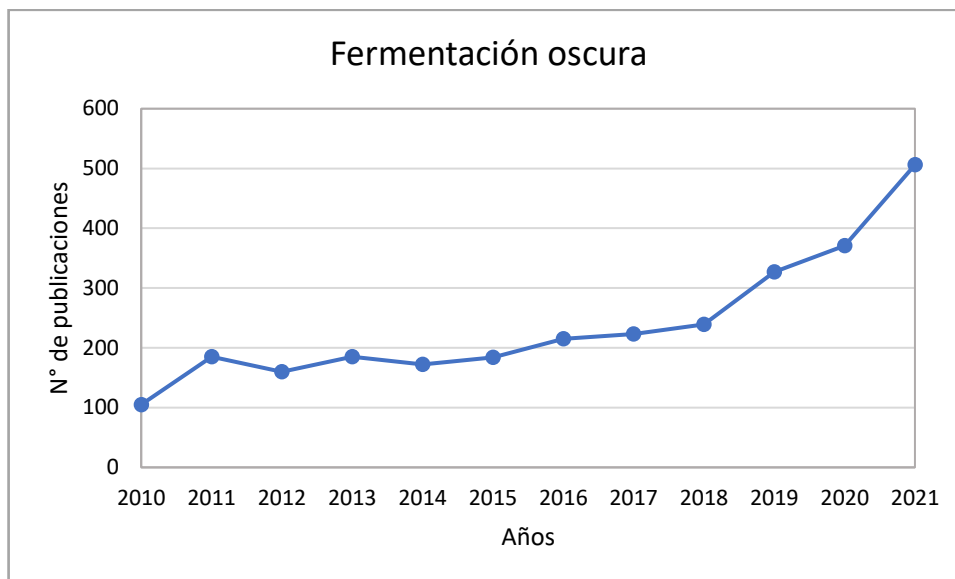


Figura 8. Número de publicaciones sobre fermentación oscura, en función de los años en que se publicaron. [Elaboración propia con datos obtenidos de Science Direct].

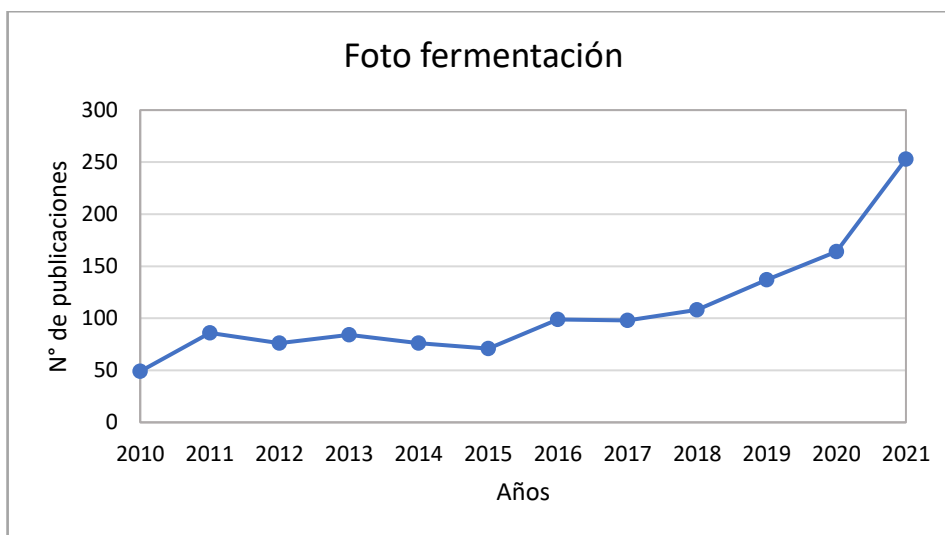


Figura 9. Número de publicaciones sobre foto fermentación en función de los años en que se publicaron. [Elaboración propia con datos obtenidos de Science Direct]

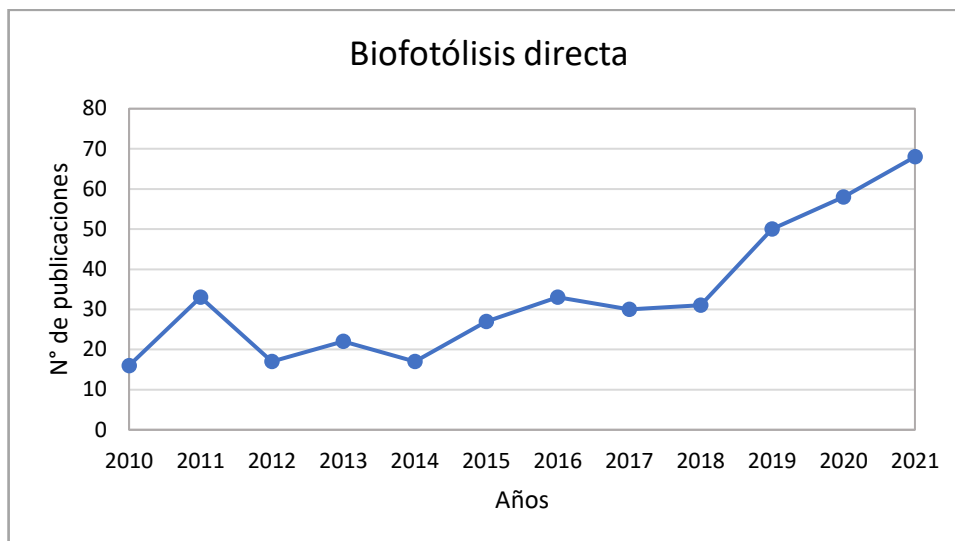


Figura 10. Número de publicaciones sobre biofotólisis directa, en función de los años en que se publicaron. [Elaboración propia con datos obtenidos de Science Direct]

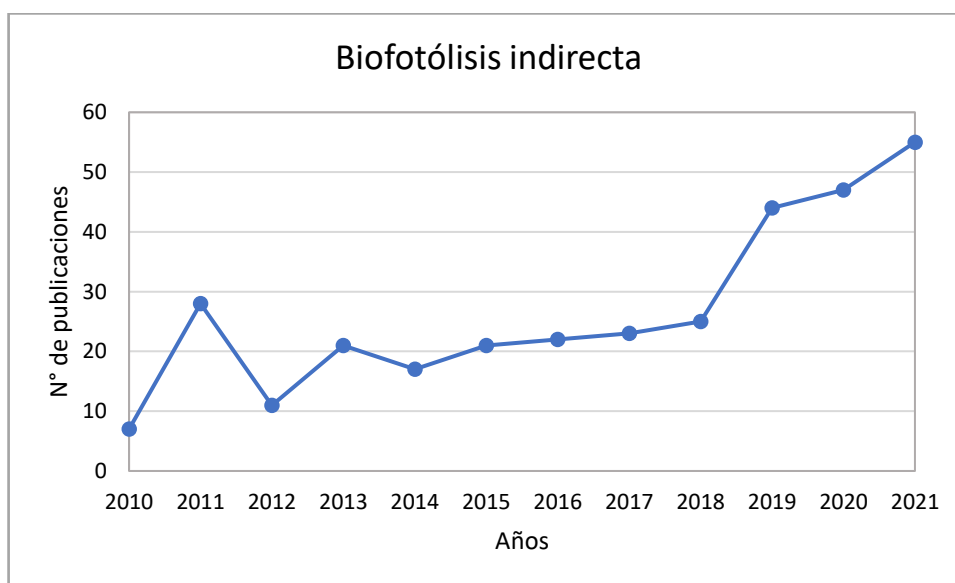


Figura 11. Número de publicaciones sobre biofotólisis indirecta en función de los años en que fueron publicadas. [Elaboración propia con datos obtenidos de Science Direct].

6.2. Variables fundamentales en la producción de H₂ para los métodos con mayor producción:

En la Fig. 12, se muestran los parámetros operativos que se mencionan con más frecuencia en las publicaciones citadas, para los métodos de fermentación oscura y fermentación:

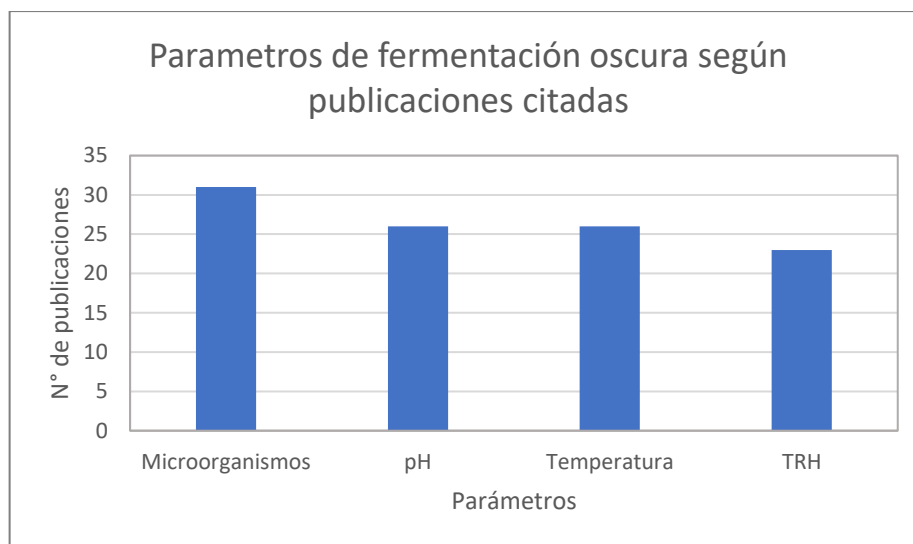


Figura 12. Número de publicaciones citadas en función de los parámetros más mencionados. [Elaboración propia].

El gráfico anterior nos muestra en qué sector se están enfocando los estudios, por lo tanto, se puede asegurar que la elección de los microorganismos son un importante punto de inflexión para obtener un máximo rendimiento en el método de fermentación oscura.

6.3. Potencial de aplicación local de esta tecnología:

Desde la misma plataforma Scopus, se obtuvieron los países con mayor número de publicaciones sobre Bio hidrógeno, dando como resultado que China es el país con mayor cantidad de publicaciones, con un total de 3.981, seguido de Estados Unidos con un total de 1.647, luego viene la India con 1.617 publicaciones y Corea del Sur con un total de 593 publicaciones, correspondientes a los años 2010 a 2021.

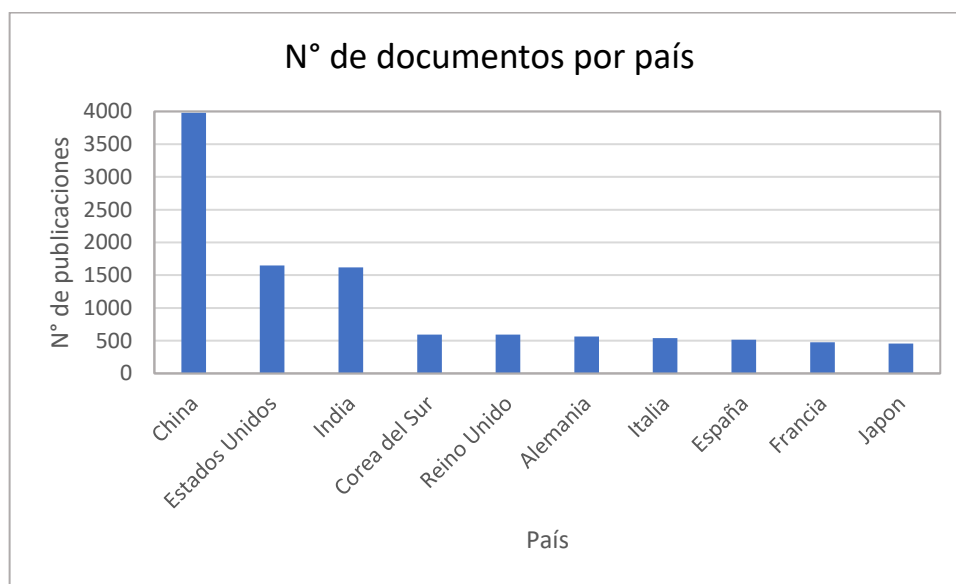


Figura 13. Número de publicaciones sobre Bio hidrógeno en función de los países. [Elaborado con datos de Scopus]

Lo que demuestra que Chile no es un país pionero en esta tecnología, y que el enfoque final es generar el biogás por la vía de la electrolisis del agua.

Finalmente se pudo observar, que el método con mayor número de publicaciones en la plataforma es el método de fermentación oscura, debido a que la producción de H₂ por fermentación oscura, significa un campo propicio para el avance de las tecnologías de energía renovable.

Debido a lo anterior, se han realizado varias investigaciones a escala de laboratorio con la finalidad de descubrir formas de aumentar el rendimiento general de H₂ y así mismo los niveles de producción a este respecto. Recientemente, la producción de bio-H₂ a través de patrones de investigación del proceso de fermentación oscura se ha centrado en la mejora del proceso a través del modo continuo de operaciones, controlando los factores operativos críticos, manteniendo la simbiosis de los microorganismos productores de H₂ y las bacterias formadoras de biopelículas, que son esenciales para proteger el medio ambiente. (Park et al., 2021).

Hasta la fecha, la mayor parte de la investigación sobre la producción de biohidrógeno involucra bacterias anaeróbicas debido a su alta tasa de producción y la capacidad de utilizar una amplia gama de materia orgánica como sustrato. Los organismos del género *Clostridium* son microorganismos anaerobios obligados formadores de esporas y se consideran los productores de H₂ más eficientes, ya que generalmente son dominantes en la comunidad microbiana durante los periodos de mejor rendimiento en los sistemas productores de H₂. (Castelló et al., 2020).

El desarrollo tecnológico continúa en el orden de la idea de marketing. La tecnología de fermentación oscura es prospectiva para la producción a escala

comercial de bio-H₂. No obstante, todavía faltan datos adecuados sobre el tema de la escala semiindustrial más grande para evaluar una mejor fuerza, viabilidad y costos económicos para el problema de producción de bio-H₂. (Park et al., 2021).

7. CONCLUSIONES

Se analizo el avance tecnológico que ha tenido el hidrogeno y el desarrollo de métodos de producción biológica con un alto rendimiento como lo son la fermentación oscura y foto fermentación, en donde la primera de ellas tiene potencial para ser aplicado a escala industrial.

Se verifico además que para el método de fermentación oscura la cepa de las *Clostridium* son las que han mostrado un mayor rendimiento, trabajando a un rango de temperatura mesofílica de entre 30 a 40°C y un pH entre 5 y 6, excepto para cultivos de flora mixta, así mismo con el tiempo de retención hidráulica que depende de la degradabilidad del sustrato que se utilice y que permita la proliferación de las bacterias.

Una flora mixta entre fermentación oscura y foto fermentación tiene una eficiencia de 10,12%, pero el método de fermentación oscura es el que tiene mayor viabilidad económica, por lo tanto, los esfuerzos apuntan a mejorar la eficiencia de este método, sobre todo en el sector industrial.

El número de estudios publicados sobre producción de biohidrógeno ha crecido exponencialmente, así lo muestra la revista con mayor número de publicaciones "International Journal of Hydrogen Energy", siendo China el país que lleva la delantera en estudios sobre bio hidrógeno, así mismo se observó que el parámetro con mayor enfoque son los microorganismos los cuales determinan en gran medida el rendimiento final del gas.

Chile va a entrar al mercado del hidrogeno a través de la producción de hidrogeno verde, que le permitirá estar entre los 3 principales exportadores de aquí al año 2025.

8. LITERATURA CITADA

1. Abdeshahian, P., N.K.N. Nasser Al-Shorgani, N.K.M. Salih, H. Shukor, A. Kadier, A.A. Hamid and M.S. Kalil. 2014. The production of biohydrogen by a novel strain *Clostridium sp. YM1* in dark fermentation process. Int. J. Hydrog. Energy 39(24): 12524-12531.
2. Abdoulmoumine, N., S. Adhikari, A. Kulkarni and S. Chattanathan. 2015. A review on biomass gasification syngas cleanup. Appl. Energy 155: 294-307.
3. Aguado, R., J.L. Castelerio, E. Jove, F. Zayas, H. Quintián y J.L. Calvo. 2021. Hidrógeno y su almacenamiento: el futuro de la energía eléctrica. Universidade da Coruña. Coruña, España.
4. Argun, H., F. Kargi. 2010. Bio-hydrogen production from ground wheat starch by continuous combined fermentation using annular-hybrid bioreactor. Int. J. Hydrog. Energy 35: 6170–6178.
5. Arimi, M.M., J. Knodel, A. Kiprop, S.S. Namango, Y. Zhang and S.-U. Geißen. 2015. Strategies for improvement of biohydrogen production from organic-rich wastewater: a review. Biomass Bioenergy 75: 101-118.
6. Avendaño, D., J. Ladino, P. Acevedo e I. Cabezas. 2019. Producción de biohidrógeno mediante fermentación oscura a partir de RSU de una plaza de mercado en Bogotá, Colombia. Tesis, Ingeniero Ambiental.

Universidad Santo Tomás, Facultad de Ingeniería Ambiental. Bogotá, Colombia.

7. Azwar, M.Y., M.A. Hussain and A.K. Abdul-Wahab. 2014. Development of biohydrogen production by photobiological, fermentation and electrochemical processes: A review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 31: 158–173.
8. Brentner, L.B, J. Peccia and J.B. Zimmerman. 2010. Challenges in developing biohydrogen as a sustainable energy source: Implications for a research agenda. *Environ. Sci. Technol.* 44(7): 2243-2254.
9. Burra, K.G., A.K. Gupta. 2018. Synergistic effects in steam gasification of combined biomass and plastic waste mixtures. *Appl. Energy* 211: 230-236.
10. Carmo, M., D.L. Fritz, J. Mergel and D. Stolten. 2013. A comprehensive review on PEM water electrolysis. *Int. J. Hydrog. Energy* 38(12): 4901-4934.
11. Castelló, E., A. Nunes, C. Andreani, M. Anzola, L. Borzacconi, G. Buitrón, J. Carrillo, S. Damasceno, S. I. Maintinguer, I. Moreno, R. Palomo, E. Razo, M. Schiappacasse, E. Tapia, I. Valdez, A. Vesga, M. Zaiat and C. Etchebehere. 2020. Stability problems in the hydrogen production by dark fermentation: Possible causes and solutions [en línea]. *Renew.*

- Sust. Energ. Rev. 119. <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109602>>. [Consulta: 13 abril 2022].
12. Cercado-Quezada, B. 2016. Análisis de los factores que inciden en la producción de biohidrógeno en celdas de electrólisis microbianas. *Rev. Technol. Innov.* 3(8): 21-34.
 13. Chandrasekhar, K., Y.J. Lee and D.W. Lee. 2015. Biohydrogen production: strategies to improve process efficiency through microbial routes. *Int. J. Mol. Sci.* 16(4): 8266-8293.
 14. Chen, C.C., H.P. Chen, J.H. Wu and C.Y. Lin. 2008. Fermentative hydrogen production at high sulfate concentration. *Int. J. Hydrog. Energy* 33(5): 1573-1578.
 15. Cipolla, A., F. Delbrassine, J.L. Da Lage and G. Feller. 2012. Temperature adaptations in psychrophilic, mesophilic and thermophilic chloride-dependent alpha-amylases. *Biochimie* 94(9): 1943-1950.
 16. CNE (Chile). 2019. Reporte mensual ERNC. Volumen N°29. Comisión Nacional de Energía. CNE. Santiago, Chile.
 17. Coelli, T.J. 1996. A guide to DEAP version 2.1: A data envelopment analysis (computer) program [en línea]. Rice University, USA. <<https://www.owl.net.rice.edu/~econ380/DEAP.PDF>>. [Consulta: 13 abril 2022].

18. Cruz, K.R. 2018. Generación de hidrogeno por electrolisis, estado del arte. Trabajo monográfico, Ingeniero en Sistemas de Energía. Universidad de Quintana Roo, División de Ciencias e Ingeniería. Chetumal, México.
19. Dinesh, G.K., R. Chauhan and S. Chakma. 2018. Influence and strategies for enhanced biohydrogen production from food waste. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 92: 807-822.
20. Dinesh, G.H., D.D. Nguyen, B. Ravindran, S.W. Chang, Dai-Viet N. Vo, Q.-V. Bach, H.N Tran, M.J. Basu, K. Mohanrasu, R. S. Murugan, T. A. Swetha, G. Sivapraksh, A. Selvaraj and A. Arun. 2020. Simultaneous biohydrogen (H₂) and bioplastic (poly- β hydroxybutyrate-PHB) productions under dark, photo, and subsequent dark and photo fermentation utilizing various wastes. *Int. J. Hydrog. Energy* 45(10): 5840-5853.
21. Dönitz, W., E. Erdle. 1985. High-temperature electrolysis of water vapor— status of development and perspectives for application. *Int. J. Hydrog. Energy* 10(5): 291-295.
22. ENAP (Chile). 2018. Memoria anual. Empresa Nacional de Petróleo. Santiago, Chile.
23. Eroglu, E., A. Meli. 2011. Photobiological hydrogen production: Recent advances and state of the art. *Bioresour. Technol.* 102(18): 8403-8413.

24. Ferraren De Cagalitan, D.D.T., M.L.S. Abundo. 2021. A review of biohydrogen production technology for application towards hydrogen fuel cells [en línea]. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 151. <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111413>>. [Consulta: 17 marzo 2022].
25. Flores, E. 2020. Estado del arte de electrolizadores de óxido sólido. Trabajo fin de grado, Ingeniería de las Tecnologías Industriales. Universidad de Sevilla, Escuela Técnica Superior de Ingeniería. Sevilla, España.
26. Habashy, M.M., E.S. Ong, O.M. Abdeldayem, E.G. Al-Sakkari and E.R. Rene. 2021. Food waste: A promising source of sustainable biohydrogen fuel. *Trends Biotechnol.* 39(12): 1274-1288.
27. Hafez, H., M. Hesham, M.H. El Naggat and G. Nakhla. 2010. Steady-state and dynamic modeling of biohydrogen production in an integrated biohydrogen reactor clarifier system. *Int. J. Hydrog. Energy* 35(13): 6634-6645.
28. Hosseinzadeh, A., J. Zhou, X. Li, M. Afsari and A. Altaee. 2022. Techno-economic and environmental impact assessment of hydrogen production processes using bio-waste as renewable energy resource [en línea]. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 156. <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111991>>. [Consulta: 23 abril 2022].

29. How, B.S., T.Z. Yeoh, T.K. Tan, K.H. Chong, D. Ganga and H.L. Lam. 2018. Debottlenecking of sustainability performance for integrated biomass supply chain: P-graph approach. *J. Clean. Prod.* 193: 720-733.
30. Javed, M.A., A. Mannan, A. Aly, A. Zaidi, M. Farooq, A. Badawy, T. Lundquist, M. Mostafa, A. Mohamed and S. Al-Zuhair. 2022. The role of oxygen regulation and algal growth parameters in hydrogen production via biophotolysis [en línea]. *J. Environ. Chem. Eng.* 10(1). <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.107003>>. [Consulta: 13 abril 2022].
31. Jiménez, F.L. 2020. Evaluación técnica y económica del uso de hidrógeno verde en aplicaciones para la industria y desplazamiento de combustible fósil. Memoria de título, Ingeniero Civil Eléctrico. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias y Matemáticas. Santiago, Chile.
32. Karaosmanoglu, F., I. Karapinar. 2019. Biohydrogen production from hydrolyzed waste wheat by dark fermentation in a continuously operated packed bed reactor: the effect of hydraulic retention time. *Int. J. Hydrog. Energy* 44(1): 136-143.
33. Kargi, F., S. Ozmihci. 2010. Effects of dark/light bacteria ratio on biohydrogen production by combined fed-batch fermentation of ground wheat starch. *Biomass Bioenergy* 34: 869–874.

34. Kargi, F., N.S. Eren and S. Ozmihci. 2012. Hydrogen gas production from cheese whey powder (CWP) solution by thermophilic dark fermentation. *Int. J. Hydrog. Energy* 37(3): 2260-2266.
35. Karthikeyan, O.P., E. Trably, S. Mehariya, N. Bernet, J.W. Wong and H. Carrere. 2018. Pretreatment of food waste for methane and hydrogen recovery: A review. *Bioresour. Technol.* 249: 1025-1039.
36. Khanna, N., S.M. Kotay, J.J. Gilbert and D. Das. 2011. Improvement of biohydrogen production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08 under regulated pH. *J. Biotechnol.* 152(1–2): 9-15.
37. Koku, H., I. Eroglu, U. Günfüz, M. Yücel and L. Türker. 2002. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. *Int. J. Hydrogen. Energ.* 27: 1315–1329.
38. Kumar, S.S., V. Himabindu. 2019. Hydrogen production by PEM water electrolysis – A review. *Mat. Sci. Energy Technol.* 2(3): 442-454.
39. Kumar, G., T. Mathimani, E.R. Eldon and A. Pugazhendhi. 2019. Application of nanotechnology in dark fermentation for enhanced biohydrogen production using inorganic nanoparticles. *Int. J. Hydrog. Energy* 44(26): 13106-13113.
40. Laocharoen, S., A. Reungsang. 2014. Isolation, characterization and optimization of photo-hydrogen production conditions by newly isolated

- Rhodobacter sphaeroides* KKU-PS5. Int. J. Hydrog. Energy 39(21): 10870-10882.
41. Lay, C.-H., S.-Y. Kuo, B. Sen, C.-C. Chen, J.-S. Chang and C.-Y. Lin. 2012. Fermentative biohydrogen production from starch-containing textile wastewater. Int. J. Hydrog. Energy 37(2): 2050-2057.
42. Lee, D.H. 2021. Biohydrogen yield efficiency and the benefits of dark, photo and dark-photo fermentative production technology in circular Asian economies. Int. J. Hydrog. Energy 46(27): 13908-13922.
43. Lin, C.-H., C.-H. Lay, B. Sen, C.-Y. Chu, G. Kumar, C.-C. Chen and J.-S. Chang. 2012. Fermentative hydrogen production from wastewaters: a review and prognosis. Int. J. Hydrog. Energy 37(20): 15632-15642.
44. Liu, B.F., N.Q. Ren, J. Tang, J. Ding, W.Z. Liu, J.F. Xu, G.L. Cao, W.Q. Guo and G.J. Xie. 2010. Bio-hydrogen production by mixed culture of photo- and dark-fermentation bacteria. Int. J. Hydrog. Energy 35(7): 2858-2862.
45. Lukajtisa, R., I. Hołowacz, K. Kucharska, M. Glinka, P. Rybarczyk, A. Przyjazny and M. Kamiński. 2018. Hydrogen production from biomass using dark fermentation. Renew. Sust. Energ. Rev. 91: 665-694.
46. Luongo, V., A. Ghimire, L. Frunzo, M. Fabbricino, G. d'Antonio, F. Pirozzi and G. Esposito. 2017. Photofermentative production of hydrogen and

- poly- β -hydroxybutyrate from dark fermentation products. *Bioresour. Technol.* 228: 171-175.
47. Masset, J., S. Hilgsmann, C. Hamilton, L. Beckers, F. Franck and P. Thonart. 2010. Effect of pH on glucose and starch fermentation in batch and sequenced-batch mode with a recently isolated strain of hydrogen-producing *Clostridium butyricum* CWB11009. *Int. J. Hydrog. Energy* 35(8): 3371-3378.
48. Mishra, P., S. Krishnan, S. Rana, L. Singh, M. Sakinah and Z. Ab Wahid. 2019. Outlook of fermentative hydrogen production techniques: An overview of dark, photo and integrated dark-photo fermentative approach to biomass. *Energy Strategy Rev.* 24: 27-37.
49. Moreno-Andrade, I., J. Carrillo-Reyes, S.G. Santiago and M.C. Bujanos-Adame. 2015. Biohydrogen from food waste in a discontinuous process: effect of HRT and microbial community analysis. *Int. J. Hydrog. Energy* 40(48): 17246-17252.
50. Nagarajan, D., D.-J. Lee, A. Kondo and J.-S. Chang. 2017. Recent insights into biohydrogen production by microalgae – From biophotolysis to dark fermentation. *Bioresour. Technol.* 227: 373-387.
51. Navarro, R.M., Guil, R. and J.L.G. Fierro. 2015. Introduction to hydrogen production. pp: 21-61. In: V. Subramani, A. Basile and T. Nejat Veziroğlu

Compendium of hydrogen energy. Volume 1: Hydrogen production and purification. Woodhead Publishing. Waltham, USA.

52. Navlani-García, M., K. Mori, Y. Kuwahara and H. Yamashita. 2018. Recent strategies targeting efficient hydrogen production from chemical hydrogen storage materials over carbon-supported catalysts. *NPG Asia Mater.* 10: 277–292.
53. Nipattummakul, N., I.I. Ahmed, A.K. Gupta and S. Kerdsuwan. 2011. Hydrogen and syngas yield from residual branches of oil palm tree using steam gasification. *Int. J. Hydrog. Energy* 36(6): 3835-3843.
54. Nuttall, L.J., A.P. Fickett and W.A. Titterington. 1975. Hydrogen generation by solid polymer electrolyte water electrolysis. pp: 441-455. In: T.N. Veziroğlu (Ed.). *Hydrogen energy*. Plenum Press, New York, USA.
55. Okolie, J.A., R. Rana, S. Nanda, A.K. Dalai and J.A. Kozinski. 2019. Supercritical water gasification of biomass: A state-of-the-art review of process parameters, reaction mechanisms and catalysis. *Sustain. Energy Fuels* 3(3): 578-598.
56. Park, J.H., K. Chandrasekhar, B.H Jeon, M. Jang, Y. Liu and S.H. Kim. 2021. State of the art technologies for continuous high rate biohydrogen production [en línea]. *Bioresour. Technol.* 320(Part A). <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124304>>. [Consulta: 02 marzo 2022].

57. Pason, P., C. Tachaapaikoon, P. Panichnumsin, P. Ketbot, R. Waeonukul, A. Kosugi and K. Ratanakhanokchai. 2020. One-step biohydrogen production from cassava pulp using novel enrichment of anaerobic thermophilic bacteria community [en línea]. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 27. <<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101658>>. [Consulta: 12 abril 2022].
58. Phanduang, O., S. Lunprom, A. Salakkam, Q. Liao and A. Reungsang. 2019. Improvement in energy recovery from *Chlorella* sp. biomass by integrated dark-photo biohydrogen production and dark fermentation-anaerobic digestion processes. *Int. J. Hydrog. Energy* 44(43): 23899-23911.
59. Rai, P.K., S.P. Singh. 2016. Integrated dark- and photo-fermentation: Recent advances and provisions for improvement. *Int. J. Hydrog. Energy* 41(44): 19957-19971.
60. Redondas, V. 2013. Obtención de hidrógeno mediante fermentación oscura de residuos de comida y lactosuero. Tesis, Doctor. Universidad de León, Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad, Área de Ingeniería y Química. León, España.
61. Rochaix, J.D. 2011. Regulation of photosynthetic electron transport. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1807(3): 375-383.

62. Santos, A., Y. Lopes, R. Araújo, E. Cohim and E. Andrade. 2017. Waste bio-refineries for the cassava starch industry: New trends and review of alternatives. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 73: 1265-1275.
63. Sarangi, P.K., S. Nanda. 2020. Biohydrogen production through dark fermentation. *Chem. Eng. Technol.* 43(4): 601-612.
64. Schmidt, O., A. Gambhir, I. Staffell, A. Hawkes, J. Nelson and S. Few. 2017. Future cost and performance of water electrolysis: An expert elicitation study. *Int. J. Hydrog. Energy* 42(52): 30470-30492.
65. Shi, X., X. Liao and Y. Li. 2020. Quantification of fresh water consumption and scarcity footprints of hydrogen from water electrolysis: A methodology framework. *Renew. Energy* 54: 786-796.
66. Sinha, P., A. Pandey. 2011. An evaluative report and challenges for fermentative biohydrogen production. *Int. J. Hydrog. Energy* 36(13): 7460-7478.
67. Soto, O.E. 2020. Análisis conceptual, constructivo y experimental de un electrolizador con diferentes electrodos, para la obtención de hidrógeno desde agua pura y salada. Memoria de título, Ingeniero Civil Electricista. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Santiago, Chile.
68. Sun, Y., J. Hen, G. Yang, G. Sun and V. Sage. 2019. A review of the enhancement of bio-hydrogen generation by chemicals addition [en

- línea]. *Catalysts* 9(4): 353(Art. N°). <<https://www.mdpi.com/2073-4344/9/4/353>>. [Consulta: 26 marzo 2022].
69. Tapia-Venegas, E., J.E. Ramirez, A. Donoso-Bravo, L. Jorquera, J.-P. Steyer and G. Ruiz-Filippi. 2013. Bio-hydrogen production during acidogenic fermentation in a multistage stirred tank reactor. *Int. J. Hydrog. Energy* 38(5): 2185-2190.
70. Tian, H., J. Li, M. Yan, Y.W. Tong, C.-H. Wang and X. Wang. 2019. Organic waste to biohydrogen: A critical review from technological development and environmental impact analysis perspective [en línea]. *Appl. Energy* 256. <<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.113961>>. [Consulta: 26 marzo 2022].
71. Urbaniec, K., R.B. Bakker. 2015. Biomass residues as raw material for dark hydrogen fermentation - A review. *Int. J. Hydrog. Energy* 40(9): 3648-3658.
72. Valdez-Guzmán, E., E.E. Ríos-Del Toro, R.L. Cardenas-López, H.O. Méndez-Acosta, V. González-Álvarez and J. Arreola-Vargas. 2019. Enhancing biohydrogen production from *Agave tequilana bagasse*: Detoxified vs. Undetoxified acid hydrolysates. *Bioresour. Technol.* 276: 74-80.

73. Vásquez, R., F. Salinas. 2019. Tecnologías del hidrógeno y perspectivas para Chile. (2a. ed.). Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH. Bonn. Alemania.
74. Veeravalli, S.S., S.R. Shanmugam, S. Ray, J.A. Lalman and N. Biswas. 2019. Biohydrogen production from renewable resources advanced bioprocessing for alternative fuels. pp: 289-312. In: M. Hosseini (Ed.). Advanced bioprocessing for alternative fuels, biobased chemicals, and bioproducts. Technologies and approaches for scale-up and commercialization. Woodhead Publishing. Sawston, UK.
75. Wongthanate, J., K. Chinnacotpong, and M. Khumpong. 2014. Impacts of pH, temperature, and pretreatment method on biohydrogen production from organic wastes by sewage microflora [en línea]. Int. J. Energy Environ. Eng. 5: 76(Art. N°). <<https://link.springer.com/article/10.1007/s40095-014-0076-6>>. [Consulta: 26 marzo 2022].
76. Wu, S.-Y., C.-N. Lin, and J.-S. Chang. 2008. Hydrogen production with immobilized sewage sludge in three-phase fluidized-bed bioreactors. Biotechnol. Prog. 19(3): 828-232.
77. Xiao, L., Z. Deng, K.Y. Fung and K.M. Ng. 2013. Biohydrogen generation from anaerobic digestion of food waste. Int. J. Hydrog. Energy 38(32): 13907-13913.

78. Zahedi, S., D. Sales, L.I. Romero and R. Solera. 2013. Hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste in anaerobic thermophilic acidogenesis: Influence of organic loading rate and microbial content of the solid waste. *Bioresour. Technol.* 129: 85-91.
79. Zhang, T., D. Jiang, H. Zhang, Y. Jing, N. Tahir, Y. Zhang and Q. Zhang. 2020. Comparative study on bio-hydrogen production from corn stover: Photo-fermentation, dark-fermentation and dark-photo co-fermentation. *Int. J. Hydrog. Energy* 45(6): 3807-3814.
80. Zhang, Q., S. Zhu, Z. Zhang, H. Zhang and C. Xia. 2021. Enhancement strategies for photo-fermentative biohydrogen production: A review [en línea]. *Bioresour. Technol.* 340. <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125601>>. [Consulta: 23 abril 2022].