



Universidad **César Vallejo**

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**Aplicación de Biofotólisis para la Producción de Hidrógeno.
Revisión Sistemática, 2022**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Ingeniera Ambiental

AUTORAS:

Flores Calleñaupa, Fiorella Katy (orcid.org/0000-0001-7970-7057)

Madueño Cereceda, Kathiza Annais (orcid.org/0000-0001-6770-3702)

ASESORA:

Mg. Cabello Torres, Rita Jaqueline (orcid.org/0000-0002-9965-9678)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

2022

Dedicatoria

Fiorella Flores

Primeramente, a Dios por guiarme en cada uno de mis pasos.

A mis padres Ysabel Calleñaupa y Gregorio Flores por permitirme haber crecido profesionalmente y a mi hermana Mery Calderon por haberme impulsado a culminar esta etapa tan importante.

Kathiza Madueño

Dedico el presente trabajo a Dios, ya que es la guía constante en mi vida, a mis padres Juan Madueño Mamani y Rosa Cereceda Huamani, por ser el pilar principal de mi vida y por el apoyo incondicional que me han dado en el transcurso de mi vida profesional.

Agradecimiento

Fiorella Flores

A Dios por estar presente e impulsarme con su amor infinito en esta etapa tan importante de mi formación profesional.

A mi familia por el apoyo infinito que siempre me han demostrado.

A mis hermanas de la vida Betsy Delgado y Margaret Coaguila por sus palabras de ánimo y motivación.

Kathiza Madueño

A Dios por apoyarme y ser mi guía constante en mi vida.

A mis padres Juan Madueño Mamani y Rosa Cereceda Huamani, por el apoyo que me han dado en mi formación profesional.

Índice de contenidos

Carátula	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Índice de abreviaturas	vii
Resumen.....	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
III. METODOLOGÍA.....	22
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	22
3.2. Categorías, subcategorías y matriz de categorización.....	22
3.3. Escenario de estudio.....	26
3.4. Participantes	26
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	26
3.6. Procedimiento	26
3.7. Rigor científico	27
3.8. Método de análisis de datos.....	28
3.9. Aspectos éticos	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
V. CONCLUSIONES	47
VI. RECOMENDACIONES	49
REFERENCIAS	50
ANEXOS	64

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de las algas que producen hidrogeno por biofotólisis	11
Tabla 2. Taxonomía de las bacterias que producen hidrogeno por biofotólisis	12
Tabla 3. Reactores para producir hidrógeno por biofotólisis	15
Tabla 4. Los principales tipos de inhibidores del transporte de electrones y enzimas utilizados para aumentar la producción de hidrógeno.....	17
Tabla 5. Análisis de fortalezas, debilidades, oportunidades y amenazas de la producción de hidrógeno, mediante biofotólisis.....	19
Tabla 6. Matriz apriorística	23
Tabla 7. Tipos de microorganismos para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis.....	29
Tabla 8. Tipos de asistencia para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis.....	34
Tabla 9. Condiciones para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis	38
Tabla 10. Valores de las condiciones primarias para la producción de hidrógeno	41
Tabla 11. Tipo de reactores para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis.....	43

Índice de figuras

Figura 1. Consumo de combustibles alternativos	32
Figura 2. Rutas de producción de hidrógeno biológico	7
Figura 3. Biofotólisis directa de la producción de hidrógeno	8
Figura 4. Biofotólisis indirecta de la producción de hidrógeno.....	9
Figura 5. Metabolismo de las vías de producción de hidrógeno en las algas ..	13
Figura 6. Reactor de Panel Plano (FBR) y Reactor de lecho empacado (PBR)16	
Figura 7. Reactor (EPBR) por lotes.....	16
Figura 8. Procedimiento de investigación.....	27
Figura 9. Producción de hidrogeno en algas y bacterias.....	29
Figura 10. Producción de hidrogeno por biofotólisis según temperaturas y pH 33	
Figura 11. Condiciones para la producción de hidrogeno	42
Figura 12. Tipo de reactores para la producción de hidrogeno	44

Índice de abreviaturas

H ₂	: Hidrógeno
O ₂	: Oxígeno
CO	: Monóxido de carbono
CO ₂	: Dióxido de carbono
GEI	: Gases de efecto invernadero
TAP	: Tris acetato fosfato
ARTP	: Plasma atmosférico y a temperatura ambiente
DCMU	: Diurón
CCCP	: Cianuro de carbonilo m -clorofenilhidrazona
DBMIB	: Dibromotimoquinon
KCN	: Cianuro de potasio
PSI	: Fotosistema I
PSII	: Fotosistema II
NaNO ₂	: Nitrito de sodio
HYDA1-2-3	: Expresión génica de enzimas
QD	: Punto cuántico
FD-HYD	: Ferredoxina - hidrogenasa
PBR	: Fotobiorreactores
ROS	: Especies reactivas de oxígeno
NADPH	: Coenzima - Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
ATP	: Trifosfato de adenosina
LHCII	: Complejo de captación de luz II
Aspen Plus V11	: Simulador de procesos bioquímicos para la producción de energía

Resumen

La presente revisión de literatura se caracteriza por ser de tipo aplicada, con un diseño de investigación de enfoque cualitativo no experimental. Determinando que el hidrogeno es una de las energías más limpias, que tiene un alto contenido de energía y es abundante; es por eso que las investigaciones se han enfocado a la producción de hidrógeno mediante microorganismos como algas y bacterias teniendo muchas ventajas como es el secuestro de CO₂ uno de los gases más contaminantes. El objetivo de la investigación ha sido la aplicación de la biofotólisis directa o indirectamente para la producción de hidrógeno teniendo en cuenta las siguientes categorías 1) Tipos de microorganismos, 2) Tipos de asistencia, 3) Las condiciones y 4) Tipos de reactores. Los resultados indicaron que todos estos factores son importantes para la producción de hidrógeno ya sea por biofotólisis directa o indirecta ya que cada una de estas vías se adecuan según los microorganismos, condiciones y la técnica aplicada para una mejor producción de hidrógeno, los resultados indicaron que el rango efectivo de las condiciones para una producción de hidrógeno es de un pH de 6.5 a 7.5 pH, una T° menor de 50°C; la cual generó una producción de 88 μmol/mg de H₂.

Palabras clave: hidrógeno, biofotólisis, microorganismos, condiciones naturales, tipos de reactores

Abstract

This literature review is characterized by being of an applied type, with a non-experimental qualitative approach research design. Determining that hydrogen is one of the cleanest energies, that it has a high energy content and is abundant; That is why research has focused on the production of hydrogen through microorganisms such as algae and bacteria, having many advantages such as the sequestration of CO₂, one of the most polluting gases. The objective of the research has been the application of biophotolysis directly or indirectly for the production of hydrogen taking into account the following categories 1) Types of microorganisms, 2) Types of assistance, 3) Conditions and 4) Types of reactors. The results indicated that all these factors are important for the production of hydrogen either by direct or indirect biophotolysis since each of these pathways are adapted according to the microorganisms, conditions and the technique applied for a better hydrogen production, the results indicated that the effective range of conditions for hydrogen production is from a pH of 6.5 to 7.5 pH, a temperature of less than 50°C; which generated a production of 88 μmol/mg. of H₂.

Keywords: hydrogen, biophotolysis, microorganisms, operating conditions, types of reactors

I. INTRODUCCIÓN

La sobrepoblación está ocasionando el incremento del consumo mundial de energía, estimulando el uso de combustibles fósiles; los cuales son conocidos como hidrocarburos entre ellos los gases, el petróleo; y el carbón como hidrocarburo sólido (Anto et al., 2020). Estos combustibles fósiles causan un gran impacto ambiental esto se debe a la emisión de diferentes contaminantes atmosféricos, gases de efecto invernadero como el CO₂ y otros; que impactan directamente al agua y suelo, lamentablemente es inevitable el fácil agotamiento de estos combustibles fósiles, enfrentando al mundo actualmente a una crisis energética la cual exige el uso de nuevas tecnologías verdes (Jiménez et al., 2020).

Mona et al., (2020) indica que existen variadas alternativas de energía renovable y sobre todo limpias, el hidrógeno (H₂) es considerado el combustible verde más prometedor debido a su sostenibilidad, eficiencia de conversión y alto potencial energético considerando que 1kg de H₂ contiene la energía de alrededor de 120 MJ, que en comparación a los combustibles tradicional como lo hidrocarburos los superan en gran medida.

La producción de hidrogeno a partir de microorganismos es atractiva comercialmente debido a su potencial como fuente energía renovable y útil (Show, et al. 2018), conocido también como biohidrógeno el cual se produce mediante métodos biológicos y la aplicación de bacterias fermentadoras oscuras, bacterias fotosintéticas, cianobacterias y microalgas verdes, entre los métodos de producción de biohidrógeno se tiene la biofotólisis, fotofermentación y fermentación oscura (Ferraren y Abundo, 2021).

Algunos microorganismos tienen la capacidad de usar la energía de la luz para dividir las moléculas de agua y producir H₂, este proceso impulsado por la luz se llama biofotólisis, la cual se puede clasificar como biofotólisis directa e indirecta, tanto las algas verdes y cianobacterias (Aziz, Darmawan y Juangsa, 2021).

Para la mejora de producción de hidrógeno, se utilizan diferentes reactores entre ellos el Fotobiorreactor anaeróbico por lotes, Fotobiorreactor (PBR), Fotobiorreactor de panel, Fotobiorreactor BioFlo, los cuales se rigen por

parámetros físicos y parámetros fisicoquímicos como son el pH, temperatura, intensidad lumínica; entre otros (Aslam, et al., 2018).

La presente investigación se justificó en pro del aporte ambiental, ya que el hidrogeno como combustible verde es el más sustentable debido a su alto potencial energético puesto que 1 kg de H₂ contiene la energía de alrededor de 120 MJ, dejando atrás a los hidrocarburos Sivaramakrishnan, et al. (2021); en el aspecto social el uso de combustibles fósiles ha aumentado los gases de efecto invernadero impactando directamente al agua y suelo e indirectamente a la salud humana Osman, et al. (2022); en el aspecto económico el presente estudio permitirá reducir gastos porque debido a la contaminación atmosférica y ambiental por el carbón; conlleva miles de vidas y otros miles de millones en gastos de salud pública (Show et al., 2019).

La presente investigación describe la biofotólisis como alternativa de tecnología verde y sostenible para la producción de hidrógeno a través de métodos biológicos, como problema general de la investigación ¿Evaluar la aplicación de la Biofotólisis para la producción de Hidrogeno? así mismo tiene como problemas específicos

PE1: ¿Qué microorganismos son utilizados en la biofotólisis para producir hidrógeno?;

PE2: ¿Qué tipo de asistencia necesita los microorganismos para la producción de hidrógeno?,

PE3: ¿Cuáles son las condiciones y naturales la producción de hidrógeno?,

PE4: ¿Qué tipo de reactores participan son usado en la producción de hidrógeno por biofotólisis?

Asimismo, se plantea como objetivo general: Aplicar la Biofotólisis para la producción de Hidrogeno.

OE1: Describir los microorganismos utilizados en la biofotólisis para producir hidrógeno.

OE2: Analizar los tipos de asistencia para la producción de hidrógeno,

OE3: Analizar las condiciones operativas para la producción de hidrógeno,

OE4: Analizar los tipos de reactores que participan en la producción de hidrógeno por biofotólisis.

II. MARCO TEÓRICO

Fakhimi y Tavakoli, (2019) en su investigación evaluó de la producción de hidrógeno mediante el cocultivo de bacterias (*E. coli*, *P. stutzeri*, *P. putida* y el consorcio bacteriano) con *Chlamydomonas reinhardtii*, para el desarrollo de los cocultivos se utilizó biorreactores herméticamente cerrados, se obtuvo como resultado 54 ml/L, 125 ml/L, 104 ml/L y 100 ml/L, concluyendo que las bacterias ayudan a mantener bajo el oxígeno.

Ban et al., (2019) mutó el alga *Chlamydomonas reinhardtii* con la bacteria *Pseudomonas sp. D* para reducir el contenido de clorofila a través del plasma atmosférico y a temperatura ambiente (ARTP) donde una mutante destacó (A4) produciendo 296 ml/L de H₂, concluyendo que la mutante tenía un diámetro celular mucho mayor y un contenido de clorofila más bajo por unidad de volumen celular es decir una mejor transmisión de luz.

Shastik, et al. (2020) evaluó la *Chlorella pyrenoidosa* en condiciones de privación de nitrógeno donde utilizó agua de mar natural en viales de vidrio en un agitador orbital adicionándole el inhibidor diurón (DCMU), hallando 186 ml/L, concluyó que el fotosistema II (PSII) proporciona más del 85% de los electrones es decir su principal donante de electrones es el agua y el consumo de almidón fue poco debido a las microalgas marinas.

Bechara, Azizi y Boyadjian, (2021) en su estudio de simulación y optimización de procesos para la producción mejorada de hidrógeno biofotolítico a partir del alga *Chlamydomonas reinhardtii* empleando el método de privación de azufre, utilizó un simulador de procesos comercial Aspen Plus V11 que se usa para procesos bioquímicos, demostró que se mejoró en un 54% más de producción de hidrógeno

(Yu et al., 2021) cocultivó el alga *Chlamydomonas reinhardtii* y la bacteria *Mesorhizobium sargaii* para mejorar la producción de biomasa e hidrógeno, primero se cultivó el alga pura donde su producción máxima de hidrógeno fue de 43.62 $\mu\text{mol/mg}$ y en el cocultivo fue de 67.46 $\mu\text{mol/mg}$ observándose una

significativa diferencia en el cocultivo, pero al añadir 3 g/l de NaNO₂ (nitrito de sodio) tuvo una producción de 226.98 µmol/mg.

Preethi et al., (2021) en su estudio evaluó el pretratamiento bacteriano secretor de enzimas para la producción eficiente de hidrógeno a partir de lodos activados residuales, el experimento se llevó a nivel laboratorio, inducido por persulfato de sodio y activarlo con álcali de dosificación de 0.015 g/g, hallando 103.8 ml/g de H₂, concluyendo que este pretratamiento bacteriano secretor de enzimas acelera la producción de hidrógeno.

Shekhar et al., (2021) evaluó el metabolismo del hidrógeno por *Escherichia coli* cepas que poseen una sola hidrogenasa en el genoma, se utilizaron 4 isoenzimas de hidrogenasas para el metabolismo del hidrógeno se investigaron cuatro mutantes en cada operón de hidrogenasa y un mutante cuádruple utilizando la glucosa o glicerol como sustrato donde dos (HYDA2 e HYDA3) de ellas destacaron en la producción de hidrogeno, concluyendo que el glicerol es un medio más apropiado para la productividad de hidrógeno.

Engelbrecht et al., (2021) investigo sobre las múltiples isoformas de hidrogenasa del alga *Chlamydomonas reinhardtii* (tiene dos [FeFe]-hidrogenasas), Para generar genes de hidrogenasa con codones mutados, se llevó a cabo el método Quik Change (método de diseño para mejorar las mutaciones múltiples y diferentes, mediante la introducción de codones aleatorios), la investigación electroquímica logro identificar la preferencia catalítica de HYDA2 con las isoformas de ferredoxina para consumir hidrogeno, concluyendo que las múltiples isoformas de la hidrogenasa alienta a futuras investigaciones sobre la conexión de HYDA2 con el consumo de hidrogeno de algas .

Khasimov et al., (2021) el objetivo de este estudio fue determinar el papel estructural y funcional de la bacteria *Thiocapsa bogorovii* que contiene hidrogenasas NiFe, se midió espectrofotométricamente la actividad de la enzima de hidrogenasa, se concluyó que las células con hidrogenasa truncado produjo menos hidrogeno esto se debió a la presencia de azufre.

Corredor et al., (2021) en su estudio analizó los sistemas fotocatalíticos que tienen un catalizador de tipo hidrogenasa y un fotosensibilizadores de punto cuántico (QD) de calcogenuro para la producción fotocatalítica de hidrógeno, el

experimento se llevó a cabo en un reactor de 8 ml bajo agitación magnética logrando comparar el rendimiento de estos sensibilizadores la mayor producción fue de 18.3 mol de H₂, concluimos que estos sistemas proporcionan regeneraciones de sacrificio con respuesta más rápida.

Volgusheva et al., (2019) en su estudio exploró un nuevo biocatalizador para la fijación sostenible de nitrógeno donde se utilizó heterocistos inmovilizados de la *Anabaena* sp. PCC 7120, para su metodología los heterocistos en suspensión (4ml) se transfirieron a viales anóxicos de 10 ml, durante 454 horas produciendo 3 mmol/mg, concluyendo que para una mejor producción de hidrógeno los heterocistos deben estar en un ambiente completamente anaeróbico.

Vargas et al., (2018) , realizó un estudio de investigación con el fin de optimizar la producción de hidrógeno por *Anabaena* sp. en cultivos privados de nitrógeno; usando botellas de vidrio Duran como biorreactores (500 cm³) con 300 cm³ de cultivo; en condiciones de pH 7.2, una temperatura de 24 °C, 12 h luz/oscuridad, intensidad de luz de 4440 y 1.05 kg/m³ de glucosa, utilizando el método de cultivo en dos fases para obtener biomasa bajo limitación de nitrógeno, y la segunda transfiriendo la biomasa a fotobiorreactores para la producción de hidrógeno el cual fue eficiente para esta cianobacteria, los mejores rendimientos de biomasa se obtuvieron a partir de la temperatura de 32 °C, a pH 7.2 y 2.1 kg/m³ de glucosa y a la temperatura de 24 °C, siendo el hidrógeno producido de 8.22 mmol/L con una productividad de 42.56 μmol/L.

Hwang et al., (2018) en su investigación para la producción de biohidrógeno fotosintético en un entorno de aguas residuales y su potencial como energía renovable; utilizó la microalga *Chlorella vulgaris*, para demostrar la producción de hidrógeno anaeróbico y fotosintético impulsada por acetato buscando que este agote el oxígeno, por ello se realizaron pruebas por lotes por duplicado utilizando un biorreactor (PBR) de 500 ml con un volumen efectivo de 300 ml, dando como resultado el agotamiento completo del oxígeno en 5 h incluso con bajas concentraciones de acetato (25 mm); la tasa de agotamiento de oxígeno fue de 1.94 μmol/L a 25 mm de acetato y aumentó linealmente con el aumento de las concentraciones de acetato hasta una tasa máxima de 5.03 μmol/L a 95

mm de concentración de acetato, la consiguiente producción de hidrógeno alcanzó los 170 $\mu\text{mol/L}$ con 2.6 mm de consumo de acetato.

Los combustibles fósiles son los principales recursos para la producción de energía y se explotan para satisfacer las demandas energéticas, estos recursos son limitados y sus tasas de consumo están relacionadas con la emisión de gases de efecto invernadero (GEI), generando en los últimos años, más intereses de investigación en los combustibles alternativos que sean limpios, no tóxicos y sostenibles para sustituir el suministro de energía basado en combustibles fósiles (Nabgan et al., 2021), el Hidrógeno (H_2) es un portador de energía, que tiene un alto poder calorífico de 122 kJ/g y una mayor eficiencia de calentamiento 2.75 veces que los combustibles de hidrocarburos (Ahmed et al., 2022).

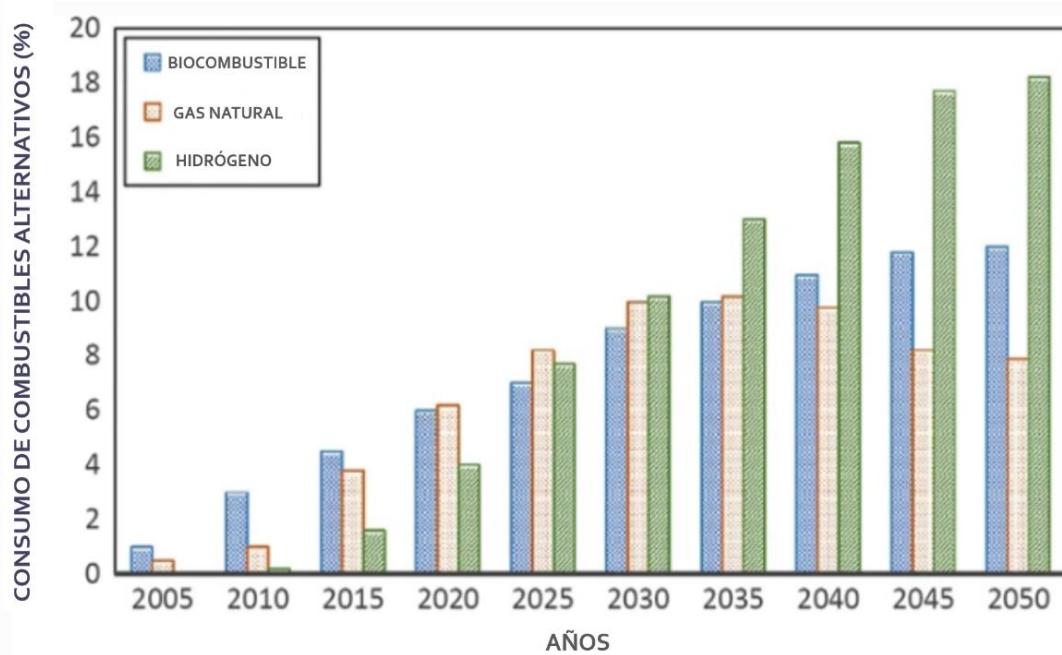


Figura 1. Consumo de combustibles alternativos. Fuente: Razu, Hossain y Khan, (2019)

El hidrógeno se encuentra en el agua y en compuestos orgánicos pero prácticamente no existe en estado libre en la tierra y se puede producir con diversos procesos que requieren energía; no es un recurso energético primario sino un “vector” energético, se caracteriza por una alta inflamabilidad y difusividad (Chai et al., 2021).

Según Agaton, Batac y Reyes, (2022) una opción de hidrógeno sin carbono es la producción de hidrógeno a partir de energías renovables conocido como hidrógeno verde siendo este el más prometedor debido a su sostenibilidad, alto potencial energético y eficiencia de conversión.

La producción de hidrógeno a partir de biomasa y residuos sólidos orgánicos se puede realizar a través de varias rutas diferentes: termoquímica, biológica y electroquímica; con respecto a la ruta de conversión biológica, este puede ser a través de la fermentación (incluyendo la fotofermentación y la fermentación oscura); la biofotólisis (biofotólisis directa e indirecta), electrólisis enzimática y microbiana (Aziz, Darmawan y Juangsa, 2021).

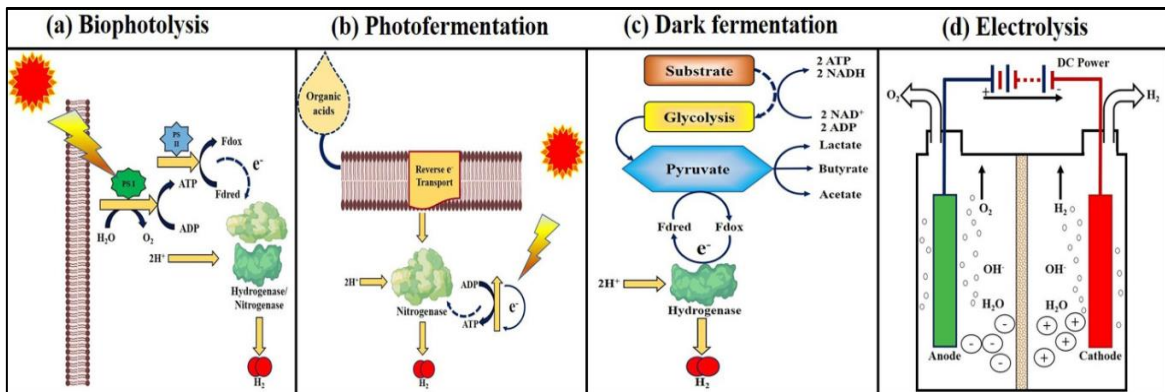


Figura 2. Rutas de producción de hidrógeno biológico. Fuente: Sivaramakrishnan et al., (2021).

Nuestra investigación se enfocó en el método de la biofotólisis que involucra la captura y transición de la energía de la luz solar o artificial en hidrógeno por medio de la fotosíntesis (Javed et al., 2022).

Sivaramakrishnan et al., (2021) indica que la biofotólisis directa es similar al proceso de fotosíntesis, ocurre en algas y células vegetales a raíz de una combinación de procesos biológicos y químicos; una molécula de agua es utilizada por el mecanismo de fotosíntesis microbiana para transferir energía solar a hidrógeno molecular, la biofotólisis del agua genera hidrógeno mediante una enzima llamada enzima hidrogenasa la cual recibe electrones de la ferredoxina; al final de la biofotólisis se liberan dos protones de la molécula de agua formándose el hidrogeno por la presencia de hidrogenasa o por reducción

de CO₂ por fotosistema I (PSI), la biofotólisis directa se puede observar a través de las siguientes reacciones:



Por su parte Razu, Hossain y Khan, (2019) mencionan que naturalmente la biofotólisis directa es una metodología muy atractiva la cual usa la energía solar para alterar un sustrato que se obtiene fácilmente, el agua, en oxígeno e hidrógeno, sin embargo precisa que en la práctica se limita por otros problemas como la actividad de la enzima hidrogenasa que es afectada por O₂ debido a que está relacionado durante el proceso directo de biofotólisis y, por lo tanto, inhibe el H₂ producir explorándose un método para superar esta limitación aumentando el proceso de respiración utilizando sustratos endógenos o exógenos.

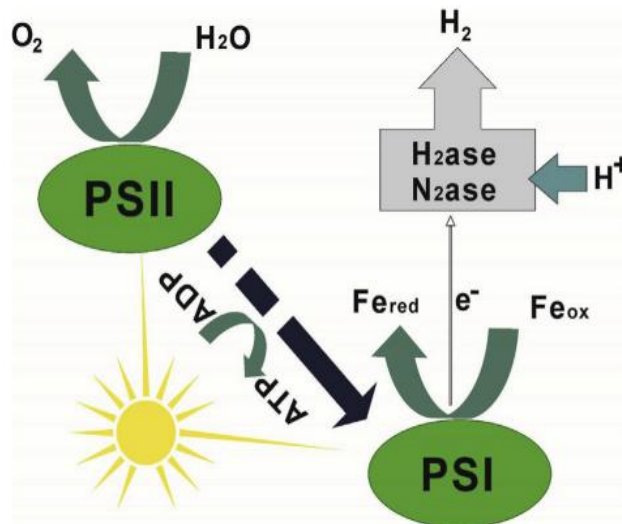


Figura 3. Biofotólisis directa de la producción de hidrógeno. Fuente: Bolatkhan et al., (2019)

Bolatkhan et al., (2019) en el proceso de la biofotólisis indirecta tiene dos pasos en primer lugar la síntesis de carbohidratos pasa bajo la luz, en segundo lugar el hidrógeno se obtiene a partir de carbohidratos mediante fotofermentación, en la producción de hidrógeno a partir de biofotólisis indirecta con cianobacterias se puede observar a través de las siguientes reacciones:



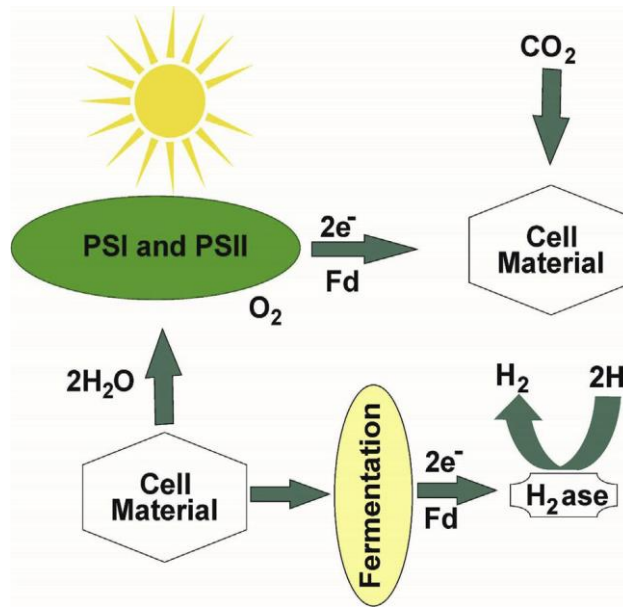


Figura 4. Biofotólisis indirecta de la producción de hidrógeno. Fuente: Bolatkhan et al., (2019)

Razu, Hossain y Khan, (2019) por primera vez, *Anabaena* sp. se utiliza para demostrar mecanismos indirectos la biodegradación puede producir tanto hidrógeno como oxígeno, usando nitrogenasa, aunque el sistema heteroquístico es muy atractivo para H₂, desde un punto de vista biológico, hay tres grandes desventajas como la producción simultánea de oxígeno e hidrógeno, que es inflamable y costoso; se requiere un gran fotorreactor cerrado.

Prabakar et al., (2018) el desarrollo y uso de métodos biológicos es muy rentable para la producción industrial de biohidrógeno y es la forma más importante de reducir y eliminar el uso y la producción de productos químicos peligrosos durante el diseño, la fabricación y el uso. La producción biológica de hidrogeno no solo está libre de contaminación, sino que también ayuda a eliminar los contaminantes de muchos hábitats (Dayal et al., 2022).

A lo largo de los años, se han utilizado varios bioprocesos para aumentar la producción de biohidrógeno, la integración de **microorganismos** es la forma más efectiva de aumentar la eficiencia de bioprocesos y mejorar la producción de biohidrógeno (Saha, Bhattacharya y Mukhopadhyay, 2022).

Entre las algas más estudiadas y utilizada como modelo se tiene el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* para producir hidrogeno esto es debido a la

actividad de la enzima hidrogenasa (isozima FeFe), a nivel genético y a su facilidad de cultivo (Ban et al., 2018)

El alga *Chlorella vulgaris* puede producir hidrogeno sin privación de nutrientes Touloupakis et al. (2021) y en un consorcio con las bacterias tiene un enfoque prometedor para producir hidrógeno debido a la condición anaeróbica que se desencadena (Javed, Zafar y Aly Hassan, 2022)

Chlamydomonas reinhardtii es un alga verde unicelular más estudiada debido a sus dos vías dependientes de la luz y la fermentativa, se le han aplicado diferentes técnicas para mejorar la producción de hidrógeno Fakhimi, Dubini, et al. (2019), también los resultados nos indican que dicha alga produce más H₂ en medios que contienen acetato (Ban et al., 2018).

Chlorella pirenoidosa en un medio de agua natural de mar privado de nitrógeno genera H₂ aún menor costo, la contribución del almidón también fue significativa (Shastik et al., 2020)

Parachlorella kessleri es una alga que es eficiente productor de lípidos ya que al privarlo de nutrientes especialmente de nitrógeno estimula el almacenamiento de lípidos y suspende la actividad de los fotosistemas, teniendo en cuenta que el fotosistema II es encargado de las condiciones de crecimiento de la alga (Manoyan et al., 2022).

Chlorella protothecoides capaz de producir hidrógeno y lípidos en privación de nitrógeno, estas condiciones acumularon de Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH) y las especies reactivas de oxígeno (ROS) , lo que impulsó la producción de lípidos Zhang, Li y Liu, (2022). *Scenedesmus sp.* tiene una eficiencia fotosintética y una tasa de fijación de CO₂ para la producción de hidrógeno (Arun et al., 2020).

Scenedesmus sp., *Chlorella sp.* y *Chlamydomonas* tienen la capacidad de suprimir contaminantes en lugares contaminados con medicamentos y la *Scenedesmus obliquus* elimino significativamente el óxido de hierro al (100%) empleado en un suelo contaminado (Kandasamy et al. 2021)

Chlorella protothecoides, *Chlorella sp.*, *Scenedesmus sp.* y *Scenedesmus obliquus* muestran una mejor acumulación de hidrógeno en cocultivos con bacterias que con un cultivo puro de algas (Ban et al., 2018)

Tetraspora sp. el alga responde significativamente mediante la inmovilización de las células en condiciones anaeróbicas y privadas de azufre para mejorar aún más la producción de hidrógeno (Maswana et al., 2018).

Tabla 1. Taxonomía de las algas que producen hidrogeno por biofotólisis

ESPECIE	GÉNERO	FAMILIA	CLASE
<i>Chlorella vulgaris</i> CCALA256	<i>Chlorella</i>	Chlorellaceae	Trebouxiophyceae
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 704	<i>Chlamydomonas</i>	Clamidomonadáceas	Clorofíceas
<i>Chlorella pirenoidosa</i> IOAC707S	<i>Chlorella</i>	Chlorellaceae	Trebouxiophyceae
<i>Parachlorella kessleri</i> RA-002	<i>Parachlorella</i>	Chlorellaceae	Trebouxiophyceae
<i>Chlorella protothecoides</i> FACHB-3	<i>Chlorella</i>	Chlorellaceae	Trebouxiophyceae
<i>Chlorella sp.</i>	<i>Chlorella</i>	Chlorellaceae	Trebouxiophyceae
<i>Scenedesmus sp.</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Clorofíceas
<i>Scenedesmus obliquus</i> FACHB-416	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Clorofíceas
<i>Tetraspora sp.</i>	<i>Tetraspora</i>	Tetrasporáceas	Clorofíceas

Fuente: AlgaeBase, (2022).

Se ha dedicado mucho trabajo a la evaluación de procesos para la producción de hidrógeno por cianobacterias debido a sus propiedades morfológicas y metabólicas lo aprueban como un esperanzador para producir H₂ (Sadvakasova et al., 2020)

Las cianobacterias son un grupo filogenéticamente de muchos años atrás de microorganismos fototróficos procarióticos, tienen una amplia variedad debido a su manejo biológico con eficaces adaptaciones en varios ecosistemas (Ban, Lin y Luo, 2019).

Pseudomonas sp. es una de las bacterias más asociadas al cocultivo con las algas para producir más hidrógeno, aparte que disminuye la reducción del

fotosistema II en el transporte de electrones a la enzima hidrogenasa (Ban, et al., 2018). *Thiomonas intermedia* tiene propiedades oxidantes de azufre y es muy eficiente en los cocultivos por el ambiente anaeróbico que logra, además de acumular almidón y el contenido de clorofila (He et al., 2018).

En un estudio de cocultivo con el alga *Chlamydomonas reinhardtii* en cooperación con las bacterias *Rhizobium etli* y *Escherichia coli* indicaron el papel importante que tiene el ácido acético para inducir hipoxia (Fakhimi, Tavakoli, et al., 2019).

Desertifilum sp. es una cianobacteria que mejora la producción de hidrogeno con el uso de inhibidores como el DCMU y la *Synechocystis sp.* con la aplicación de inmovilización en la biofotólisis indirecta Kossalbayev et al., (2020). La cianobacteria filamentosa *Anabaena variabilis* tiene células especializadas en fijación del nitrógeno (Vargas et al., 2018).

Tabla 2. Taxonomía de las bacterias que producen hidrogeno por biofotólisis

ESPECIE	GÉNERO	FAMILIA	CLASE	FILO
<i>Pseudomonas sp. D</i>	<i>Pseudomonas</i>	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
<i>Thiomonas intermedia</i> BCRC 17547	<i>Thiomonas</i>	Comamonadaceae	Betaproteobacteria	Proteobacteria
<i>Rhizobium etli</i> CFN42	<i>Rhizobium</i>	Rhizobiaceae	Alfaproteobacteria	Proteobacteria
<i>Escherichia coli</i> K-12	<i>Escherichia</i>	Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	Proteobacteria
<i>Desertifilum sp. IPPAS B-1220</i>	<i>Desertifilum</i>	Desertifilácea	Melainabacteria	Cianobacterias
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	<i>Synechocystis</i>	Merismopediaceae	Melainabacteria	Cianobacterias
<i>Phormidium tenue</i> AUS-JR/MT/NT-109	<i>Phormidium</i>	Oscillatoriaceae	Melainabacteria	Cianobacterias
<i>Anabaena variabilis</i> A-1	<i>Anabaena</i>	Nostocaceae	Melainabacteria	Cianobacterias
<i>Fischerella muscicola</i> TISTR 8215	<i>Fischerella</i>	Hapalosiphonaceae	Melainabacteria	Cianobacterias

Fuente: Brenner, Krieg y Staley, (2012).

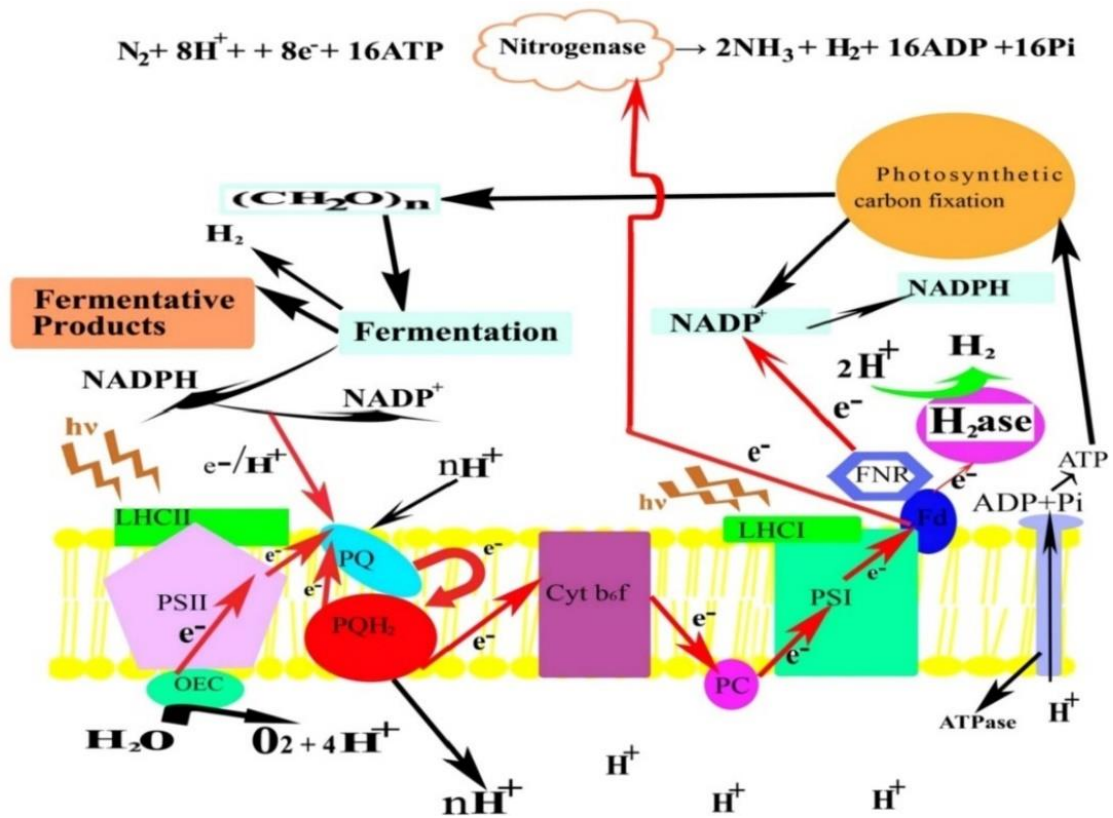


Figura 5. Metabolismo de las vías de producción de hidrógeno en las algas

Fuente: Dayal et al., (2022).

La energía luminosa capturada por los complejos de recolección de luz fotosistema I (PS I) y el complejo de captación de luz II (LHCII) del fotosistema II (PS II) los electrones son generados por un complejo generador de oxígeno (OEC), seguidamente los electrones se transportan a la cadena fotosintética de transporte de electrones a través de la plastoquinona (PQ), el complejo citocromo b6 /f (Cyt b6/f), la plastocianina (PC), el fotosistema I (PS I), la ferredoxina (Fd) y finalmente se transfieren los electrones al NADP más la vía ferredoxina-NAD (P) reductasa, la puede recibir electrones de Fd en ambientes anaeróbicos. El almidón puede funcionar como una fuente de hidrógeno y electrones para la hidrogenasa en entornos anaeróbicos (Dayal et al., (2022).

El metabolismo de las cianobacterias utilizó ampliamente la biofotólisis directa para dividir el agua en iones hidrogeniones (H^+) y oxígeno O_2 con el uso de energía luminosa, cuando la energía de la luz es absorbida por las células de las cianobacterias, aumenta la oxidación de las moléculas de agua en el fotosistema II (PSII), los protones liberados se utilizan para generar ATP y los electrones se

transportan a cloroplasto-ferredoxina a través del fotosistema I (PSI), la ferredoxina juega el papel de donante de electrones para [FeFe]-hidrogenasas, lo que ayuda a restaurar H^+ a la molécula de hidrógeno (Kossalbayev et al., 2020).

Existen variadas **condiciones** operativas involucradas en la producción de hidrógeno a partir microorganismos, la temperatura T^0 de operación y el pH son los principales parámetros de los procedimientos bioquímicos, la T^0 controla el comportamiento morfológico, fisiológico y celular de los microorganismos, una T^0 más alta conduce al aumento de las actividades metabólicas y también afecta la tasa de producción de hidrógeno, asimismo existe un gran impacto del pH en la producción de hidrógeno; ya que es un parámetro determinante para condiciones ácidas y alcalinas; la tasa de producción de hidrógeno depende del pH interno de las células porque el pH decide la concentración de protones, lo que puede afectar el proceso metabólico, lo que tiene como resultado el efecto sobre la tasa de producción de hidrógeno, del mismo modo existen diferentes nutrientes como el carbono, el nitrógeno, el fósforo, el azufre y el potasio los cuales juegan un papel significativo, la presencia de bastantes nutrientes y los cambios en la carga orgánica pueden afectar el desarrollo de los microorganismos (Singh et al. 2021).

Por su lado (Brar et al., 2022) indica que la producción de H_2 se ve afectada por condiciones como el inóculo, el tipo de reactor, el tipo de sustrato y su concentración, los nutrientes, el pH y la temperatura, donde el pH se considera que es la principal condición que afecta la actividad microbiana, crecimiento, sus vías metabólicas y la producción de H_2 , el trabajo anterior ha demostrado que el rango de pH de 6.5 a 7.5 es óptimo para el rendimiento máximo de H_2 o las tasas específicas de producción de H_2 cuando se utilizan microorganismos purificados o mixtos.

Los **reactores** en términos de producción de hidrógeno no solo están limitados por parámetros físicos, como la cantidad de luz que ingresa al reactor, sino también por parámetros fisicoquímicos que afectan las rutas bioquímicas, los principales parámetros fisicoquímicos que afectan el proceso de generación de hidrógeno son: pH, temperatura, intensidad lumínica; entre otros (Aslam et al. 2018).

Los reactores usados para la producción de hidrogeno por Biofotólisis son los siguientes:

Tabla 3. Reactores para producir hidrógeno por biofotólisis

TIPOS	CARCATERISTICAS
FOTOBIORREACTOR ANAERÓBICO POR LOTES	El hidrógeno se produce a partir de la plataforma de celda de combustible microbiana colocada en el biorreactor.
FOTOBIORREACTOR (PBR)	La actividad microbiana está limitada dentro de la biomasa heterogénea y la mezcla hidráulica es menor en comparación con los biorreactores de tanque agitado.
FOTOBIORREACTOR DE PANEL	Tiene éxito a pequeña escala solo con una cepa de algas uniforme, bajo consumo de energía y alto rendimiento de biomasa. El principal inconveniente de este diseño es la mezcla ineficiente de gases y la temperatura controlada
FOTOBIORREACTOR BIOFLO	Es un sistema de biorreactor/fermentador a escala de laboratorio, los nuevos modos de cultivo automatizados prometen control de procesos para aplicaciones microbianas y de cultivo celular.

Fuente: Singh et al., (2021).

Los tipos de reactores en estudio que intervienen en la biofotólisis son, el Biorreactor de Panel Plano (FBR), el cual captura la luz de manera eficientemente, y posee alto coeficiente de transferencia de gas y control de temperatura tiene esfuerzo de corte bajo, acumulación de oxígeno en el panel y bajo rendimiento de hidrógeno (Singh et al. 2021).

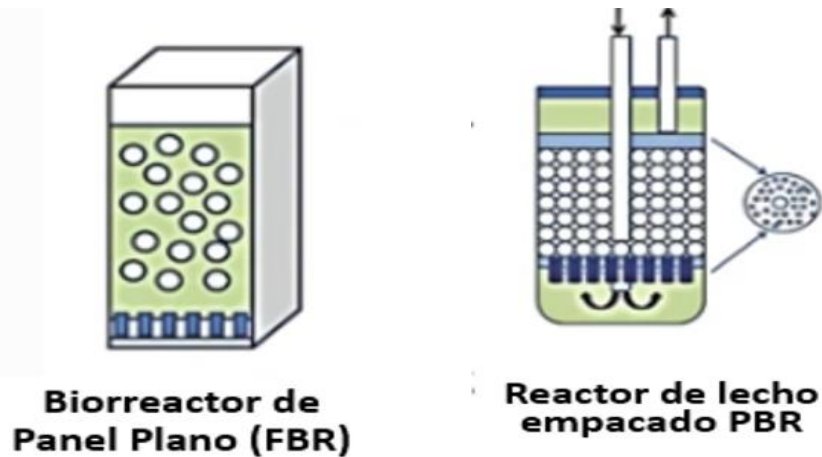


Figura 6. Reactor de Panel Plano (FBR) y Reactor de lecho empacado (PBR)

Fuente: Singh et al., (2021).

Biorreactor de lecho empacado (PBR), se adjunta con portadores de apoyo mezcla menos turbulenta económicamente viable y factible para escalar, gradiente de pH, requiere recirculación, necesita un flujo de recirculación para lograr un alto rendimiento de hidrógeno (Zou et al. 2018).

Según Palma et al., (2020), los reactores BioFlo cuentan con bioprocesos de sobremesa con la flexibilidad para vigilar los recipientes auto-claves y el desarrollo de fermentación y cultivo celular, cada sistema tiene una estación de control, por su parte, (Hasnaoui et al., 2020) indico que el Reactor (EPBR) por lotes podría ser un medio eficiente y económico de producción de hidrógeno dadas sus altas tasas de producción de hidrógeno según estudios realizado a pesar del bajo rango de potenciales y densidad de corriente.

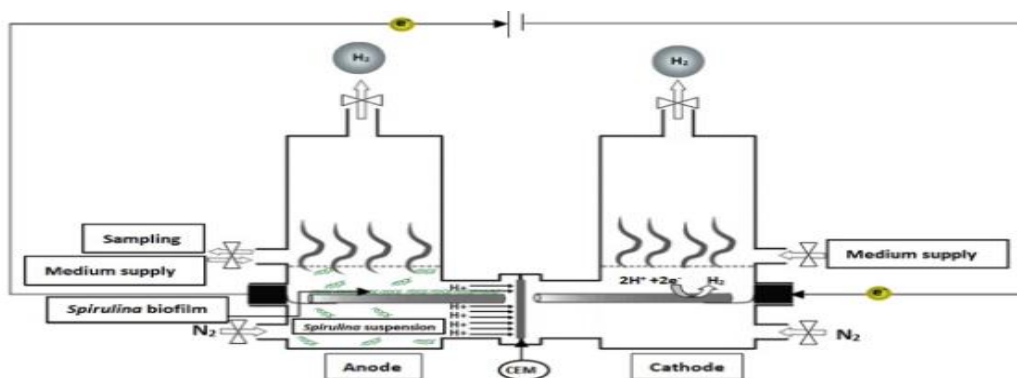


Figura 7. Reactor (EPBR) por lotes. Fuente: Singh et al., (2021).

Existen varios **métodos** para aumentar la producción de hidrógeno tenemos los siguientes: Inhibidores, privación de azufre, privación de nitrógeno, micronutrientes, inmovilización, cocultivos y la construcción de mutantes genéticos (Sadvakasova et al., 2020).

Sadvakasova et al., (2020), como se sabe la enzima hidrogenasa y nitrogenasa son sensibles al oxígeno para mejorar dicha sensibilidad se utiliza los inhibidores, su principal uso es inhibir en la actividad del fotosistema II (PSII) y crear condiciones anaeróbicas.

En la siguiente tabla se muestra los inhibidores más estudiados:

Tabla 4. Los principales tipos de inhibidores del transporte de electrones y enzimas utilizados para aumentar la producción de hidrógeno

INHIBIDOR	ABREVIATURA	MICROORGANISMO	PRODUCCIÓN DE H ₂
Diurón	DCMU	<i>Anabaena siamensis</i> TISTR 8012	22 µmol /mg
Cianuro de carbonilo <i>m</i> - clorofenilhidrazona	CCCP	<i>Aphanothece halophytica</i>	39.5 µmol/g
dibromotimoquinon	DBMIB	<i>Nostoc muscorum</i>	15 mol/ml
Cianuro de potasio	KCN	<i>Synechocystis</i> sp. CCP 6803	147 µmol/mg
Cianinda	-	<i>A. siamensis</i> TISTR 8012	22,0 µmol/mg

Fuente: (Sadvakasova et al. 2020)

La privación de azufre fue una de las primeras propuestas para la biofotólisis indirecta utilizando dos etapas para la evolución de la fotosíntesis, subsidiado con acetato conduce a una prohibición parcial y reversible de la oxidación del agua en el fotosistema II, limitando el oxígeno que es liberado por este fotosistema, consiste en dañar a la proteína D1 que protege a dicho fotosistema, dando un ambiente anaeróbico y esta privación de azufre se consideró eficaz debido a la producción constante de hidrógeno (Li et al., 2022).

La producción de hidrógeno por el método de privación de nitrógeno es uno de los más eficaces y económicos, superando la privación de azufre, este método puede servir para el equilibrio redox Morsy, Elbahloul y Elbadry, (2019). En ausencia de nitrógeno se requieren menos ATP pero en presencia de nitrógeno se requiere más ATP para producir 1 mol de hidrógeno (Javed et al., 2022).

Un medio nutritivo afectó directamente en las enzimas, los compuestos orgánicos simples aumentan la producción de hidrógeno debido a la donación de electrones acelerando la actividad de la nitrogenasa y por último el uso de manosa, glucosa y glicerina suman la tasa de hidrógeno (Sadvakasova et al., 2020).

En el desarrollo sostenible de la producción de hidrógeno, se está empleando la inmovilización celular como tecnología prometedora para disminuir la limitación de la difusión de O₂ en la matriz celular, para una matriz de soporte ecológica, se utiliza ampliamente el agar para optimar la producción de H₂, cuyo logro se viene demostrando tanto en algas verdes como en cianobacterias, la inmovilización celular en agar podría extender la producción de H₂ hasta 108 (Wutthithien, Lindblad y Incharoensakdi, 2019).

La cooperación entre algas y bacterias es muy favorable para la producción de hidrógeno y su interacción entre ellas tiene muchos beneficios para aumentar la producción de hidrógeno, estos cocultivos dan como resultado aproximadamente 50-60% más mejoría en la producción que cuando producen hidrógeno independientemente (Iqbal et al., 2022).

Según Ban et al., (2018) debido a sus estudios realizados con algas y bacterias encuentra los siguientes beneficios: Elimina la sensibilidad de la hidrogenasa por el ambiente completamente anaeróbico, Ralentizó la reducción del contenido de clorofila en las células de algas, en comparación con la privación de azufre logra proteger la integridad funcional del cloroplasto de un daño excesivo demasiado pronto, logra mantener el crecimiento de la flora bacteriana mediante el suministro de suficiente O₂ y compuestos orgánicos potenciales, mejora la acumulación de almidón.

Otra manera de optimizar el hidrógeno es el control genético en el metabolismo del hidrógeno, económicamente es viable la construcción de mutantes genéticos para la obtención de hidrógeno (Khosravitarbar y Hippler, 2019), eliminando la baja eficiencia de las antenas colectoras de luz y la sensibilidad de las enzimas; todos estos cambios genéticos fueron significativos en comparación con el de tipo salvaje (Sadvakasova et al., 2020).

Tabla 5. Análisis de fortalezas, debilidades, oportunidades y amenazas de la producción de hidrógeno, mediante biofotólisis

ESCRIBE	FORTALEZAS	DEBILIDADES	OPORTUNIDADES	AMENAZAS/DESAFÍOS
Técnico	El hidrógeno es un subproducto de la división del agua.	Bajas tasas de producción de H ₂ para estos PBR de gran capacidad	Aplicaciones para plantas industriales a gran escala con potencial H ₂	Inactivación de hidrogenasa por evolución de oxígeno durante la fotólisis.
	Operar en condiciones ambientales y suaves	La sensibilidad al oxígeno del proceso impide un rendimiento suficiente de H ₂	Detección de nuevas especies microbianas y de algas de una amplia colección de especies, con un enfoque especial en la alta productividad	Datos disponibles para pocas especies de microalgas; no puede considerarse como estándar para otras especies
	El abundante aporte de luz y microalgas	10% de eficiencia de conversión	Nuevas estrategias para un menor consumo de energía integrado con PBR y alta producción de H ₂	Variaciones de escalado de laboratorio a escala industrial
	Varios diseños de fotobiorreactores (PBR) según la ubicación, el tipo de algas y la intensidad de la luz	Se necesita un control estricto de varios parámetros.		
		Diferentes especies de algas poseen diferentes efectos paramétricos.		

		Se necesita una distribución equitativa de la luz en los PBR para evitar los efectos de sombreado		
		Desconocimiento del metabolismo celular y enzimático		
Económico	Mayores ingresos y amortización de las unidades de producción de H ₂ a gran escala	Las aplicaciones a gran escala todavía están en marcha	Modo de energía relativamente costoso/caro, por ejemplo, \$50/m ² (\$2,13/kg de H ₂) en el caso de DP y \$135/m ² (\$1,42/kg de H ₂) en el caso de iDbP	Tiempo de retorno de la inversión' a largo plazo aprox. 10 años
	Fuente de producción de energía directa que elimina el costo de refinación y posprocesamiento	No rentable para pequeñas unidades	Centrarse en factores de bajo consumo de energía y costos (por ejemplo, tipos de luz y PBR)	Tecnologías inmaduras con alto costo y baja energía, manteniendo alejado el interés de los investigadores y las industrias.
	Construir un nuevo mercado de energía sostenible centrado en la energía renovable y vías rentables	Alto costo de mantenimiento con baja eficiencia	Desarrollar nuevas reglas y regulaciones para atraer inversores y el mercado para construir plantas experimentales a gran escala.	

Comercial	Aplicable comercialmente para diferentes tipos de PBR por lotes	Proceso no lo suficientemente maduro y experiencia limitada para su aplicación en unidades a gran escala	Estrategia adecuada de ampliación con la capacidad de adaptarse y ajustarse según el tipo de microalgas	Alto riesgo de pérdida de energía con producción de baja energía en condiciones exteriores en cultivos de gran volumen
	Aplicaciones a escala piloto y de laboratorio	Aplicaciones limitadas sobre almacenamiento y uso de energía (actualmente en progreso)		Regulación de temperatura y esterilización
	Varias especies potenciales de microalgas con alto potencial	Riesgo de mezcla inadecuada, especialmente en aplicaciones a gran escala		
		Mejor control de las fluctuaciones dinámicas de temperatura para PBR al aire libre a gran escala		
Ambiental	Vía independiente del carbono	La producción de nitrógeno por las bacterias fotosintéticas es un factor limitante	Uso de aguas residuales	Problemas ambientales de eutrofización si se maneja incorrectamente
	Producción de energía verde			
	Fuente limpia y sostenible para el combustible y la energía del futuro	Dependencia del uso de fuentes limitadas de agua y tierra.	Uso de efluentes reciclados para requerimientos minerales de diversas industrias	Manejo del efluente residual del proceso

Fuente: Javed et al., (2022)

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación.

La investigación se caracterizó por ser de tipo aplicada, en la cual el problema estaba establecido y es conocido por el observador, por lo que se utilizó la investigación para dar respuesta a preguntas precisas, en este tipo de investigación estuvo enfocado en resolver los problemas, se centró específicamente en cómo se pueden llevar a la práctica las teorías (Guillen et al., 2019).

Respecto al diseño de investigación fue de enfoque cualitativo no experimental a través de narrativo de tópicos, debido a que se utilizó la recolección y análisis de los datos existentes para la producción de hidrógeno por biofotólisis, de esta manera se precise las preguntas de investigación, en resumen el enfoque de esta investigación busco la expansión de la información mediante la literatura analizada (Hernández, 2014).

3.2. Categorías, subcategorías y matriz de categorización

Para la investigación sus categorías y subcategorías fueron apriorísticas, se tuvo en cuenta todos los principios innatos de la investigación y según la literatura analizada, se consideraron las siguientes categorías 1) tipos de microorganismos: algas y bacterias, 2) tipos de asistencia: enzima hidrogenasa y enzima nitrogenasa, 3) las condiciones operativas: temperatura, intensidad de luz, pH, nutrientes, fuentes de carbono, 4) tipos de reactores.

Tabla 6. Matriz apriorística

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	PROBLEMAS ESPECÍFICOS	CATEGORIAS	SUB CATEGORÍAS		REFERENCIA
Describir los microorganismos utilizados en la biofotólisis para producir hidrógeno	¿Qué microorganismos son utilizados en la biofotólisis para producir hidrógeno?	Microorganismos	Algas	<i>Chlorella protothecoides</i>	Javed, Zafar y Aly Hassan, (2022)
				<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Fakhimi et al., (2019)
				<i>Chlorella pirenoidosa</i>	Li, Zhang y Liu, (2021)
				<i>Parachlorella kessleri</i>	Manoyan et al., (2022)
				<i>Chlorella sp.</i>	Ban et al., (2018)
				<i>Scenedesmus sp.</i>	
				<i>Scenedesmus obliquus</i>	

			Bacterias	<i>Pseudomonas sp</i>	Ban, Lin y Luo, (2019)
				<i>Thiomonas intermedia</i>	He et al., (2018)
				<i>Rhizobium etli</i>	Tavakoli et al., (2019)
				<i>Escherichia coli</i>	
				<i>Desertifilum sp.</i>	Kossalbayev et al., (2020)
				<i>Synechocystis sp.</i>	
				<i>Phormidium tenue</i>	Kossalbayev et al., (2022)
				<i>Anabaena variabilis</i>	
				<i>Rodoplanos piscinae</i>	Canpolat y Ozturk, (2022)

Analizar los tipos de asistencia para la producción de hidrógeno	¿Qué tipo de asistencia necesita los microorganismos para la producción de hidrógeno?	Tipo de Asistencia	Enzima Hidrogenasa	Preethi et al., (2021)
			Enzima Nitrogenasa	Volgusheva et al., (2019)
Examinar las condiciones operativas en la producción de hidrógeno	¿Cuáles son las condiciones operativas de la producción de hidrógeno?	Condiciones operativas	Radiación solar, temperatura, pH, nutrientes	Vargas et al., (2018)
Analizar los tipos de reactores que participan en la producción de hidrógeno por biofotólisis	¿Qué tipo de reactores participan son usado en la producción de hidrógeno por biofotólisis?	Tipo de reactores	Fotobiorreactor anaeróbico por lotes	Vargas, Zaiat y Calijuri, (2021)
			Fotobiorreactor (PBR)	Hwang et al., (2018)
			Fotobiorreactor de panel	Elkahlout et al., (2019)
			Fotobiorreactor BioFlo	Dudek et al., (2018)

Fuente: Elaboración propia

3.3. Escenario de estudio

En la investigación cualitativa, el escenario de estudio está basado en una revisión sistemática sobre la aplicación de la biofotólisis para la producción de hidrógeno el cual se determinó en base a diferentes libros, artículos de investigación y revisión, pertenecientes a revistas científicas.

3.4. Participantes

En la investigación, los participantes fueron todos los documentos bibliográficos usados, datos obtenidos de revistas científicas y libros, estos fueron seleccionados con 5 años de antigüedad recopilados de las siguientes plataformas digitales: ScienceDirect, Scopus y Springer

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica de recolección de los datos está enfocada en proporcionar de un mayor entendimiento de los significados y observaciones de las personas; el observador es el instrumento de recolección de los datos que se apoya en las diferentes técnicas que se desarrollan durante la investigación (Hernández, 2014).

La técnica que se utilizó para este trabajo de investigación fue la observación, ya que se analizó los datos generados por los artículos que provienen de revistas científicas y libros; obtenidos de fuentes indexadas considerando la relevancia de cada uno en referencia al tema de estudio que fue la aplicación de la biofotólisis para la producción de hidrógeno, y se consideró la antigüedad de cada uno.

3.6. Procedimiento

El procedimiento de la investigación se consideró 3 fases, la I) fase se inició con la recopilación de datos a través de la revisión de diversos artículos científicos; se usaron palabras claves en inglés: "biohydrogen", "green, technology", "biophotolysis", "microorganisms", "enzymes" y "bioreactors", para la búsqueda de información en la base de datos de ScienceDirect, Scopus y Springer; en la II) fase se consideró 3 filtros, el primer filtro fue el idioma artículos en inglés y español, el segundo filtro fueron los artículos de investigación no menor de 5

años considerados a partir del 2018, el tercer filtro los artículos y libros; como III) fase se clasificó los artículos seleccionados y así poder analizar y discutir los resultados obtenidos para la elaboración de las conclusiones y recomendaciones.

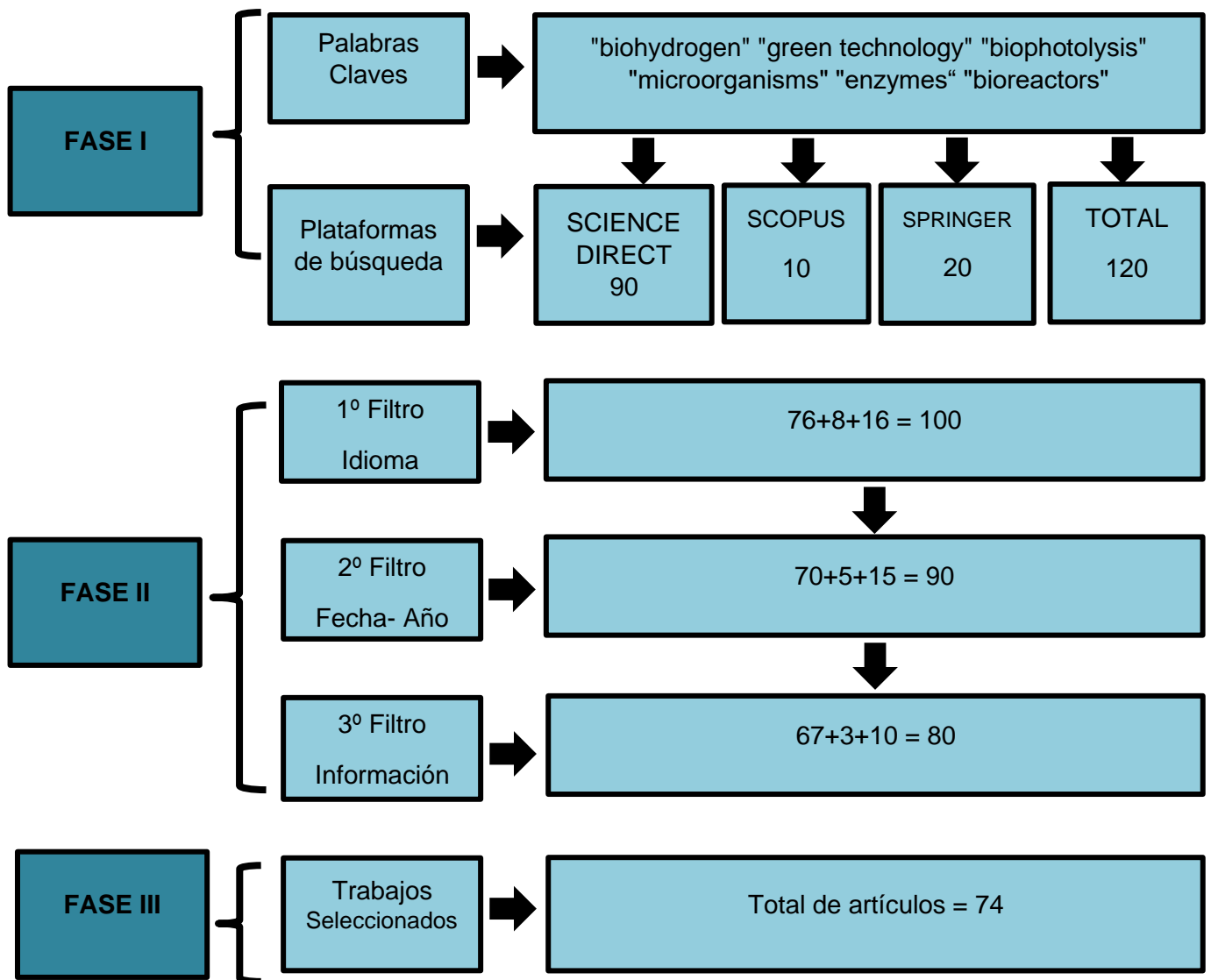


Figura 8. Procedimiento de investigación

3.7. Rigor científico

En esta investigación el rigor científico estuvo proporcionado a las reconstrucciones teóricas y a sus criterios de rigor con el fin de otorgarle credibilidad, relevancia e impacto, de esta manera la presente investigación garantizo la credibilidad de la información y su carácter científico (Azuelo, 2019).

3.8. Método de análisis de datos

El presente trabajo de diseño cualitativo se recolectó y seleccionó la información bibliográfica de modo sistemática, para sintetizar la información sobre la producción de hidrogeno mediante biofotólisis realizadas por diferentes microorganismos, se agrupo en categorías y subcategorías, contiene lo siguiente: los microorganismos utilizados en la biofotólisis; el tipo de asistencia encargadas por las enzimas (hidrogenasa y nitrogenasa); condiciones operativas (temperatura, intensidad de luz, pH, nutrientes, fuentes de carbono) y como última categoría los tipos de reactores que participan en la producción de biohidrógeno.

3.9. Aspectos éticos

En el estudio se citó a los autores de las fuentes de información de los artículos científicos, así como las páginas de donde se extrajo la información, para asegurar la validez del contenido, que ha sido debidamente interpretado y respetado. Por consiguiente, se cumplió con el código de ética de la Universidad César Vallejo.

Toda la presente investigación se desarrolló según la matriz de categorización fundamentada con investigaciones científicas y del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica – Concytec.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

OE1: Describir los microorganismos utilizados en la biofotólisis para producir hidrógeno

Tabla 7. Tipos de microorganismos para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis

TIPO	MICROORGANISMO	ESTUDIO	T°	pH	PRODUCCIÓN DE H2	AUTOR
ALGAS	<i>Chlorella protothecoides</i>	Coproducción mejorada de biohidrógeno y lípidos en <i>Chlorella protothecoides</i> en condiciones limitantes de nitrógeno en un sistema cerrado	25 °C	6.5	151.1 mL/L	Zhang, Li y Liu, (2022)
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	El ácido acético es clave para la producción sinérgica de hidrógeno en cocultivos de bacterias <i>Chlamydomonas</i>	28 °C	7.2	40.8 ml/L	Fakhimi et al., (2019)
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Análisis proteómico de la producción de hidrógeno en <i>Chlorella pyrenoidosa</i> bajo privación de nitrógeno	25 °C	7.4	26.83 ml/L	Li, Zhang y Liu, (2021)

	<i>Parachlorella kessleri</i>	Características de crecimiento, producción de biohidrógeno y actividad fotoquímica de fotosistemas en microalgas verdes <i>Parachlorella kessleri</i> expuestas a privación de nitrógeno	25 °C	7.5	5.25 mmol/L	Manoyan et al., (2022)
	<i>Chlorella sp.</i>	La cooperación entre algas y bacterias mejora la producción de hidrógeno mediada por fotólisis de algas	25 °C	7.5	40.1 ml/L	Ban et al., (2018)
	<i>Scenedesmus sp.</i>				11.1 ml/L	
	<i>Scenedesmus obliquus</i>				3.6 ml/L	
BACTERIAS	<i>Pseudomonas sp</i>	Ca ²⁺ mejora la producción de hidrógeno por fotólisis de algas al mejorar las vías directas e indirectas	30 °C	7	306.4 ml/L	Ban, Lin y Luo, (2019)
	<i>Thiomonas intermedia</i>	Producción mejorada de hidrógeno a través del cocultivo de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-503 y una bacteria oxidante de sulfuro autótrofa facultativa en condiciones sulfuradas	25 °C	7	255 µmol/mg	He et al., (2018)

	<i>Rhizobium etli</i>	La tasa de absorción de ácido acético controla la producción de H ₂ en cocultivos de bacterias <i>Chlamydomonas</i>	28 °C	7.2	17 ml/L	Fakhimi et al., (2019)
	<i>Escherichia coli</i>				15 ml/L	
	<i>Desertifilum sp.</i>	Determinación del potencial de cepas de cianobacterias para la producción de hidrógeno	25 °C	7.4	0.348 μmol/mg/h	Kossalbayev et al., (2020)
	<i>Synechocystis sp.</i>				0.037 μmol/mg/h	
	<i>Phormidium tenue</i>	Producción de biohidrógeno por nuevas cepas de cianobacterias aisladas de arrozales en Kazajstán	25 °C	7.4	1.5 μmol/mg/h	Kossalbayev et al., (2022)
	<i>Anabaena variabilis</i>				0.5 μmol/mg/h	
	<i>Rhodoplanes piscinae</i>	Efecto de la melaza en la producción de hidrógeno por una nueva cepa <i>Rhodoplanes piscinae</i> 51ATA	30 °C	7.1	1.27 L /h	Canpolat y Ozturk, (2022)

Fuente: Elaboración propia

En busca de mejorar la producción de hidrogeno se pudo identificar varios métodos y técnicas empleadas en la biofotólisis como son Inhibidores, privación de azufre, privación de nitrógeno, micronutrientes, inmovilización, cocultivos y la construcción de mutantes genéticos (Sadvakasova et al., 2020).

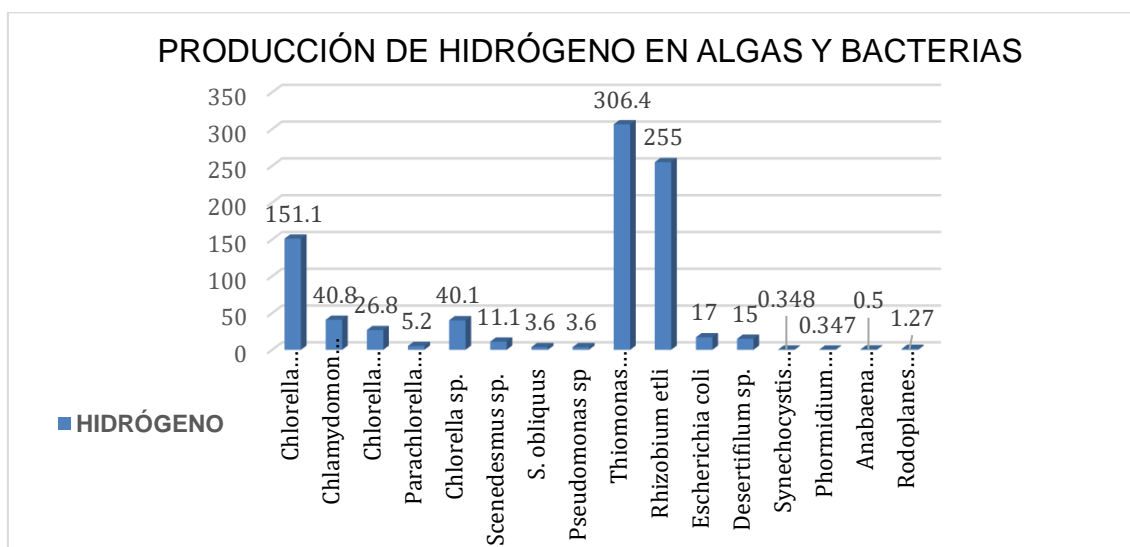


Figura 9. Producción de hidrogeno en algas y bacterias. Fuente: Elaboración propia

Nuestros resultados indicaron que los autores aplicaron estas técnicas con la meta de mejorar la producción de hidrógeno, se pudo observar que destacaron dos técnicas como la privación de nitrógeno y la de cocultivos, donde se pudo observar que el alga *Chlamydomonas reinhardtii* y la bacteria *Pseudomonas sp* tuvieron la máxima producción de hidrógeno con 306.4 ml/L (Ban, Lin y Luo, 2019) a causa de la adición de Ca^{2+} que puede reducir el agotamiento de la clorofila y proteínas contribuyendo a la producción de hidrógeno y con una producción menor tenemos la *Synechocystis sp.* con 0.037 $\mu\text{mol}/\text{mg}/\text{h}$ (Kossalbayev, et al., 2020) la diferencia se puede justificar que la primera utilizó la técnica del cocultivo y la última un cultivo puro, seguidamente *Chlorella protothecoides* tuvo una producción de hidrógeno con 151.1 mL/L (Zhang, Li y Liu, 2022) en condiciones de limitación de nitrógeno, entre ellas también tenemos la *Chlorella pyrenoidosa* con 26.83 ml/L (Li, Zhang y Liu, 2021), *Parachlorella kessleri* con 5.25 mmol/L (Manoyan et al., 2022), seguidamente utilizando el método de cocultivo tenemos el alga *Chlamydomonas reinhardtii* con 40.8 ml/L

(Fakhimi et al., 2019), *Chlorella sp.* con 40.1 ml/L, *Scenedesmus sp.* con 11.1 ml/L y *Scenedesmus obliquus* con 3.6 ml/L (Ban et al., 2018).

Otro punto a resaltar fue el uso de inhibidores en la privación de nitrógeno el autor Manoyan, et al.,(2022) que utilizó como inhibidor el diuron para estudiar el efecto de inhibidor del PSII, provocando la inhibición de la velocidad del crecimiento de la alga, al igual que en sus cocultivos (Ban et al., 2018) que utilizó como inhibidor el DCMU bloqueando el PSII (encargado de liberar electrones) cabe destacar que su aporte de electrones es de acuerdo a la intensidad de luz.

También se pudo observar que en los cocultivos de algas al agregar otro tipo de fuente de carbono como el ácido acético y glucosa o manitol donde el primero ayudó al adecuado crecimiento de algas, mientras que el segundo no promovió la producción de hidrogeno (Fakhimi, et al., 2019)

Li, Zhang y Liu, (2021) nos indicó que la fotosíntesis, la fotorrespiración y la respiración mitocondrial son muy importantes en el proceso de producción de hidrogeno del alga.

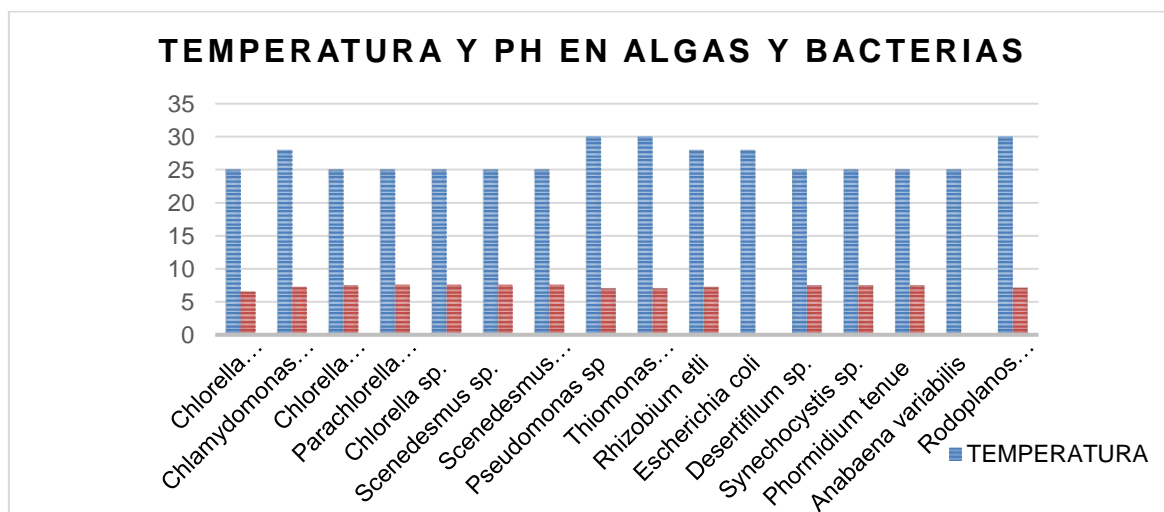


Figura 10. Producción de hidrogeno por biofotólisis según temperaturas y pH. Fuente: Elaboración propia

Como se muestra en el grafico el pH se mantuvo entre los rangos 6.5 y 7.5 siendo el pH más bajo 6.5 por el alga *Chlorella protothecoides* (Zhang, Li y Liu, 2022) y el pH mas alto de 7.5 por el alga *Parachlorella kessleri* (Manoyan et al., 2022).

OE2: Analizar los tipos de asistencia para la producción de hidrógeno

Tabla 8. Tipos de asistencia para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis

TIPO	ESTUDIO	SUSTRATO/ INHIBIDOR	MICROORGANISMO	METODOLOGÍA	PRODUCCIÓN DE H ₂	AUTOR
Hidrogenasa	Glucosa exógena como donante de electrones para hidrogenasas de algas para promover la fotoproducción de hidrógeno por <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	DCMU	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Las algas recolectadas se resuspendieron en una botella anaeróbica de 100 ml con 75 ml de TAP-S (Tris-acetato-fosfato empobrecido en azufre).	121.1 ml/L	Liu et al., (2019)
	Mejora de la producción de biohidrógeno mediante la sobreexpresión de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y FeFe hidrogenasa en <i>Clostridium acetobutylicum</i>	Glucosa	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Se llevó a cabo en un fermentador de jarra de 7 L con una temperatura de 37 °C. Donde de modificaron metabólicamente las enzimas.	1.102 L/h	Son et al., (2021)

	Superar la barrera de expresión de la quimera ferredoxina-hidrogenasa en <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> respalda un incremento lineal en la producción de hidrógeno fotosintético		<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Se aisló dos clones modificados y luego se transfirieron a biorreactores BlueSens a temperatura ambiente y con agitación constante.	30 µmol/mg	Weiner et al., (2018)
	Efectos de los Inhibidores del Fotosistema II CCCP y DCMU en la Producción de Hidrógeno por la Cianobacteria Unicelular Halotolerante <i>Aphanothece halophytica</i>	CCCP	<i>Aphanothece halophytica</i>	Se transfirió en un vial de vidrio de 10 ml. Los viales se sellaron con un tapón de goma con borde de aluminio y se incubaron. Con luz a 30 °C durante 2 horas	27.32 µmol/g	Pansook, Incharoensak di y Phunpruch, (2019)
		DCMU				
Nitrogenasa	CO como sustrato e inhibidor de la reducción de H + para las isoenzimas Mo-, V- y Fe-nitrogenasa	CO		Los ensayos de reducción de sustrato se realizaron en viales de suero de 9,4 ml		Harris et al., (2020)

	Unión de monóxido de carbono a α -R277H Monitrogenasa: evidencia de múltiples especies dependientes del pH a partir de la fotólisis monitoreada por IR	CO	<i>Azotobacter vinelandii</i>	Se utilizó espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FT-IR)		Gee et al., (2022)
	Producción mejorada de H ₂ con fijación eficiente de N ₂ por cultivo mixotrófico de fructosa <i>Anabaena sp.</i> Cepa PCC 7120 interrumpida en la captación de hidrogenasa	Fructosa	<i>Anabaena sp.</i> PCC 7120	Se resuspendieron en 5 ml de medio fresco respectivo en un vial de vidrio de 13 ml, antes de sellarlas con un tapón de goma a 30 °C.	101.33 μ mol/mg	Khetkorn, Lindblad y Incharoensakdi, (2020)

Fuente: Elaboración propia

Según la literatura revisada nos indicó que las enzimas hidrogenasas y nitrogenasas presentes en los microorganismos tienen sensibilidad al oxígeno y en busca de mejorar la producción de hidrogeno se emplea inhibidores Sadvakasova et al. (2020). Por los resultados encontrados en las enzimas podemos deducir que los inhibidores influyen en mejorar la producción de hidrogeno.

Los resultados indican que los inhibidores más estudiados por biofotólisis son DCMU con la enzima hidrogenasa y CO con la enzima nitrogenasa. La más alta producción de hidrogeno fue con el alga *Chlorella pyrenoidosa* con 121.1 ml/L, que utilizó el inhibidor DCMU y glucosa este se midió de acuerdo a la actividad de su isoenzimas de la nitrogenasa (Liu, et al. 2019). Otras investigaciones también utilizaron estos inhibidores como *Aphanothece halophytica* con 27.32 $\mu\text{mol/g}$ de H₂ (Pansook, Incharoensakdi y Phunpruch, 2019), mientras que Harris et al., (2020) utilizó el CO como sustrato e inhibidor y por ultimo tenemos la *Azotobacter vinelandii* que también utilizó el CO Gee et al., (2022)

En otras aportaciones Sadvakasova, et al. (2020) nos indicó que las enzima nitrogenasa es más prometedor para la producción de H₂ en comparación con la enzima hidrogenasa debido a que cataliza un proceso irreversible.

Otro método que resalta es la adición de nutrientes, los resultados indicaron que la adición de glucosa en el proceso mediante la sobreexpresión de HYDA (isoenzima de la hidrogenasa) produce 1.102 L/h de hidrógeno Son, et al. (2021). En la enzima nitrogenasa la adición de fructosa logro aumentar la fijación de N₂ que conduce a una producción de H₂ mejorada con 101.33 $\mu\text{mol/mg}$ (Khetkorn, Lindblad y Incharoensakdi, 2020).

Nuestro resultados también indicaron estudios realizados desde un punto genético por Weiner, et al. (2018) logro mejorar la producción de hidrógeno aislando dos clones modificados en la ferredoxina - hidrogenasa (fd-hyd) donde se trabajó con el alga *Chlamydomonas reinhardtii* y produjo 30 $\mu\text{mol/mg}$ de hidrógeno continuamente por cinco días superando significativamente a su cepa parental de tipo salvaje, este estudio lo respalda Shekhar, et al. (2021) que investigó cuatro mutantes en isoenzimas de hidrogenasa con la bacteria *Escherichia coli* donde HYD-2 e HYD-3 sobresalieron significativamente.

OE3: Examinar las condiciones en la producción de hidrógeno

Tabla 9. Condiciones para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis

ESTUDIO	CONDICIONES	METODOLOGÍA	PRODUCCIÓN DE H ₂	AUTOR
Respuesta del alga verde <i>tetraspora sp.</i> CU255 bajo privación de potasio: una nueva estrategia prometedora para la producción de hidrógeno.	Temperatura, intensidad de luz, pH, nutrientes, carga orgánica	T° 36 °C, intensidad de luz en un rango de 18 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ fotones, pH 7.2 con privación K en medio TAP.	14,8 $\mu\text{mol}/\text{mg}$	(Pewnuual et al. 2022)
Producción mejorada de biohidrógeno por células inmovilizadas del alga verde <i>Tetraspora sp.</i> CU2551.	Temperatura, intensidad de luz, pH, nutrientes	T° 36 °C, intensidad de luz de 29 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$, pH 7.2 con privación S en medio TAP.	182 $\mu\text{mol}/\text{mg}$	(Maswanna, Lindblad y Maneeruttanarungroj 2020)
Un alga verde recientemente aislada <i>Chlorella sp.</i> KLSc59: potencial para la producción de biohidrógeno.	Temperatura, intensidad de luz, pH, nutrientes, fuentes de carbono	T° de 36 °C, rango de pH de 6.5 a 7.2, intensidad de luz con 53.2 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ en medio TAP adición de acetato y privación de nutrientes.	281 $\mu\text{mol}/\text{mg}$	(Sirawattanamongkol, Maswanna y Maneeruttanarungroj 2020)

Mejora de la producción de biohidrógeno mediante el cocultivo de la cianobacteria fijadora de N ₂ <i>Fischerella muscicola</i> TISTR 8215 y la microalga <i>Chlorella</i> sp.	Temperatura, intensidad de luz, pH, nutrientes, fuentes de carbono	T° de 30 °C, intensidad de luz de 40 μmol/ m ² y un pH 7.5 privación de N en medio TAP.	25.3 μmol/mg	(Wutthithien y Incharoensakdi 2022)
Producción sostenida de hidrógeno fotobiológico por <i>Chlorella vulgaris</i> sin privación de nutrientes.	Temperatura, intensidad de luz, pH, nutrientes, fuentes de carbono	T° de 25 °C, intensidad de luz de 150 μmol/ m ² , pH de 6.5 y adición de glucosa.	128 μmol/mg	(Touloupakis et al. 2021)

Fuente: Elaboración propia

Con respecto a las condiciones para la producción de hidrogeno, se consideraron aquellas que tuvieron más relevancia en los diferentes estudios, siendo estas el pH y la T°; cabe resaltar que el valor de pH se ha estimado como una condición primaria puesto que influye en el crecimiento de los microorganismos, sus rutas metabólicas y el rendimiento de H₂, (Brar, et al. 2022). En ese sentido, según los resultados obtenidos; el valor más elevado de pH fue de 7.5 y el más inferior de 6 (Sirawattanamongkol T., Maswanna T., Maneeruttanarungroj C., 2020) asimismo la T° más elevada fue de 36° C para los estudios de los autores (Totsapon et al. 2021), (Maswanna T., Lindblad P., Maneeruttanarungroj C., 2020) y (Sirawattanamongkol T., Maswanna T., Maneeruttanarungroj C., 2020).

Según revisión de la literatura, resulta que la capacidad de producir hidrógeno se pierde parcialmente para pH inferiores a 6.5 y superiores a 7.5; el pH ácido cambia la capacidad de absorber nutrientes, interfiere con los procesos celulares; así, el pH ácido inhibe la actividad hidrogenasa, prolonga el tiempo de latencia y debilita las membranas celulares, mientras que el pH alcalino inhibe la afinidad del CO₂ (Sirawattanamongkol, Maswanna y Maneeruttanarungroj 2020).

Otra condición de importancia para la producción de hidrogeno; fue la intensidad de luz; siendo la más elevada de 150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ y la más baja de 18 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ en general, la alta intensidad activa el crecimiento y promueve la producción de hidrógeno. Sin embargo, una intensidad de luz demasiado alta también mostró efectos no favorables, siendo estos, la reducción de la producción de hidrógeno provoca un aumento del contenido de oxígeno (Touloupakis et al. 2021).

Cabe resaltar que la producción de hidrogeno depende mucho del medio en el que se desarrollan los microorganismos; la adición de algún sustrato o nutriente, fuente de carbono y el tipo de biorreactor usado, asimismo de la metodología usada como la privación de nutrientes; inhibición o inmovilización, los cuales fueron clave fundamental para una eficiente producción de hidrogeno y avance en la investigación (Singh et al. 2021).

Tabla 10. Valores de las condiciones primarias para la producción de hidrógeno

ESTUDIO	pH	T°	INTENSIDAD DE ILUMINACIÓN	PRODUCCIÓN DE H ₂	AUTOR
Respuesta del alga verde <i>Tetraspora sp.</i> CU255 bajo privación de potasio: una nueva estrategia prometedora para la producción de hidrógeno.	7.2	36 °C	18 µmol/m ²	14,8 µmol/mg	(Pewnual et al. 2022)
Producción mejorada de biohidrógeno por células inmovilizadas del alga verde <i>Tetraspora sp.</i> CU2551.	7.2	36 °C	29 µmol/m ²	182 µmol/mg	(Maswana, Lindblad y Maneeruttanarungroj 2020)
Un alga verde recientemente aislada <i>Chlorella sp.</i> KLS59: potencial para la producción de biohidrógeno.	6.5 a 7.2	36 °C	53,2 µmol/m ²	281 µmol/mg	(Sirawattanamongkol, Maswana y Maneeruttanarungroj 2020)
Mejora de la producción de biohidrógeno mediante el cocultivo de la cianobacteria fijadora de N ₂ <i>Fischerella muscicola</i> TISTR 8215 y la microalga <i>Chlorella sp.</i>	7.5	30 °C	40 µmol/m ²	25,3 µmol/mg	(Wutthithien y Incharoensakdi 2022)
Producción sostenida de hidrógeno fotobiológico por <i>Chlorella vulgaris</i> sin privación de nutrientes.	6.5	25 °C	150 µmol/m ²	128 µmol/mg	(Touloupakis et al. 2021)

Fuente: Elaboración propia

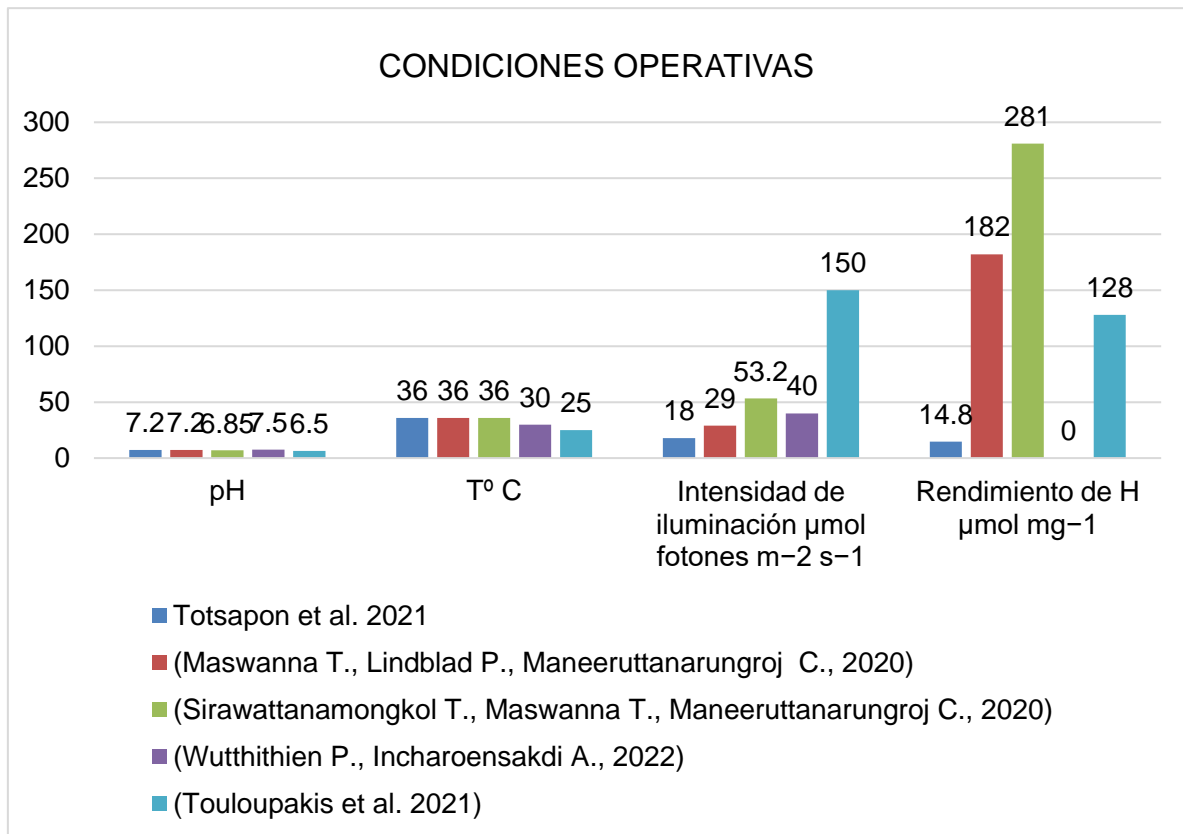


Figura 11. Condiciones para la producción de hidrogeno. Fuente: Elaboración propia

El rendimiento máximo de producción de hidrógeno fue de 281 $\mu\text{mol H}_2 / \text{mg}$, y se logró en un pH 6.5 a 7.2; con una temperatura de 36 °C; intensidad de luz con 53.2 $\mu\text{mol} / \text{m}^2$ en medio TAP tris - acetato fosfato y la adición de acetato bajo la privación de nutrientes. (Sirawattanamongkol T., Maswana T., Maneeruttanarungroj C., 2020).

OE4: Analizar los tipos de reactores que participan en la producción de hidrógeno por biofotólisis

Tabla 11. Tipo de reactores para la producción de hidrogeno mediante la biofotólisis

REACTOR	METODOLOGÍA	VOLUMEN DE REACTOR	TRH	PRODUCCIÓN DE H ₂	AUTOR
(Fotobiorreactor PBR)	En este estudio se utilizó un fotobiorreactor PBR, el cual se llenó con lodos de aguas residuales como medio de cultivo agitado continuamente por un agitador (100 rpm), con una T° 35 °C; añadiendo acetato 25 mm, BBM, como carga orgánica el tiempo de retención de sólidos (SRT) se mantuvo en 2,5 días.	volumen de 500ml y volumen de trabajo de 400 mL;	Se mantuvo a un tiempo de retención hidráulica (H RT) de 24 horas	Se logró una producción de hidrogeno de 88 µmol/L	(Hwang J., Lee W., 2022)
Fotobiorreactor anaeróbico por lotes	El estudio se llevó a cabo en fotobiorreactores anaeróbico por lotes, con una intensidad de luz 200 µmol/ m ² , pH 6,2 y 32°C, concentración Azufre de 50 µmol/l y como fuente de carbono orgánico el ácido acético, y glucosa	Volumen de 500 mL con 300 mL de cultivo	Tiempo de retención hidráulica TRH de 12 horas.	La mejor producción de hidrógeno ocurrió en fotobiorreactores sin adición de azufre siendo de 39.64 ± 2.44 µmol/L	(Vargas, Zaiat y Calijuri 2021)

Fotobiorreactor de panel	En este estudio, se construyó un novedoso fotobiorreactor de panel 1,4 L a partir de plexiglás con concentraciones celulares de 2.5 y 5.0 mg. a 30 °C bajo iluminación continua, el pH se mantuvo entre 6.7 y 8.0 durante el proceso	Con un volumen de 1,4 L	Con un TRH de 48 horas.	La producción máxima de hidrógeno fue de 75 $\mu\text{mol H}_2/\text{l/h}$.	(Elkahlout et al. 2019)
Fotobiorreactor HTG	Considera una carga orgánica de 2.3% y una T° 436.36 °C, se mezcló con 1000 rpm.	Volumen de 250ml, y un volumen de trabajo de 200ml	Tiempo de 70.22min	Dio como resultado una producción de hidrogeno de 38.27% en peso.	(Arun et al. 2020)
Fotobiorreactor BioFlo	La investigación utilizó la microalga <i>Platymonas</i> la cual se cultivó en fotobiorreactor BioFlo, con una T° de 25 °C y una iluminación de 5 klux con luz blanca.	Volumen activo de 2L	TRH de 30 horas.	Con este fotobiorreactor se logró una producción de 38 $\mu\text{mol/l}$.	(Dudek et al. 2018)

Fuente: Elaboración propia

Para la producción de hidrogeno; es necesario el uso de fotobiorreactores; según los estudios analizados; el Fotobiorreactor PBR dio como resultado una mayor producción de H₂ de 88 µmol/L agitado continuamente por un agitador (100 rpm), el cual se mantuvo a un tiempo de retención hidráulica (HRT) de 24 horas con una T° 35 °C; añadiendo acetato 25 mm, BBM, como carga orgánica el tiempo de retención de sólidos (SRT) se mantuvo en 2,5 días (Hwang J., Lee W., 2022).

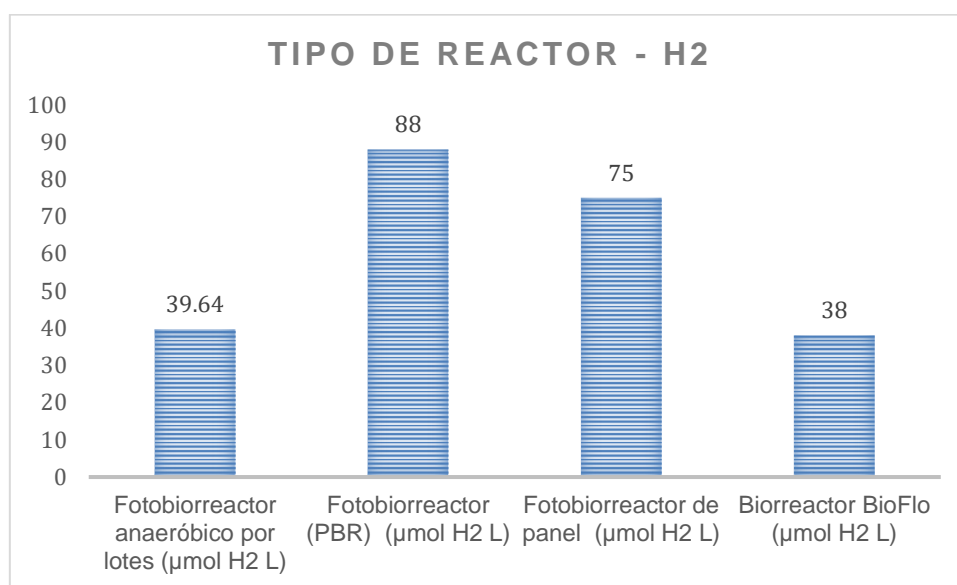


Figura 12. Tipo de reactores para la producción de hidrogeno. Fuente: Elaboración propia

El fotobiorreactor que tuvo una menor producción de hidrogeno fue el Fotobiorreactor BioFlo; generando 38 µmol/L; con un TRH de 30 horas. (Dudek et al. 2018), seguidamente del Fotobiorreactor por lotes con una producción de 39.64 µmol H₂ L el cual tuvo un TRH de 12 horas. y el Fotobiorreactor de panel el cual tuvo una producción de 75 µmol H₂/L/h con un TRH de 48 horas. (Elkahlout et al. 2019).

La producción de hidrogeno restringido por las condiciones de cultivo, en particular la intensidad de la luz, la concentración de clorofila y el tamaño de los fotobiorreactores. El rendimiento de la producción de hidrógeno probado en viales puede diferir mucho del obtenido en los más amplios. De hecho, en un dispositivo pequeño se supone que la iluminación es uniforme y la mezcla de células óptima para una exposición homogénea de las células a la luz (Vargas S., Zaiat M., Carmo M. 2021).

Cabe resaltar que la producción de hidrogeno por Biofotólisis puede variar dependiendo del medio en el que se dé, como es el caso de un medio de aguas residuales o lodos; que contienen una alta carga orgánica y sustratos inorgánicos siendo innecesario la adición de algún sustrato o nutriente como la glucosa, acetato, glicerina (Ji y Wang, 2021); este caso se dio en nuestros resultados siendo el Fotobiorreactor PBR el que utilizó un medio de aguas residuales logrando una producción de hidrogeno de 88 $\mu\text{mol/L}$ (Hwang J., Lee W., 2022); y el fotobiorreactores anaeróbico por lotes en el cual se adicionaron fuentes de carbono orgánico como el el ácido acético, y la glucosa, produciendo $39.64 \pm 2.44 \mu\text{mol/L}$ de H_2 (Vargas, Zaiat y Calijuri 2021).

El tiempo de retención hidráulica (TRH) es una unidad que mide el tiempo en que el fluido permanece en el fotobiorreactor; según (Arun et al. 2020) el tiempo influye en la producción de hidrogeno es decir existe una mayor rendición de hidrogeno; para el Fotobiorreactor PBR (Hwang J., Lee W., 2022); tuvo un tiempo de retención hidráulica (HRT) de 24 horas (Vargas, Zaiat y Calijuri 2021), el Fotobiorreactor anaeróbico por lotes TRH de 12 horas (Elkahlout et al. 2019); asimismo el Fotobiorreactor de panel tuvo un TRH de 48 horas (Arun et al. 2020) y el Fotobiorreactor HTG un tiempo de 70.22min con una $T^\circ 436.36 \text{ }^\circ\text{C}$.y por último el Fotobiorreactor BioFlo con un TRH de 30 horas (Dudek et al. 2018).

V. CONCLUSIONES

OEG: La aplicación de biofotólisis se puede obtener directa o indirectamente la cual depende principalmente de factores como la luz solar, los microorganismos, enzimas, condiciones operativas, siendo muy importante la elección de un sistema que no contemple un elevado costo económico en ese sentido la biofotólisis se considera una alternativa sostenible y limpia para la producción de hidrógeno.

OE 1: Se identificó 17 tipos de microorganismo para la producción de hidrogeno mediante biofotólisis de los cuales 8 son algas y también 9 bacterias, siendo el alga *Chlamydomonas reinhardtii* una de las más eficientes y utilizadas debido a su morfología y junto a la bacteria *Pseudomonas sp D* forman un gran equipo para mejorar la producción de hidrógeno, ya que llegan a un medio totalmente anaeróbico

OE 2: Las enzimas identificadas hidrogenasa y nitrogenasa dan un gran aporte para la obtención de hidrógeno ya que aceleran la absorción de la luz solar y la transmisión de electrones, las limitaciones de estas enzimas es que son muy sensibles al oxígeno, es por eso que para mejorar estas condiciones se utilizó inhibidores y la adición de sustratos como la glucosa en un medio privado de azufre, todos estos procesos ayudan a que esta debilidad se reduzca para obtener una mejor producción de hidrógeno.

OE 3: Se identificó las condiciones que intervienen en el proceso de producción de hidrógeno, siendo el rango óptimo de pH de 6.5 a 7.5 y temperaturas menores a 50° C; asimismo es de suma importancia considerar la intensidad iluminación puesto que activa el crecimiento, promueve la producción de hidrógeno y el contenido de carga orgánica pues en un cuerpo de agua tiene como efecto el agotamiento del oxígeno.

OE 4: Se describió los tipos de reactores que intervienen en el proceso de producción de hidrógeno, considerando el tipo de microorganismo, condiciones y asistencia, estos reactores son: Fotobiorreactor anaeróbico por lotes, Fotobiorreactor (PBR), Fotobiorreactor de panel, Fotobiorreactor BioFlo; siendo el más eficiente de acuerdo a la producción de hidrogeno el Fotobiorreactor

(PBR), con una producción de H₂ de 88 µmol/l la cual se logró bajo luz a una concentración de acetato de 35 mM; con un TRH de 24 horas, pues tuvo una exposición óptima a la radiación solar y una relación superficie-volumen, a pesar de tener gradiente de pH desigual; las condiciones para este Fotobiorreactor variaron por que se trabajó en un medio de agua residual; como la carga orgánica y adición de nutrientes.

VI. RECOMENDACIONES

OE G: Examinar el comportamiento de otros microorganismos ya estudiados que tienen mejores resultados para la producción de hidrógeno en comparación con otros ya evaluados.

OE G: Realizar más estudios enfocados en lograr un ambiente completamente anaeróbico ya que puede ser la clave para una producción de hidrógeno sostenible.

OE G: Realizar investigaciones donde se pueda mejorar el almacenamiento del hidrógeno ya que es una de las dificultades para una producción de hidrógeno a gran escala.

OE 1: Escoger un microorganismo que pueda producir hidrogeno de manera lineal y sostenible.

OE 2: Optar por las enzimas alteradas genéticamente ya que las enzimas juegan un papel muy importante en la aceleración del proceso de obtención de hidrógeno.

OE 3: Tener un control de las condiciones para la producción de hidrogeno a utilizar, puesto que en base a ello se podrá determinar cuál es la más adecuada que permitirá un mejor rendimiento en la producción de hidrógeno, considerando la más importante que es el pH con un rango de 6.5 a 7.5, y con temperaturas menores a 50° C.

OE 4: Considerar el tipo de reactor a utilizar según sus capacidades y funciones bajo las condiciones adecuadas para obtener la mayor cantidad de hidrógeno posible.

REFERENCIAS

1. AGATON, C.B., BATAK, K.I.T. y REYES, E.M., 2022. Prospects and challenges for green hydrogen production and utilization in the Philippines. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 47, no. 41, pp. 17859-17870. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2022.04.101. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.04.101>.
2. AHMED, S.F., MOFIJUR, M., NUZHAT, S., RAFA, N., MUSHARRAT, A., LAM, S.S. y BORETTI, A., 2022. Sustainable hydrogen production: Technological advancements and economic analysis. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], no. xxxx. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2021.12.029. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.12.029>.
3. ANTO, S., MUKHERJEE, S.S., MUTHAPPA, R., MATHIMANI, T., DEVIRAM, G., KUMAR, S.S., VERMA, T.N. y PUGAZHENDHI, A., 2020. Algae as green energy reserve: Technological outlook on biofuel production. *Chemosphere* [en línea], vol. 242, pp. 125079. ISSN 18791298. DOI 10.1016/j.chemosphere.2019.125079. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125079>.
4. ARUN, J., GOPINATH, K.P., VO, D.V.N., SUNDARRAJAN, P.S. y SWATHI, M., 2020. Co-hydrothermal gasification of *Scenedesmus* sp. with sewage sludge for bio-hydrogen production using novel solid catalyst derived from carbon-zinc battery waste. *Bioresource Technology Reports* [en línea], vol. 11, no. May, pp. 100459. ISSN 2589014X. DOI 10.1016/j.biteb.2020.100459. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100459>.
5. ASLAM, M., AHMAD, R., YASIN, M., KHAN, A.L., SHAHID, M.K., HOSSAIN, S., KHAN, Z., JAMIL, F., RAFIQ, S., BILAD, M.R., KIM, J. y KUMAR, G., 2018. Anaerobic membrane bioreactors for biohydrogen production: Recent developments, challenges and perspectives. *Bioresource Technology*, vol. 269, no. June, pp. 452-464. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2018.08.050.
6. AZIZ, M., DARMAWAN, A. y JUANGSA, F.B., 2021. Hydrogen production

- from biomasses and wastes: A technological review. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 46, no. 68, pp. 33756-33781. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2021.07.189. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.07.189>.
7. AZUERO AZUERO, Á.E., 2019. Significatividad del marco metodológico en el desarrollo de proyectos de investigación. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, vol. 4, no. 8, pp. 110. ISSN 2542-3088. DOI 10.35381/r.k.v4i8.274.
 8. BAN, S., LIN, W. y LUO, J., 2019. Ca²⁺ enhances algal photolysis hydrogen production by improving the direct and indirect pathways. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 44, no. 3, pp. 1466-1473. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2018.11.075.
 9. BAN, S., LIN, W., LUO, Z. y LUO, J., 2019. Improving hydrogen production of *Chlamydomonas reinhardtii* by reducing chlorophyll content via atmospheric and room temperature plasma. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 275, no. November 2018, pp. 425-429. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2018.12.062. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.062>.
 10. BAN, S., LIN, W., WU, F. y LUO, J., 2018. Algal-bacterial cooperation improves algal photolysis-mediated hydrogen production. *Bioresource Technology*, vol. 251, pp. 350-357. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2017.12.072.
 11. BECHARA, R., AZIZI, F. y BOYADJIAN, C., 2021. Process simulation and optimization for enhanced biophotolytic hydrogen production from green algae using the sulfur deprivation method. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 46, no. 27, pp. 14096-14108. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2021.01.115.
 12. BOLATKHAN, K., KOSSALBAYEV, B.D., ZAYADAN, B.K., TOMO, T., VEZIROGLU, T.N. y ALLAKHVERDIEV, S.I., 2019. Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 44, no. 12, pp. 5799-5811. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2019.01.092.
 13. BRAR, K.K., CORTEZ, A.A., PELLEGRINI, V.O.A., AMULYA, K., POLIKARPOV, I., MAGDOULI, S., KUMAR, M., YANG, Y.H., BHATIA,

- S.K. y BRAR, S.K., 2022. An overview on progress, advances, and future outlook for biohydrogen production technology. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], no. xxxx. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2022.01.156. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.01.156>.
14. CANPOLAT, E. y OZTURK, A., 2022. Effect of molasses on hydrogen production by a new strain *Rhodospirillum rubrum* 51ATA. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 47, no. 32, pp. 14493-14503. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2022.02.172. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.02.172>.
15. CHAI, Y.H., MOHAMED, M., CHENG, Y.W., CHIN, B.L.F., YIIN, C.L., YUSUP, S. y LAM, M.K., 2021. A review on potential of biohydrogen generation through waste decomposition technologies. *Biomass Conversion and Biorefinery*, ISSN 21906823. DOI 10.1007/s13399-021-01333-z.
16. CORREDOR, J., HARANKAHAGE, D., GLOAGUEN, F., RIVERO, M.J., ZAMKOV, M. y ORTIZ, I., 2021. Influence of QD photosensitizers in the photocatalytic production of hydrogen with biomimetic [FeFe]-hydrogenase. Comparative performance of CdSe and CdTe. *Chemosphere* [en línea], vol. 278, pp. 130485. ISSN 18791298. DOI 10.1016/j.chemosphere.2021.130485. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130485>.
17. DAYAL GIRI, D., DWIVED, H., D. ALSUKAIB, A.K., BAHADUR PAL, D., AL OTAIBI, A., AREESHI YAHYA, M., HAQUE, S., GUPTA y KUMAR, V., 2022. *Sustainable Production of Algae-Bacteria Granular Consortia Based Biological Hydrogen New insights*. 2022. S.l.: s.n.
18. DON J. BRENNER, NOEL R. KRIEG y JAMES T. STALEY, 2012. *Systematic Bacteriology Second Edition Volume Two Introductory Essays*, vol. Volume Two.
19. DUDEK, M., DĘBOWSKI, M., ZIELIŃSKI, M., NOWICKA, A. y RUSANOWSKA, P., 2018. Water from the Vistula Lagoon as a medium in mixotrophic growth and hydrogen production by *Platymonas subcordiformis*. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 43, no. 20, pp. 9529-9534. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2018.04.039.

20. ELKAHLOUT, K., SAGIR, E., ALIPOUR, S., KOKU, H., GUNDUZ, U., EROGLU, I. y YUCEL, M., 2019. Long-term stable hydrogen production from acetate using immobilized *Rhodobacter capsulatus* in a panel photobioreactor. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 44, no. 34, pp. 18801-18810. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2018.10.133. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.10.133>.
21. ENGELBRECHT, V., LIEDTKE, K., RUTZ, A., YADAV, S., GÜNZEL, A. y HAPPE, T., 2021. One isoform for one task? The second hydrogenase of *Chlamydomonas reinhardtii* prefers hydrogen uptake. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 46, no. 10, pp. 7165-7175. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2020.11.231.
22. FAKHIMI, N., DUBINI, A., TAVAKOLI, O. y GONZÁLEZ-BALLESTER, D., 2019. Acetic acid is key for synergetic hydrogen production in *Chlamydomonas*-bacteria co-cultures. *Bioresource Technology*, vol. 289. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2019.121648.
23. FAKHIMI, N. y TAVAKOLI, O., 2019. Improving hydrogen production using co-cultivation of bacteria with *Chlamydomonas reinhardtii* microalga. *Materials Science for Energy Technologies*, vol. 2, no. 1, pp. 1-7. ISSN 25892991. DOI 10.1016/j.mset.2018.09.003.
24. FAKHIMI, N., TAVAKOLI, O., MARASHI, S.A., MOGHIMI, H., MEHRNIA, M.R., DUBINI, A. y GONZÁLEZ-BALLESTER, D., 2019. Acetic acid uptake rate controls H₂ production in *Chlamydomonas*-bacteria co-cultures. *Algal Research* [en línea], vol. 42, no. July, pp. 101605. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2019.101605. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101605>.
25. FERRAREN-DE CAGALITAN, D.D.T. y ABUNDO, M.L.S., 2021. A review of biohydrogen production technology for application towards hydrogen fuel cells. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 151, no. June, pp. 111413. ISSN 18790690. DOI 10.1016/j.rser.2021.111413. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111413>.
26. GEE, L.B., SCOTT, A.D., DAPPER, C.H., NEWTON, W.E. y CRAMER, S.P., 2022. Carbon monoxide binding to α -R277H Mo-nitrogenase –

- Evidence for multiple pH-dependent species from IR-monitored photolysis. *Journal of Inorganic Biochemistry* [en línea], vol. 232, no. February, pp. 111806. ISSN 01620134. DOI 10.1016/j.jinorgbio.2022.111806. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111806>.
27. GUILLEN, O.R.V., GONDOI, R.M., CERNA, B.F.V. y MARTÍNEZ, E.A.L., 2019. Guia rapida para la elaboracion de proyecto de tesis. [en línea], Disponible en: http://cliic.org/2020/Taller-Normas-APA-2020/Guia-rapida-PT-Arquiectura-V-3-2019_c.pdf.
28. HARRIS, D.F., JIMENEZ-VICENTE, E., YANG, Z.Y., HOFFMAN, B.M., DEAN, D.R. y SEEFELDT, L.C., 2020. CO as a substrate and inhibitor of H⁺ reduction for the Mo-, V-, and Fe-nitrogenase isozymes. *Journal of Inorganic Biochemistry* [en línea], vol. 213, no. September, pp. 111278. ISSN 18733344. DOI 10.1016/j.jinorgbio.2020.111278. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111278>.
29. HASNAOUI, S., PAUSS, A., ABDI, N., GRIB, H. y MAMERI, N., 2020. Enhancement of bio-hydrogen generation by spirulina via an electrochemical photo-bioreactor (EPBR). *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 45, no. 11, pp. 6231-6242. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2019.12.144.
30. HE, J., XI, L., SUN, X., GE, B., LIU, D., HAN, Z., PU, X. y HUANG, F., 2018. Enhanced hydrogen production through co-cultivation of *Chlamydomonas reinhardtii* CC-503 and a facultative autotrophic sulfide-oxidizing bacterium under sulfured conditions. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 43, no. 32, pp. 15005-15013. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2018.06.081. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.06.081>.
31. HERNÁNDEZ SAMPIERI, R., 2014. *Metodología de la Investigación*. S.l.: s.n. ISBN 9781456223960.
32. HWANG, J.H., CHURCH, J., LIM, J. y LEE, W.H., 2018. Photosynthetic biohydrogen production in a wastewater environment and its potential as renewable energy. *Energy* [en línea], vol. 149, pp. 222-229. ISSN 03605442. DOI 10.1016/j.energy.2018.02.051. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.02.051>.
33. IQBAL, K., SAXENA, A., PANDE, P., TIWARI, A., CHANDRA JOSHI, N.,

- VARMA, A. y MISHRA, A., 2022. Microalgae-bacterial granular consortium: Striding towards sustainable production of biohydrogen coupled with wastewater treatment. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 354, no. February, pp. 127203. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2022.127203. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127203>.
34. JAVED, M.A., ZAFAR, A.M. y ALY HASSAN, A., 2022. Regulate oxygen concentration using a co-culture of activated sludge bacteria and *Chlorella vulgaris* to maximize biophotolytic hydrogen production. *Algal Research*, vol. 63. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2022.102649.
35. JAVED, M.A., ZAFAR, A.M., ALY HASSAN, A., ZAIDI, A.A., FAROOQ, M., EL BADAWY, A., LUNDQUIST, T., MOHAMED, M.M.A. y AL-ZUHAIR, S., 2022. The role of oxygen regulation and algal growth parameters in hydrogen production via biophotolysis. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [en línea], vol. 10, no. 1, pp. 107003. ISSN 22133437. DOI 10.1016/j.jece.2021.107003. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.107003>.
36. JI, M. y WANG, J., 2021. Review and comparison of various hydrogen production methods based on costs and life cycle impact assessment indicators. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 46, no. 78, pp. 38612-38635. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2021.09.142. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.09.142>.
37. JIMÉNEZ-LLANOS, J., RAMÍREZ-CARMONA, M., RENDÓN-CASTRILLÓN, L. y OCAMPO-LÓPEZ, C., 2020. Sustainable biohydrogen production by *Chlorella* sp. microalgae: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 45, no. 15, pp. 8310-8328. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2020.01.059.
38. KANDASAMY, S., NARAYANAN, M., HE, Z., LIU, G., RAMAKRISHNAN, M., THANGAVEL, P., PUGAZHENDHI, A., RAJA, R. y CARVALHO, I.S., 2021. Current strategies and prospects in algae for remediation and biofuels: An overview. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [en línea], vol. 35, no. April, pp. 102045. ISSN 18788181. DOI 10.1016/j.bcab.2021.102045. Disponible en:

- <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102045>.
39. KHASIMOV, M.K., PETUSHKOVA, E.P., KHUSNUTDINOVA, A.N., ZORIN, N.A., BATYROVA, K.A., YAKUNIN, A.F. y TSYGANKOV, A.A., 2021. The HydS C-terminal domain of the *Thiocapsa bogorovii* HydSL hydrogenase is involved in membrane anchoring and electron transfer. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* [en línea], vol. 1862, no. 12, pp. 148492. ISSN 18792650. DOI 10.1016/j.bbabbio.2021.148492. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2021.148492>.
40. KHETKORN, W., LINDBLAD, P. y INCHAROENSAKDI, A., 2020. Enhanced H₂ production with efficient N₂-fixation by fructose mixotrophically grown *Anabaena* sp. PCC 7120 strain disrupted in uptake hydrogenase. *Algal Research* [en línea], vol. 47, no. September 2019, pp. 101823. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2020.101823. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101823>.
41. KHOSRAVITABAR, F. y HIPPLER, M., 2019. A new approach for improving microalgal biohydrogen photoproduction based on safe & fast oxygen consumption. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 44, no. 33, pp. 17835-17844. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2019.05.038. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.05.038>.
42. KOSSALBAYEV, B.D., KAKIMOVA, A.B., BOLATKHAN, K., ZAYADAN, B.K., SANDYBAYEVA, S.K., BOZIEVA, A.M., SADVAKASOVA, A.K., ALWASEL, S. y ALLAKHVERDIEV, S.I., 2022. Biohydrogen production by novel cyanobacterial strains isolated from rice paddies in Kazakhstan. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 47, no. 37, pp. 16440-16453. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2022.03.126. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.03.126>.
43. KOSSALBAYEV, B.D., TOMO, T., ZAYADAN, B.K., SADVAKASOVA, A.K., BOLATKHAN, K., ALWASEL, S. y ALLAKHVERDIEV, S.I., 2020. Determination of the potential of cyanobacterial strains for hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 45, no. 4, pp. 2627-2639. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2019.11.164. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.11.164>.

44. LI, L., ZHANG, L. y LIU, J., 2021. Proteomic analysis of hydrogen production in *Chlorella pyrenoidosa* under nitrogen deprivation. *Algal Research* [en línea], vol. 53, no. November 2020, pp. 102143. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2020.102143. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102143>.
45. LI, S., LI, F., ZHU, X., LIAO, Q., CHANG, J.S. y HO, S.H., 2022. Biohydrogen production from microalgae for environmental sustainability. *Chemosphere*, vol. 291, no. xxxx. ISSN 18791298. DOI 10.1016/j.chemosphere.2021.132717.
46. LIU, J.Z., GE, Y.M., SUN, J.Y., CHEN, P., ADDY, M., HUO, S.H., LI, K., CHENG, P.F. y RUAN, R., 2019. Exogenic glucose as an electron donor for algal hydrogenases to promote hydrogen photoproduction by *Chlorella pyrenoidosa*. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 289, no. June, pp. 121762. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2019.121762. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121762>.
47. MANOYAN, J., SAMOVICH, T., KOZEL, N., DEMIDCHIK, V. y GABRIELIAN, L., 2022. Growth characteristics, biohydrogen production and photochemical activity of photosystems in green microalgae *Parachlorella kessleri* exposed to nitrogen deprivation. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 47, no. 38, pp. 16815-16823. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2022.03.194. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.03.194>.
48. MASWANNA, T., LINDBLAD, P. y MANEERUTTANARUNGROJ, C., 2020. Improved biohydrogen production by immobilized cells of the green alga *Tetraspora* sp. CU2551 incubated under aerobic condition. *Journal of Applied Phycology*, vol. 32, no. 5, pp. 2937-2945. ISSN 15735176. DOI 10.1007/s10811-020-02184-3.
49. MASWANNA, T., PHUNPRUCH, S., LINDBLAD, P. y MANEERUTTANARUNGROJ, C., 2018. Enhanced hydrogen production by optimization of immobilized cells of the green alga *Tetraspora* sp. CU2551 grown under anaerobic condition. *Biomass and Bioenergy* [en línea], vol. 111, no. January, pp. 88-95. ISSN 18732909. DOI 10.1016/j.biombioe.2018.01.005. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.01.005>.

50. MONA, S., KUMAR, S.S., KUMAR, V., PARVEEN, K., SAINI, N., DEEPAK, B. y PUGAZHENDHI, A., 2020. Green technology for sustainable biohydrogen production (waste to energy): A review. *Science of the Total Environment* [en línea], vol. 728, pp. 138481. ISSN 18791026. DOI 10.1016/j.scitotenv.2020.138481. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138481>.
51. MORSY, F.M., ELBAHLOUL, Y. y ELBADRY, M., 2019. Photoheterotrophic growth of purple non-sulfur bacteria on Tris Acetate Phosphate Yeast extract (TAPY) medium and its hydrogen productivity in light under nitrogen deprivation. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 44, no. 18, pp. 9282-9290. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2019.02.086. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.02.086>.
52. NABGAN, W., TUAN ABDULLAH, T.A., NABGAN, B., JALIL, A.A., NORDIN, A.H., UL-HAMID, A., HASSAN, N.S., HUSSAIN, I., COELHO, A., AMIN, A. y IKRAM, M., 2021. Catalytic biohydrogen production from organic waste materials: A literature review and bibliometric analysis. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 46, no. 60, pp. 30903-30925. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2021.04.100. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.04.100>.
53. OSMAN, A.I., MEHTA, N., ELGARAHY, A.M., HEFNY, M., AL-HINAI, A., AL-MUHTASEB, A.H. y ROONEY, D.W., 2022. *Hydrogen production, storage, utilisation and environmental impacts: a review* [en línea]. S.I.: Springer International Publishing. ISBN 0123456789. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01322-8>.
54. PALMA, V., RUOCCO, C., MELONI, E., MARTINO, M. y BARBA, D., 2020. *Membrane reactor technology and catalysis for intensified hydrogen production* [en línea]. S.I.: Elsevier Inc. ISBN 9780128173848. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-817384-8.00006-6>.
55. PANSOOK, S., INCHAROENSAKDI, A. y PHUNPRUCH, S., 2019. Effects of the Photosystem II Inhibitors CCCP and DCMU on Hydrogen Production by the Unicellular Halotolerant Cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. *Scientific World Journal*, vol. 2019. ISSN 1537744X. DOI 10.1155/2019/1030236.

56. PEWNUAL, T., JAMPAPETCH, N., SALADTOOK, S., RAKSAJIT, W., KLINSALEE, R. y MANEERUTTANARUNGROJ, C., 2022. Response of green alga *Tetraspora* sp. CU2551 under potassium deprivation: a new promising strategy for hydrogen production. *Journal of Applied Phycology*, no. 0123456789. ISSN 15735176. DOI 10.1007/s10811-021-02672-0.
57. PRABAKAR, D., MANIMUDI, V.T., SUVETHA, S., SAMPATH, S., MADHAB, D., RAJENDRAN, K. y PUGAZHENDHI, A., 2018. Producción avanzada de biohidrógeno a partir de residuos industriales pretratados: Perspectivas y perspectivas. *Revisiones de energía renovable y sostenible*, vol. 96, pp. 306-324.
58. PREETHI, RAJESH BANU, J., GODVIN SHARMILA, V., KAVITHA, S., VARJANI, S., KUMAR, G. y GUNASEKARAN, M., 2021. Alkali activated persulfate mediated extracellular organic release on enzyme secreting bacterial pretreatment for efficient hydrogen production. *Bioresource Technology*, vol. 341. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2021.125810.
59. RAZU, M.H., HOSSAIN, F. y KHAN, M., 2019. *Avance de la producción de biohidrógeno a partir de microalgas*. S.l.: s.n. ISBN 9789811322648.
60. SADVAKASOVA, A.K., KOSSALBAYEV, B.D., ZAYADAN, B.K., BOLATKHAN, K., ALWASEL, S., NAJAFPOUR, M.M., TOMO, T. y ALLAKHVERDIEV, S.I., 2020. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 133, no. January, pp. 110054. ISSN 18790690. DOI 10.1016/j.rser.2020.110054. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110054>.
61. SAHA, R., BHATTACHARYA, D. y MUKHOPADHYAY, M., 2022. Enhanced production of biohydrogen from lignocellulosic feedstocks using microorganisms: A comprehensive review. *Energy Conversion and Management: X* [en línea], vol. 13, no. September 2021, pp. 100153. ISSN 25901745. DOI 10.1016/j.ecmx.2021.100153. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2021.100153>.
62. SHASTIK, E., LI, L., ZHANG, L., QIN, R., YU, W. y LIU, J., 2020. Some molecular aspects of hydrogen production by marine *Chlorella pyrenoidosa* under nitrogen deprivation condition in natural seawater.

- International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 45, no. 27, pp. 13876-13883. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2020.03.097. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.03.097>.
63. SHEKHAR, C., KAI, T., GARCIA-CONTRERAS, R., SANCHEZ-TORRES, V. y MAEDA, T., 2021. Evaluation of hydrogen metabolism by *Escherichia coli* strains possessing only a single hydrogenase in the genome. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 46, no. 2, pp. 1728-1739. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2020.10.070. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.10.070>.
64. SHOW, K.Y., YAN, Y., LING, M., YE, G., LI, T. y LEE, D.J., 2018. Hydrogen production from algal biomass – Advances, challenges and prospects. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 257, no. February, pp. 290-300. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2018.02.105. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.105>.
65. SHOW, K.Y., YAN, Y., ZONG, C., GUO, N., CHANG, J.S. y LEE, D.J., 2019. State of the art and challenges of biohydrogen from microalgae. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 289, no. July, pp. 121747. ISSN 18732976. DOI 10.1016/j.biortech.2019.121747. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121747>.
66. SINGH, M., CHAVALI, M., ENAMALA, M.K., OBULISAMY, P.K., DIXIT, R., KUPPAM, C. y VERMA, P., 2021. *Biorefineries: A Step Towards Renewable and Clean Energy*. S.l.: s.n. ISBN 9789811595929.
67. SIRAWATTANAMONGKOL, T., MASWANNA, T. y MANEERUTTANARUNGROJ, C., 2020. A newly isolated green alga *Chlorella* sp. KLSc59: potential for biohydrogen production. *Journal of Applied Phycology*, vol. 32, no. 5, pp. 2927-2936. ISSN 15735176. DOI 10.1007/s10811-020-02140-1.
68. SIVARAMAKRISHNAN, R., SHANMUGAM, S., SEKAR, M., MATHIMANI, T., INCHAROENSAKDI, A., KIM, S.H., PARTHIBAN, A., EDWIN GEO, V., BRINDHADEVI, K. y PUGAZHENDHI, A., 2021. Insights on biological hydrogen production routes and potential microorganisms for high hydrogen yield. *Fuel* [en línea], vol. 291, no. December 2020, pp. 120136. ISSN 00162361. DOI 10.1016/j.fuel.2021.120136. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120136>.

69. SON, Y.S., JEON, J.M., KIM, D.H., YANG, Y.H., JIN, Y.S., CHO, B.K., KIM, S.H., KUMAR, S., LEE, B.D. y YOON, J.J., 2021. Improved biohydrogen production by overexpression of glucose-6-phosphate dehydrogenase and FeFe hydrogenase in *Clostridium acetobutylicum*. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 46, no. 74, pp. 36687-36695. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2021.08.222. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.08.222>.
70. TOULOUPAKIS, E., FARALONI, C., SILVA BENAVIDES, A.M., MASOJÍDEK, J. y TORZILLO, G., 2021. Sustained photobiological hydrogen production by *Chlorella vulgaris* without nutrient starvation. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 46, no. 5, pp. 3684-3694. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2020.10.257.
71. VARGAS, S.R., DOS SANTOS, P.V., GIRALDI, L.A., ZAIAT, M. y CALIJURI, M. do C., 2018. Anaerobic phototrophic processes of hydrogen production by different strains of microalgae *Chlamydomonas* sp. *FEMS Microbiology Letters* [en línea], vol. 365, no. 9, pp. 1-6. ISSN 15746968. DOI 10.1093/femsle/fny073. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/femsle/fny073>.
72. VARGAS, S.R., SANTOS, P.V. dos, ZAIAT, M. y CALIJURI, M. do C., 2018. Optimization of biomass and hydrogen production by *Anabaena* sp. (UTEX 1448) in nitrogen-deprived cultures. *Biomass and Bioenergy* [en línea], vol. 111, no. August 2017, pp. 70-76. ISSN 18732909. DOI 10.1016/j.biombioe.2018.01.022. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.01.022>.
73. VARGAS, S.R., ZAIAT, M. y CALIJURI, M. do C., 2021. Influence of Sulfur and Light Intensity in Nutrient Removal, and Hydrogen and Ethanol Production by Improved Biomass of *Chlamydomonas reinhardtii* in Batch Anaerobic Photobioreactors. *Bioenergy Research* [en línea], no. 0123456789. ISSN 19391242. DOI 10.1007/s12155-021-10296-y. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10296-y>.
74. VOLGUSHEVA, A., KOSOUROV, S., LYNCH, F. y ALLAHVERDIYEVA, Y., 2019. Immobilized heterocysts as microbial factories for sustainable nitrogen fixation. *Journal of Biotechnology: X*, vol. 4, no. November 2019, pp. 1-7. ISSN 25901559. DOI 10.1016/j.btecx.2020.100016.

75. WEINER, I., SHAHAR, N., FELDMAN, Y., LANDMAN, S., MILRAD, Y., BEN-ZVI, O., AVITAN, M., DAFNI, E., SCHWEITZER, S., EILENBERG, H., ATAR, S., DIAMENT, A., TULLER, T. y YACOBY, I., 2018. Overcoming the expression barrier of the ferredoxin-hydrogenase chimera in *Chlamydomonas reinhardtii* supports a linear increment in photosynthetic hydrogen output. *Algal Research* [en línea], vol. 33, no. March, pp. 310-315. ISSN 22119264. DOI 10.1016/j.algal.2018.06.011. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.06.011>.
76. WUTTHITHIEN, P. y INCHAROENSAKDI, A., 2022. Improved biohydrogen production by co-cultivation of N₂-fixing cyanobacterium *Fischerella muscicola* TISTR 8215 and microalga *Chlorella* sp. *Journal of Applied Phycology* [en línea], no. 0123456789. ISSN 15735176. DOI 10.1007/s10811-022-02766-3. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02766-3>.
77. WUTTHITHIEN, P., LINDBLAD, P. y INCHAROENSAKDI, A., 2019. Improvement of photobiological hydrogen production by suspended and immobilized cells of the N₂-fixing cyanobacterium *Fischerella muscicola* TISTR 8215. *Journal of Applied Phycology*, vol. 31, no. 6, pp. 3527-3536. ISSN 15735176. DOI 10.1007/s10811-019-01881-y.
78. YU, Q., HE, J., ZHAO, Q., WANG, X., ZHI, Y., LI, Xiaonan, LI, Xianjun, LI, L. y GE, B., 2021. Regulación de la fuente de nitrógeno para mejorar la producción fotobiológica de H₂ mediante el cocultivo de *Chlamydomonas reinhardtii* y *Mesorhizobium sangaii*. *Investigación de algas*, vol. 58.
79. ZHANG, L., LI, L. y LIU, J., 2022. Enhanced biohydrogen and lipid coproduction in *Chlorella protothecoides* under nitrogen-limiting conditions in a closed system. *Journal of Cleaner Production* [en línea], vol. 359, no. November 2021, pp. 132169. ISSN 09596526. DOI 10.1016/j.jclepro.2022.132169. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132169>.
80. ZOU, Y., XU, X., WANG, X., YANG, F. y ZHANG, S., 2018. Achieving efficient nitrogen removal and nutrient recovery from wastewater in a combining simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process with a photobioreactor (PBR) for biomass production and generated dissolved oxygen (DO) recycling. *Bioresource Technology* [en

línea], vol. 268, no. June, pp. 539-548. ISSN 18732976. DOI
10.1016/j.biortech.2018.08.015. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.015>.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de categorización apriorística.

OBJETIVO GENERAL	PROBLEMA GENERAL	CATEGORIAS	SUB CATEGORÍAS	ESCALA DE MEDICIÓN	CRITERIOS DE INCLUSIÓN
Evaluar la aplicación de la Biofotólisis para la producción de Hidrogeno	¿Evaluar la aplicación de la Biofotólisis para la producción de Hidrogeno?	Directa	Luz solar, agua, concentración de biomasa	Producción de Hidrógeno	Artículos de Revistas Indexadas Artículos científicos y libros
		Indirecta	Luz solar, agua, CO2, concentración de biomasa		
OBJETIVOS ESPECIFICOS	PROBLEMAS ESPECIFICOS	CATEGORIAS	SUB CATEGORÍAS	ESCALA DE MEDICIÓN	Artículos de los últimos 5 años (2018-2022)
Describir los microorganismos utilizados en la biofotólisis para producir hidrógeno	¿Qué microorganismos son utilizados en la biofotólisis para producir hidrógeno?	Microorganismos	Algas Bacterias	Producción de Hidrógeno	

Analizar los tipos de asistencia para la producción de hidrógeno	¿Qué tipo de asistencia necesita los microorganismos para la producción de hidrógeno?	Tipo de Asistencia	Enzima Hidrogenasa Enzima Nitrogenasa	Cantidad de sustrato formado por unidad de tiempo	
Examinar las condiciones en la producción de hidrógeno	¿Cuáles son las condiciones de la producción de hidrógeno?	Condiciones operativas	Temperatura Intensidad de luz pH Nutrientes Fuentes de carbono	Instrumentos de medición	
Analizar los tipos de reactores que participan en la producción de hidrógeno por biofotólisis	¿Qué tipo de reactores participan son usado en la producción de hidrógeno por biofotólisis?	Tipo de reactores	Biorreactor (PBR) Fotobiorreactor de panel Fotobiorreactor anaeróbico por lotes Biorreactor BioFlo	Ordinal	



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, CABELLO TORRES RITA JAQUELINE, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - LIMA ESTE, asesor de Tesis titulada: "Aplicación de Biofotólisis para la Producción de Hidrógeno. Revisión Sistemática, 2022", cuyos autores son MADUEÑO CERECEDA KATHIZA ANNAIS, FLORES CALLEÑAUPA FIORELLA KATY, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 6.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido, asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

LIMA, 20 de Junio del 2022

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
CABELLO TORRES RITA JAQUELINE DNI: 08947396 ORCID: 0000-0002-9965-9678	Firmado electrónicamente por: RCABELLOTO15 el 20-07-2022 16:49:58

Código documento Trilce: TRI - 0308783