

# Microbiología de la producción de hidrógeno

José Pedro López Pérez

IES "Ortega y Rubio". 30170. Mula. Murcia. España.

[josepedro.lopez@murciaeduca.es](mailto:josepedro.lopez@murciaeduca.es)

[Recibido en septiembre de 2010, aceptado en marzo de 2011]

Este artículo muestra las directrices para lograr el éxito en la producción microbiológica de hidrógeno (a microescala) como experiencia en un laboratorio de educación secundaria obligatoria y las repercusiones sociales como fuente de energía renovable.

**Palabras claves:** microbiología; producción de hidrógeno; educación secundaria; coliformes; *Escherichia coli*.

## Microbiology of the hydrogen production

This communication shows the indications to achieve the success in the hydrogen microbiological production (to microscale) as an experience in the compulsory secondary education laboratory and the social repercussions as a renewable energy source.

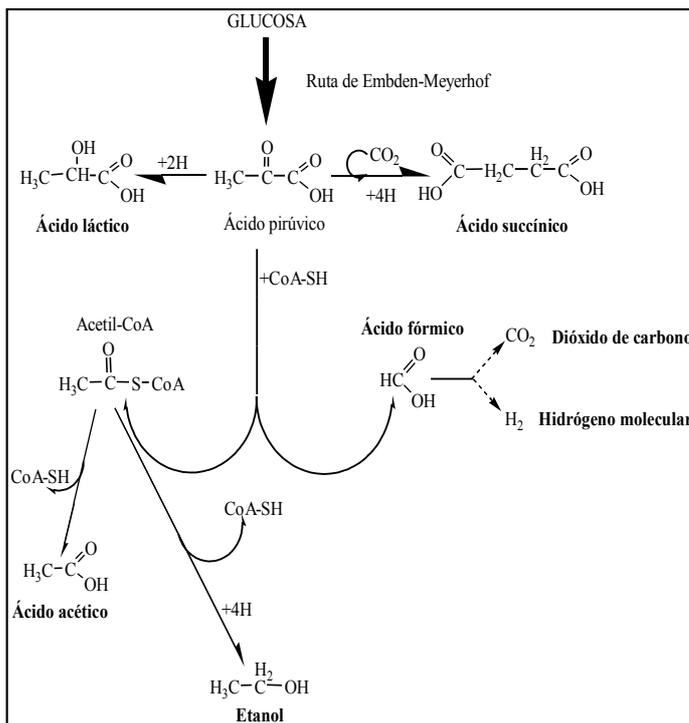
**Keywords:** microbiology; hydrogen production; secondary education; coliform; *Escherichia coli*.

La sociedad creada tras la Revolución Industrial decimonónica demanda, día tras día, enormes cantidades de energía. Petróleo, derivados y carbón son las principales fuentes energéticas que proporcionan el avance social tan esperado desde hacía décadas pero, en cambio, provocan un importante impacto ambiental en nuestro planeta, contaminando la atmósfera con gases de efecto invernadero (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>...), tras su combustión.

El uso indiscriminado de estas fuentes energéticas va a suponer su agotamiento a corto y medio plazo, haciéndose necesario la búsqueda de nuevos recursos que suplan a los primeros y que cumplan tres premisas: baratos, limpios y renovables. Desde hace siglos, la humanidad ha utilizado la energía eólica para movilizar las piedras pesadas de los molinos de viento. En la actualidad, se utiliza una versión mejorada para el aprovechamiento más óptimo de la misma, los aerogeneradores. Otras, como la energía fotovoltaica, la procedente de la combustión de la biomasa, la incipiente energía mareomotriz... son algunas de las energías renovables que entran en juego por competir como alternativa frente al petróleo y carbón.

El hidrógeno, gas más abundante en el universo, se empieza a considerar como una fuente renovable de energía, tanto o más eficiente que el petróleo en cuanto a poder calorífico e incapaz de causar fuertes impactos ambientales, ya que no emite dióxido de carbono a la atmósfera. No obstante, esta consideración no es del todo cierta ya que, en la actualidad, un elevado porcentaje del hidrógeno utilizado en el mundo se extrae del gas natural que, durante su procesado, libera grandes cantidades de CO<sub>2</sub> a la atmósfera (Calvo *et al.*, 2007).

Alternativas a esta fuente de producción de hidrógeno sería la electrolisis de la molécula de agua. Sin embargo, la pregunta inmediata que surge tras este enunciado sería de dónde resulta la energía necesaria para llevar a cabo la ruptura de la molécula. Como respuesta indiscutible, el procedimiento sería recurrir a energías no renovables. No obstante, si buscamos en el mundo microbiano, un grupo de bacterias entéricas, los coliformes, son capaces de producir enormes cantidades de este "gas milagroso" como resultado final de su metabolismo fermentativo.



**Figura 1.** Ruta bioquímica de formación de los ácidos (negrita) y otros productos finales de una fermentación ácido mixta a partir de ácido pirúvico (según Madigan *et al.*, 2004; pág. 376).

La fermentación de azúcares por el grupo de las bacterias entéricas tiene lugar mediante la ruta de Embden-Meyerhof (glucólisis) que concluye en la producción de ácido pirúvico (Figura 1). El piruvato puede seguir diferentes caminos de carboxilaciones y reacciones de óxido-reducción dando lugar a cuatro ácidos generales de fermentación: el lactato, el succinato, el acetato y el formiato. La descomposición del ácido fórmico es la responsable de la producción de hidrógeno. Las bacterias pertenecientes a los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia*, *Vibrio* y *Photobacterium* presentan el enzima formicohidrogenilasa que rompe la molécula de ácido en de dióxido de carbono e hidrógeno (Madigan *et al.*, 2004, pág. 375-377).

En el laboratorio de Educación Secundaria podemos constatar de forma sencilla la producción de ácido y gas por parte de este grupo microbiano empleando un caldo de cultivo rico en un azúcar fermentable, la lactosa (disacárido constituido por glucosa y galactosa), y un artilugio que ponga de manifiesto la producción de gas por acumulación del mismo en su interior, la campana de Durham (construida tras la modificación de una pipeta de vidrio Pasteur en la llama de un mechero Bunsen).

Para lograrlo, en un matraz de un litro de capacidad disponemos los siguientes ingredientes para confeccionar un caldo nutritivo para el cultivo de microorganismos: 1 litro de agua del grifo, 20 g de triptona (que puede ser sustituida por una pastilla de concentrado de extracto de carne), 2.75 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 2.75 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 5 g de cloruro de sodio y 0.1 g de lauril sulfato de sodio (que puede ser sustituido por detergente de lavavajillas). El pH final de medio de cultivo oscilará alrededor de  $6.8 \pm 0.2$ .

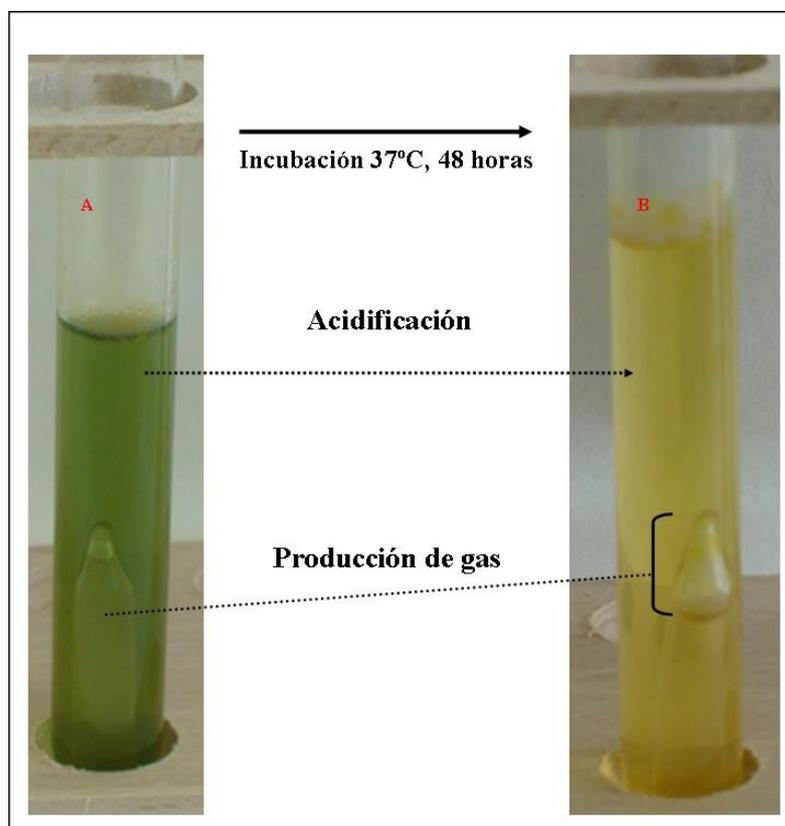
El lauril sulfato de sodio es un detergente aniónico que ejerce la función de agente selectivo en nuestra experiencia. Los coliformes (bacterias gramnegativas<sup>1</sup>) serán capaces de resistir la acción desnaturante del detergente sobre las membranas lipídicas celulares.

Se verterán 9 ml de este caldo de cultivo y unas gotas de indicador de pH (solución 1% de azul de bromotímol) en el interior de un tubo de ensayo (10x150 mm) provisto de un vial invertido, la campana de Durham (Figura 2A). Para que el medio de cultivo invada el interior del vial será necesario calentar con cuidado el tubo de ensayo y llevar a ebullición el caldo. Tras su lento enfriamiento, podrá comprobarse como éste invade el interior de la campana.

La muestra a análisis portadora de coliformes va a consistir en un agua de albañal o efluente de depuradora. Tomando las medidas oportunas de prevención de cualquier contagio por el

<sup>1</sup> Grupo microbiano procarionta que arquitectura su superficie celular más externa en tres capas: (1) membrana externa, (2) fina pared de péptido-glicano o mureína y (3) membrana plasmática.

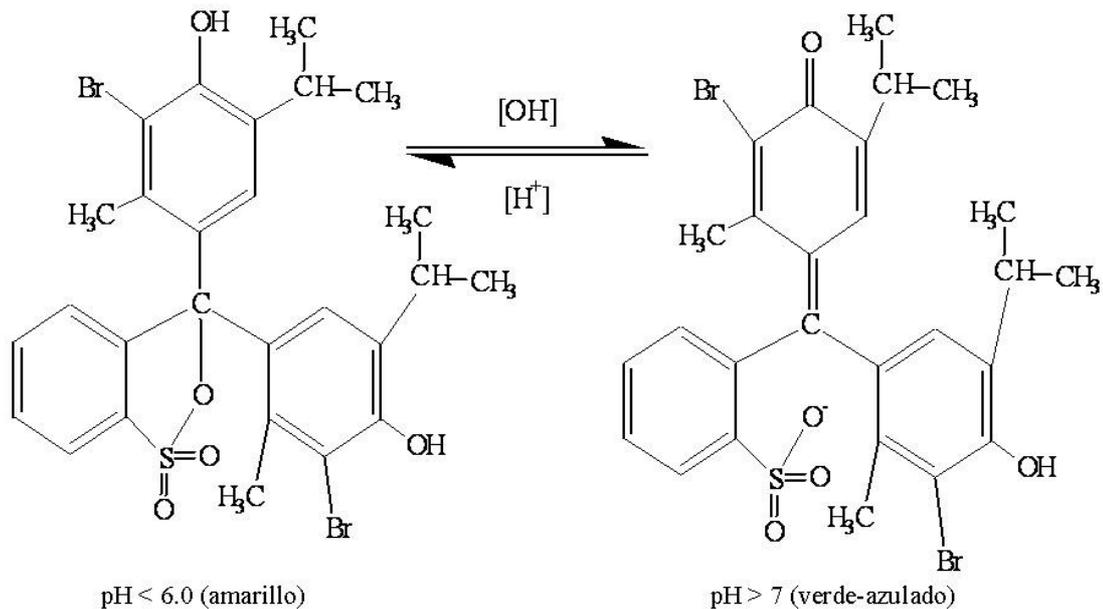
contacto directo con este tipo de agua (López Pérez *et al.*, 2010), mediante la ayuda de una pipeta y de un succionador se inoculará 1 ml de muestra en el tubo de ensayo que contiene del caldo de cultivo. La incubación se llevará a temperatura ambiente (si bien la temperatura óptima es de 37 °C) durante 24 y 48 horas.



**Figura 2.** Aspecto del tubo de fermentación al inicio de la práctica, previa a la incubación con la muestra de agua de albañal (A) y posterior a la incubación durante 48 horas, a temperatura de 37 °C, 48 horas (B). Puede comprobarse una variación en la coloración del indicador de pH (verde, pH 6.8 → amarillo, pH 3.2) y la producción de gas en los tubos de fermentación.

Transcurrido este período de tiempo se podrá comprobar un viraje de coloración en el tubo de ensayo: verde-azulado (pH cercano a la neutralidad) hacia el amarillo (pH ácido), y una visualización de gas acumulado en el interior del vial dentro del tubo de ensayo, así como un burbujeo tras agitar con suavidad el tubo de fermentación (Figura 2B). Los gases consisten en concentraciones equimoleculares de hidrógeno y dióxido de carbono procedentes de la ruptura de la molécula de ácido fórmico por aquellas bacterias que porten en su maquinaria enzimática el formicohidrogenilasa (Figura 1). El cambio de coloración será consecuencia de una modificación en la estructura molecular del indicador de pH, azul de bromotimol (Figura 3 en López Pérez, 2000), bajo condiciones variables de concentración de hidrogeniones (pH ácido / básico) en el medio de cultivo.

La importancia de esta experiencia radica en el hecho sustancial de que mediante una rudimentaria tecnología de laboratorio se puede poner de manifiesto –a microescala– el funcionamiento de un fermentador industrial para la producción de un recurso energético de envergadura internacional. Sin ir más lejos, algunas publicaciones recientes van dirigidas a la mejora genética de algunas especies de *Escherichia coli* portadoras de esta enzima para producir cantidades considerables del gas hidrógeno (Waks y Silver, 2009; Yoshida *et al.*, 2007).



**Figura 3.** Estructura química del indicador de pH azul de bromotimol en medio ácido y básico (López Pérez, 2000).

El tiempo estimado para la realización y explicación de esta experiencia es de 55 minutos (1 clase). Con ayuda de un asa de Kolle pueden tomarse alícuotas del tubo de fermentación (tras la incubación durante 48 horas a 37 °C) y realizar observaciones de los microorganismos al microscopio óptico de campo claro (previa tinción) o de contraste de fase.

## Referencias

- Calvo D., Molina M.T.; Salvachúa J. (2007). *Ciencias de la Tierra y medioambientales. Bachillerato*. 4ª Edición. Editorial McGraw Hill/Interamericana. Barcelona.
- López Pérez J.P. (2000). *Microbiología de las aguas potables de redes de distribución urbana y caracterización de una bacteria típica de red*. Tesis de licenciatura. Premio trabajo fin de carrera. Departamento de Genética y Microbiología. Universidad de Murcia. Inédito.
- López Pérez J.P., Jiménez J.J., Fabregat A. y Gutiérrez J.A. 2010. Microbiología de la producción controlada de sulfuro de hidrógeno. Una experiencia de trabajo en el laboratorio de educación secundaria. *Rev. Eureka Enseñ. Divul. Cien.* 7 (2), 573-578. En línea en: <http://reuredc.uca.es>
- Madigan M.T., Martinko J.M. y Parker J. (2004). *Brock: Biología de los microorganismos*. 10ª edición. Prentice Hall.
- Waks Z. y Silver P.A. 2009. Engineering a synthetic dual organism system for hydrogen production. *Appl. Environ. Microbiol.* 75 (7): 1867-1875.
- Yoshida A., Nishimura T., Kawaguchi H., Inui M. y Yukawa H. (2007). Efficient induction of formate hydrogen lyase of aerobically grown *Escherichia coli* in a three-step biohydrogen production process. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74 (4): 754-760.