

16
2 ej'



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO DE TRANSFERENCIA DE OXIGENO EN UN
FERMENTADOR AIR-LIFT RECTANGULAR**

T E S I S

MARIA CRISTINA CALVA VALDERRABANO

INGENIERO QUIMICO

1985



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL.

I. RESUMEN.	8
II. INTRODUCCION.	9
A. Papel que desempeña el O_2 en los microorganismos.	9
B. Fermentadores.	10
C. Coeficiente de transferencia de oxígeno.	17
1. Resistencias que se oponen a la transferencia de oxígeno de las burbujas de aire a la superficie celular.	17
2. Medición del coeficiente de transferencia de O_2 .	23
D. Patrones de flujo.	40
E. Antecedentes.	42
F. Objetivo.	48
III. METODO EXPERIMENTAL.	49
A. Fermentador.	49
B. Determinación por el método del sulfito.	54
C. Determinación por el método dinámico.	56
D. Determinación de los patrones de flujo del fermentador.	66
IV. RESULTADOS.	68
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	96
VI. BIBLIOGRAFIA.	99

INDICE DE FIGURAS.

Fig. 1.	Tipos de reactores para fermentaciones aeróbicas sumergidas.	12
Fig. 2.	Fermentadores "air-lift".	16
Fig. 3.	Resistencias a la transferencia de O_2 desde la burbuja de aire a la célula.	18
Fig. 4.	Transferencia del O_2 del aire a la superficie celular según la teoría de película.	18
Fig. 5.	Esquema de los principales componentes del electrodo de Clark (comercial).	29
Fig. 6.	Estimación del coeficiente de transferencia de masa por el método del transiente. Curva típica de concentración de O_2 disuelto vs tiempo.	34
Fig. 7.	Método de estimación del k_{1a} empleando la técnica del transiente.	35
Fig. 8.	Estimación del k_{1a} por la técnica dinámica. Curva típica de concentración de O_2 disuelto vs tiempo.	38
Fig. 9.	Método de estimación del k_{1a} empleando la técnica dinámica.	39
Fig. 10.	Vista superior que muestra la convergencia de las burbujas en un sistema cilíndrico (un punto) y en uno rectangular (una línea).	43
Fig. 11.	Representación de la corriente líquida que permite a mayor número de burbujas pasar a la zona descendente en el caso del fermentador "air-lift" rectangular, comparándolo con el cilíndrico.	44
Fig. 12.	Coefficiente de transferencia de masa en función de la potencia por unidad de volumen.	45
Fig. 13.	Factor de funcionamiento en función de la velocidad superficial del gas.	46
Fig. 14.	Esquema representativo de las dimensiones del fermentador empleado.	49
Fig. 15.	Esquema del fermentador "air-lift" rectangular que muestra las conexiones de vapor, agua y aire necesarias.	53
Fig. 16.	Curva de crecimiento para levadura de panificación, inóculo 3 g/l.	59
Fig. 17.	Curva patrón para levadura de panificación.	60
Fig. 18.	Curva patrón para azul de bromo fenol.	67
Fig. 19.	Determinación del k_{1a} por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm a 4 cm del fondo del fermentador. Difusor a 4 cm. Relación $a/a_d = 1$.	70
Fig. 20.	Determinación del k_{1a} por el método del sulfito variando la altura de la placa y del difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm. $a/a_d = 1$.	73

- Fig. 21. Determinación del k_a por el método del sulfito variando la altura del difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Relación $a/a_d = 1$. 76
- Fig. 22. Determinación del k_a por el método del sulfito variando el tamaño de la placa. Placa a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a/a_d = 1$. 79
- Fig. 23. Determinación del k_a por el método del sulfito variando la relación a/a_d . Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm del fondo. 82
- Fig. 24. Determinación del k_a por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a/a_d = 1$. 85
- Fig. 25. Determinación del k_a por el método dinámico en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire y concentraciones de inóculo (levadura de panificación). Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a/a_d = 1$. Se incluye la determinación optimizada por el método del sulfito, para fines de comparación. 88
- Fig. 26. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido. $v = 118.34$ cm/min. 90
- Fig. 27. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido. $v = 236.68$ cm/min. 91
- Fig. 28. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido. $v = 355.02$ cm/min. 92
- Fig. 29. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido. $v = 473.36$ cm/min. 93
- Fig. 30. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido. $v = 591.71$ cm/min. 94
- Fig. 31. Tiempos de mezclado y de circulación en función de la velocidad superficial del aire. 95

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Determinación del k_a por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 4 cm del fondo del fermentador, al igual que el difusor. Relación $a/a_d = 1$. 69

Tabla 2. Determinación del k_a por el método del sulfito variando la altura de la placa y del difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm. Relación $a/a_d = 1$. 72

Tabla 3. Determinación del k_a por el método del sulfito variando la altura del difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Relación $a/a_d = 1$. 75

Tabla 4. Determinación del k_a por el método del sulfito variando el tamaño de la placa. Placa a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a/a_d = 1$. 78

Tabla 5. Determinación del k_a por el método del sulfito variando la relación a/a_d . Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. 81

Tabla 6. Determinación del k_a por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a/a_d = 1$. 84

Tabla 7. Determinación del k_a por el método dinámico en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire y concentraciones de inóculo (levadura de panificación). Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a/a_d = 1$. 87

I. RESUMEN.

Se presenta un estudio de los coeficientes de transferencia de masa, oxígeno, con el fin de optimizar la configuración geométrica de un fermentador "air-lift" rectangular.

Para evaluar los coeficientes de transferencia de oxígeno se emplean dos métodos: método del sulfito y método dinámico. La medición de oxígeno disuelto en el medio se realiza utilizando un electrodo galvánico de oxígeno.

El método del sulfito se aplica a la determinación de la altura óptima de la placa que divide la región ascendente de la descendente, a la del difusor en la región ascendente; al tamaño óptimo de la placa y a la mejor relación área de ascenso/área de descenso.

En el método dinámico se miden valores más reales del coeficiente de transferencia de oxígeno ya que se emplea como sólido absorbente levadura de panificación, en las condiciones óptimas de configuración geométrica.

El trabajo se complementa con un estudio del patrón de flujo, en lo que se refiere a tiempos de mezclado y tiempos de circulación; con la ayuda del método experimental estímulo-respuesta, inyectando un pulso de un indicador que se usa como trazador.

II. INTRODUCCION.

A. Papel que desempeña el oxígeno en los microorganismos.

Las bacterias, hongos y levaduras crecen dispersos en su medio ambiente natural. En un fermentador se les proporciona un medio rico en nutrientes para que produzcan cantidades concentradas de biomasa o sustancias químicas. Los microorganismos no se encuentran en su hábitat natural; en el caso de los aerobios es necesario aplicarles una aeración vigorosa, ya que el oxígeno es muy poco soluble en agua y lo requieren disuelto para llevar a cabo sus funciones metabólicas.

El oxígeno cumple uno o varios papeles en los diferentes tipos de microorganismos, según Mukhopadhyay y Ghose (1976):

- Es un componente nutricional.
- Regulador del metabolismo fermentativo.
- Aceptor de electrones en la cadena respiratoria, pudiendo actuar como inductor.
- Veneno metabólico y agente mutagénico.
- Controlador del potencial redox.
- Generador de energía.
- Controlador de la permeabilidad de la membrana celular.

Por ellos, el suministro de oxígeno a los microbios es un aspecto muy importante en el diseño de los reactores para fermentaciones aeróbicas.

B. Fermentadores.

De acuerdo al papel fundamental que juega el oxígeno en la vida microbiana existen reactores llamados fermentadores, adaptados especialmente para cubrir, entre otros, este aspecto tan importante de suministro de oxígeno.

Un fermentador es un tanque que sirve para proporcionar el medio nutricional y fisiológico necesario para el crecimiento celular. De los muchos nutrientes que se requieren para el crecimiento celular o la producción de una sustancia específica, los más difíciles de suministrar son los menos solubles en la fase líquida. El oxígeno es el componente típico de menor solubilidad de la mayoría de los elementos requeridos, por lo que los fermentadores que se utilizan para el crecimiento de células aeróbicas se diseñan tratando de maximizar la velocidad de transferencia de oxígeno al medio de cultivo y minimizar la potencia requerida para la agitación del mismo medio. Manteniendo, además, el pH y la temperatura se cubren las necesidades fisiológicas primarias de las células; el pH es casi siempre fácil de ajustar, en cambio, eliminar el calor del fermentador es más difícil, Hatch (1975). Al estimar los costos de producción resulta generalmente que el costo de las materias primas constituye la fracción más elevada del total; seguido por el costo de los servicios auxiliares, entre los que se incluye el gasto de electricidad, empleado en los compresores y agitadores para llevar a cabo la aeración y la agitación durante el proceso de fermentación.

Los fermentadores "air-lift" son un tipo especial de bioreactores,

pertenecientes, desde el punto de vista de la Ingeniería Química, a la gran variedad de equipos que se emplean para estudiar sistemas gas-líquido. En estos sistemas es importante aumentar la transferencia de masa incrementando el área interfacial, lo que se logra dispersando la fase líquida o la gaseosa. En fermentaciones aeróbicas la fase dispersada es el aire y la continua el caldo de fermentación.

El equipo clásico para dispersar la fase gaseosa, en los sistemas gas-líquido, especialmente el aire en fermentaciones aeróbicas, es el tanque agitado, que para ello utiliza agitación mecánica. (Fig. 1.a.). Sin embargo, los fermentadores agitados tienen serias desventajas, según Onken y Weiland (1983), sobretodo los construidos a escala industrial: 1. Alto consumo de energía. 2. Complejidad en su construcción. 3. Dificultades en el escalamiento.

Es posible superar estas desventajas empleando los reactores sin partes móviles en los que la dispersión del aire se efectúa neumáticamente por medio de orificios o platos perforados. El más simple es la columna burbujeadora (Fig. 1.b.) que es un tanque cilíndrico aerado en el fondo. Otros son los reactores "air-lift" (Fig. 1.c. y 1.d.) que aprovechan la dispersión neumática del gas para reciclar el líquido en un circuito cerrado, después de que se ha desgaseado en el domo del reactor. La principal diferencia entre la columna burbujeadora y los "air-lift" es el patrón de flujo del líquido. En las columnas el patrón de flujo es al azar, en cualquier punto la velocidad del líquido puede ser muy alta, pero en la superficie es casi cero. En cambio en los "air-lift" el patrón de flujo es uniforme a una gran velocidad superficial. La circulación del líquido se debe a la diferencia

en la presión hidrostática entre el líquido aerado en el ascenso y el desgasado en el descenso. El escalamiento en los "air-lift" es más fácil y seguro ya que sus condiciones físicas dependen del tamaño del reactor pues sus patrones de flujo son definidos.

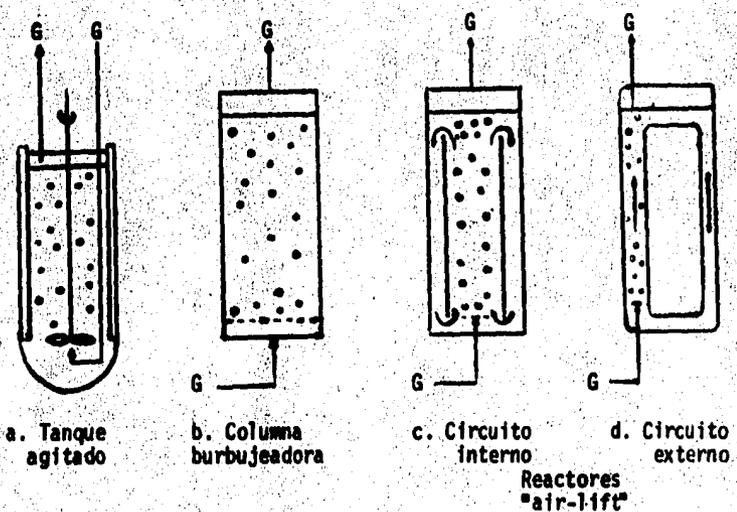


Fig. 1. Tipos de reactores para fermentaciones aeróbicas sumergidas.(G, corriente gaseosa).

La primera aplicación de un "air-lift" para fermentación la realizó Scholler (1933 ; 1937), en la producción de levadura de forraje a partir del licor de desecho del sulfito de celulosa. Lefrancois (1955 ; 1963) diseñó el fermentador "air-lift" con un tubo "draft" concéntrico para la producción de levaduras. En los últimos 20 años, los fermentadores "air-lift" se han desarrollado para producir proteína unicelular a partir de fuentes de carbono no convencionales como n-parafinas (Laine et al, 1967 ; Kanazawa, 1975), metanol (Gow et al, 1975 ; Präve et al, 1976) y para tratamiento biológico de efluentes (Hines et al, 1975 ; Leistner et al, 1979). Además de estas aplicaciones su uso se ha extendido a otras clases de cultivo, en los que se están haciendo constantes investigaciones.

En los fermentadores "air-lift" la circulación del líquido puede recorrer un circuito externo o uno interno. Cuando el circuito es interno el fermentador es una columna con un tubo draft concéntrico y cuando es externa la sección de ascenso (aerada) y la de descenso (no aerada) se encuentran separadas en tubos diferentes. Dicha separación puede ser un "baffle" vertical dentro de la columna como el fermentador cilíndrico de circuito dividido, o el "air-lift" rectangular, "channel loop reactor".

Los reactores cilíndricos con tubo draft (circuito interno) son los más usados e investigados a nivel industrial y planta piloto. En la mayoría de los diseños el aire se difunde en la base del tubo "draft". (Fig. 2. a.). Aunque existen diseños en los que la difusión del aire es en la base de la región anular, entre el tubo "draft" y la pared de la columna, con lo que se invierte la circulación. (Fig. 2.b.). Según Lefrancois (1955 ; 1963)

es mejor la transferencia de calor y menor la formación de espuma.

Se recomienda instalar platos perforados en el tubo draft en fermentadores grandes. Con dos funciones: 1. Redispersar las burbujas grandes que se forman por coalescencia al ascender el líquido y 2. disminuir la velocidad del líquido para disipar la energía de la corriente líquida. (Fig. 2. c.).

El reactor tubular (circuito externo) consta esencialmente de dos columnas paralelas conectadas en el domo y en el fondo. (Fig. 2.d.). Generalmente, las columnas tienen diferente diámetro, el mayor pertenece a la columna de ascenso. El "air-lift" tubular tiene las siguientes propiedades: 1. Desgaseo completo del líquido en el domo. 2. No hay zonas de flujo irregular. 3. Eliminación del calor fácilmente, instalando un intercambiador en la zona de descenso. 4. No existen problemas de contenido de gas al medir la velocidad de circulación del líquido, ni en su control. Los fermentadores "air-lift" tubulares se han empleado en investigaciones para conocer su comportamiento tanto en laboratorio, como en planta piloto, debido a que el sistema tiene condiciones bien definidas.

Otros tipos de reactores (circuito externo), por ejemplo el fermentador cilíndrico de circuito dividido tiene una construcción simple con áreas de ascenso y descenso iguales. Su caída de presión es baja porque su área humedecida es menor por unidad de volumen, con lo que la velocidad del líquido es mayor. La mayoría de las burbujas ascendentes se recirculan hacia la región descendente aumentando la cantidad en dicha zona, y por lo tan

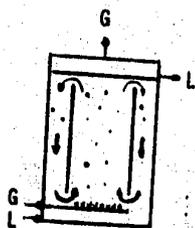
to, el contenido de oxígeno, sobretodo en el caso de que las burbujas cedan poco oxígeno como ocurre en reactores de poca altura. Cuando el flujo de gas es grande se pueden instalar reactores de multietapas en los que se obtiene mayor eficiencia en la transferencia de oxígeno.

Una modificación a este reactor es el llamado "reactor de pozo profundo" desarrollado por la ICI (1976) para tratamiento de aguas negras. El aire se inyecta en la región de descenso. (Fig. 2.e.). Esta condición en la operación se logra por los gradientes tan grandes que existen en la circulación del líquido. Como el gradiente es proporcional a la cabeza de líquido aerado, los reactores de pozo profundo necesitan por lo menos una altura de líquido de 21 m para diámetros grandes y diseño hidráulico óptimo.

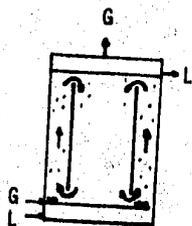
El reactor rectangular cumple el principio de separación por un "baffle" vertical de la zona de ascenso y descenso. Generalmente se instalan dos difusores paralelos al "baffle" uno cerca del "baffle" y otro cerca de la pared del reactor. El comportamiento dinámico del fluido es independiente del largo del reactor por lo que para el diseño sólo se toma en cuenta su altura y ancho.

En el "airlift" rectangular, la entrada de burbujas a la región descendente es mayor que en otros "airlift". Como la interfase gas-líquido es grande, las velocidades de transferencia de oxígeno también lo son. (Fig. 2.f.).

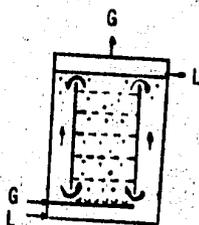
Circulación Interna



a. Flujo normal



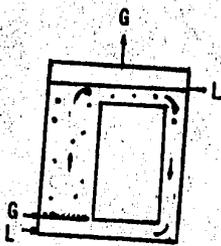
b. Flujo inverso



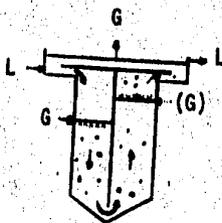
c. Con placas perforadas

Reactores de tubo "draft" concéntrico

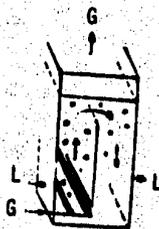
Circulación Externa



d. Tubular



e. Cilíndrico dividido "pozo profundo" ICI



f. Rectangular

Fig. 2. Fermentadores "Air-lift": (G, corriente gaseosa; L, corriente líquida)

C. Coeficiente de transferencia de oxígeno.

1. Resistencias que se oponen a la transferencia de oxígeno de las burbujas de aire a la superficie celular.

El oxígeno de las burbujas de aire que entran al fermentador, debe disolverse para poder transportarse a las enzimas respiratorias de las células. Para poder estudiar todo el proceso de transferencia se ha recurrido a establecer un mecanismo en el que se consideran resistencias individuales a la transferencia de oxígeno a través de películas estacionarias de fluido.

Según Reuss et al (1974) son:

- a. Difusión del centro de una burbuja gaseosa hasta la película gaseosa en la región interna de la burbuja.
- b. Difusión a través de la película gaseosa.
- c. Transición a través de la interfase gas-líquido.
- d. Difusión a través de la película líquida del lado de la fase líquida.
- e. Transporte a través del líquido hacia la membrana celular.
- f. Difusión a través de la película líquida que rodea a la membrana celular.
- g. Transporte a través de la membrana celular.
- h. Resistencias a la reacción dentro de la célula.

Dicho mecanismo se ilustra en las Figuras 3 y 4. (Faust, Sitting, 1980).

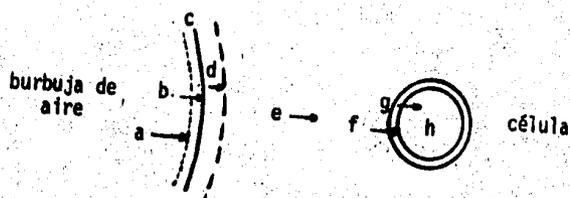


Fig. 3. Resistencias a la transferencia de O_2 desde la burbuja de aire a la célula.

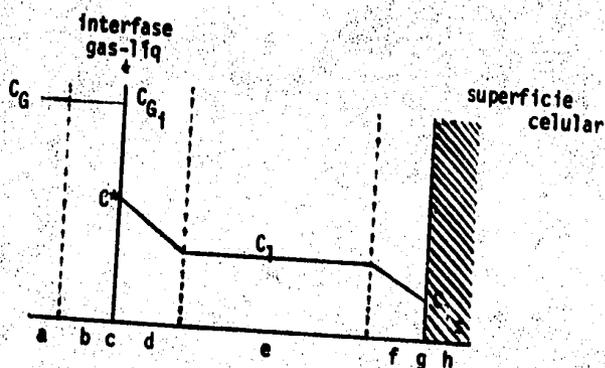


Fig. 4. Transferencia del O_2 del aire a la superficie celular según la teoría de película.

Durante el proceso de fermentación el oxígeno atraviesa la interfase gas-líquido que a pesar de estar sometida generalmente a condiciones turbulentas, presenta una película adyacente y delgada de fluido, en flujo laminar.

En esa película de fluido en reposo o en flujo laminar el mecanismo de transferencia de masa es la difusión molecular, que también está presente en última instancia en los remolinos característicos del flujo turbulento.

El mecanismo del proceso del flujo con remolinos en la región turbulenta no se halla totalmente comprendido. En cambio, el mecanismo de difusión molecular, por lo menos para gases, se conoce bastante bien ya que se le puede describir en términos de una teoría cinética dando resultados que concuerdan bien con la experiencia. Es natural, por lo tanto, describir la velocidad de transferencia de masa como una combinación de película laminar y zona de turbulencia.

Los coeficientes de transferencia de masa son los recursos empleados para tratar tales situaciones no bien comprendidas ya que incluyen una cierta cantidad de efectos que son el resultado de los procesos de difusión molecular y turbulento.

Según Blenke (1979):

- a. La difusión del centro de la burbuja gaseosa a la película gaseosa y
- b. La difusión a través de esta última,

pueden considerarse despreciables debido a la gran turbulencia que existe en la fase gaseosa.

$$C_G = C_{G_1} \quad (1)$$

- C_G = concentración del oxígeno en la fase gaseosa.
 C_{G_1} = concentración del oxígeno en la película gaseosa.

- c. Transición a través de la interfase gas-líquido.

La absorción de oxígeno a través de la interfase gas-líquido, puede describirse suponiendo un estado de equilibrio constante de acuerdo a la ley de Henry,

$$C^* = C_{G_1}/He = C_G/He \quad (2)$$

- C^* = concentración de oxígeno en la interfase gas-líquido.
 He = constante de Henry.

- d. Difusión a través de la película líquida del lado de la fase líquida.
- e. Transporte convectivo del O_2 a través del líquido, en el que C_1 se considera uniforme por la gran turbulencia que existe en el medio.

$$\dot{M}_{O_2} = -D_L A (dC/dx)_1 \quad \text{Primera Ley de Fick de la difusión.} \quad (3)$$

\dot{M}_{O_2} = flujo en masa de oxígeno (kg/seg)

D_L = difusividad de las moléculas gaseosas en el líquido (m^2/seg)

A = área interfacial gas-líquido (m^2)

C = concentración ($Kg/mol/m^3$ o Kg/m^3)

Para un gradiente lineal en la película líquida de espesor δ , como puede suponerse para difusión física pura y aproximadamente para la combinación y reacción química lenta, se considera una concentración media C^* a todo lo largo de la interfase gas-líquido lo que ocasiona una diferencia de concentraciones media:

$$\overline{\Delta C} = C^* - C_1 \quad (4)$$

El flujo en masa de acuerdo a (3) será,

$$\dot{M}_{O_2} = D_L A \overline{\Delta C} / \delta \quad (5)$$

δ = espesor de la película líquida

Considerando que

$$k_1 = D_L / \delta \quad (6)$$

k_1 = coeficiente de transferencia de masa (m/seg o m/h)

$$N_A = \dot{M}_{O_2} / V_L \quad (7)$$

N_A = velocidad de transferencia de oxígeno (Kg/m^3h)

V_L = volumen del líquido en un sistema gas-líquido (m^3)

$$a = A/V_L \quad (8)$$

a = área interfacial gas-líquido referida al líquido (1/m)

por lo que de (5),

$$N_A = k_1 a (C^* - C_1)_m$$

f. Difusión a través de la película líquida que rodea a la membrana celular.

La difusión del oxígeno de la película líquida de las células a la interfase líquido-sólido es parecida a la difusión de la película líquida a la interfase gas-líquido; sin embargo, de acuerdo a los conocimientos actuales debe despreciarse ya que la interfase líquido-sólido es 10^6 veces mayor que la interfase gas-líquido.

De acuerdo a estas condiciones, que son las que se han generalizado en el presente, la transferencia de oxígeno de las burbujas de aire a la superficie celular es prácticamente controlada por la difusión a través de la película líquida en la interfase gas-líquido.

Al realizar un balance de masa con respecto al O_2 disuelto en el medio de cultivo se obtiene:

$$dC_1/dt = k_1 a (C^* - C_1)_m - rX$$

dC_1/dt = velocidad de acumulación de oxígeno en el medio, mM_{O_2}/lh

$k_1 a$ = coeficiente de transferencia de masa, h^{-1}

C^* = concentración de oxígeno en la interfase gas-líquido, mM_{O_2}/l

C_1 = concentración de oxígeno disuelto en el medio, mM_{O_2}/l

r = velocidad específica de absorción de O_2 /unidad de masa celular, mM_{O_2}/gh

X = concentración de masa celular, g/l .

2. Medición del coeficiente de transferencia de oxígeno.

Para poder establecer el coeficiente de transferencia de oxígeno es necesario medir la cantidad de oxígeno disuelto en el medio. Para ello existen tres métodos principales:

- a. Método químico.
- b. Método de tubo.
- c. Método electroquímico.

Y algunos otros como: medidas manométricas y volumétricas basadas en la absorción de oxígeno por fósforo o pirogalol, quimiluminiscencia con luminol, aproximaciones físicas según las propiedades paramagnéticas del oxígeno molecular, y cromatografía de gases.

El procedimiento experimental y el manejo de los datos obtenidos a través de alguno de los métodos citados, se puede realizar según las condiciones experimentales y los fines prácticos del estudio utilizando cualquiera de las técnicas siguientes:

- d. Técnica de degaseo.
- e. Método del sulfito.
- f. Balance de oxígeno en el sistema.
- g. Método dinámico.

a. Método químico.

Se utiliza para llevar a cabo determinaciones absolutas del contenido de oxígeno en los líquidos y como referencia para los métodos directos de medición, especialmente para los no probados. Por ejemplo, el método de Winkler (Finn, 1967), consiste en agregar un exceso de una solución estándar de iones manganosos, para después retitular la porción no oxidada mediante un procedimiento yodométrico. La mayoría de las veces existen interferencias pero el método es útil en estudios de agua o de soluciones salinas. Otro ejemplo, es el método de la oxidasa del ácido ascórbico propuesto por Sharp et al (1941) en el que se eliminan muchas interferencias que existen en el medio de cultivo. Existen tres grandes desventajas del método químico de acuerdo a Vincent (1974):

1. Se requiere mucho tiempo y cuidado para el muestreo especialmente cuando la concentración de oxígeno es baja.
2. Se ve interferido por los solutos presentes en las aguas naturales (especialmente en las contaminadas) y en los cal dos de fermentación.
3. Los análisis químicos discretos, aún con sistemas automáti cos no son adecuados para obtener tiempos reales en control de retroalimentación, por ejemplo en aeración de aguas negras, escape de efluentes, agitación-aeración de un fermentador o adición de sustrato.

b. Método de tubo.

El método de tubo fué desarrollado originalmente por Phillips y Johnson (Dairako y Yamané, 1979), para medir el oxígeno disuelto en un caldo de fermentación. Esterilizaron el tubo de teflón de pared delgada de 40 pies de largo junto con el medio de cultivo en el fermentador. Durante la fermentación pasaron a través del tubo, una corriente lenta y conocida de nitrógeno puro o de otro gas libre de oxígeno. El oxígeno disuelto en el medio de fermentación difunde a través de las paredes del tubo acarreado por el nitrógeno. Para conocer la cantidad de oxígeno en el gas acarreador a la salida, se empleó un analizador paramagnético que permitió averiguar la actividad del oxígeno utilizando una curva de calibración. Ambos mencionan que este método está basado en el mismo principio del electrodo cubierto con membrana con la única diferencia en la forma de mantener baja la presión de oxígeno dentro de la membrana. La sensibilidad depende del área superficial del tubo sumergido, del espesor de la pared y de la velocidad de flujo del aire acarreador.

Más tarde Chen y Chin (Dairako y Yamané, 1979) presentaron estudios teóricos y experimentales de transferencia de masa en el sistema de tubo. La técnica fué aplicada también por Yagi y Yoshida (Dairako y Yamané, 1979) para medir el CO_2 disuelto en el caldo, utilizando un analizador infrarrojo de oxígeno como detector. En 1978 Yano et al (Dairako y Yamané, 1979) reportaron que se pueden analizar las concentraciones de metanol en caldos líquidos combinando el método de tubo con cromatografía de gases.

c. Método electroquímico.

- Técnica de muestreo.

Debe tenerse cuidado de proteger del aire la muestra proveniente del fermentador, ya que con su respiración activa se coloca directamente en la celda polarográfica. Cuando se logra que la disminución de oxígeno disuelto con el tiempo sea lineal, se hace una extrapolación gráfica al tiempo cero, es decir, el momento del muestreo. Se requieren manipulaciones rápidas y cuidadosas. El método podría fallar si la demanda de oxígeno del cultivo es muy alta.

Se han superado algunas de estas dificultades reciclando continuamente una porción del lote del fermentador a través de la celda polarográfica, que debe tener un diseño especial para evitar la contaminación. Lemp, (Finn, 1967).

- Electrodo sumergido en el fermentador.

Desde hace algunos años se han hecho grandes esfuerzos para desarrollar sistemas automáticos que proporcionen una lectura dinámica y continua del oxígeno disuelto en el medio de fermentación. El principio básico de la mayoría de los detectores de oxígeno es la reducción electroquímica del oxígeno no combinado a un potencial constante, utilizando la corriente como una medida de la cantidad de oxígeno involucrada, por unidad de tiempo.

La base de las mediciones polarográficas es la reducción del oxígeno en el electrodo negativo. El cátodo es un metal noble que se sumerge en el medio lo que ocasiona una contaminación superficial que no permite utilizarlo continuamente. Es por eso que surgió el electrodo de mercurio por goteo cuya superficie se renovaba continuamente y con el que se podía obtener información útil del oxígeno disuelto (o de otras especies iónicas) cuando se polarizaba a un potencial correcto o con el potencial proporcionado por el sistema.

Hixon et al (Vincent, 1974) utilizaron este sistema para muestras de cultivo filtrado y Bartholomew et al (Finn, 67) instalaron un electrodo de Hg por goteo en un fermentador. Gualandi et al (Finn, 67) emplearon un electrodo que consistía de un disco de plata amalgamada al que se le alimentaba lentamente mercurio. Tenía además, un disco giratorio aterciopelado que pulía continuamente la superficie. Su diseño era muy complicado, aunque su respuesta más rápida que la de otros métodos de medición de oxígeno.

Todos los métodos polarográficos directos se ven alterados por una cantidad apreciable de corriente residual, que fluye en ausencia de oxígeno. Es difícil calibrar los electrodos porque dicha corriente varía durante la fermentación y también varía la composición del medio.

- Electrodo cubiertos con una membrana.

En 1953 Leland Clark construyó un electrodo de platino para medir el oxígeno disuelto en sangre, que eliminaba muchas de las dificultades con respecto a la variación de la corriente residual y a la contaminación de la superficie del electrodo. (Finn, 1967).

El cátodo de platino humedecido con KCl lo cubrió con una película de polietileno. Debido a que el oxígeno difunde más lentamente a través de una película de plástico que a través de una película de líquido, la velocidad de su descarga eléctrica sólo dependerá de su paso a través del plástico. Así, con agitación moderadamente rápida la corriente polarográfica es independiente de las condiciones de flujo alrededor del electrodo. Las lecturas no se ven afectadas por el pH o por sustancias electroreducibles en el medio, excepto el SO_2 que puede atravesar la membrana. A continuación se muestra un esquema de los principales componentes del electrodo de Clark comercial. (Fig. 5).

Estos electrodos cubiertos con una membrana pueden clasificarse en: potenciométricos y amperométricos.

Los potenciométricos incluyen a los electrodos de referencia de calomel estándar, y al de AgCl/Ag , los electrodos de vidrio de pH y los selectivos de iones. El término potenciométrico implica que el potencial desarrollado en el electrodo es el que se relaciona a la concentración de las especies a las cuales responde el electrodo.

En los electrodos amperométricos o galvánicos la corriente más que

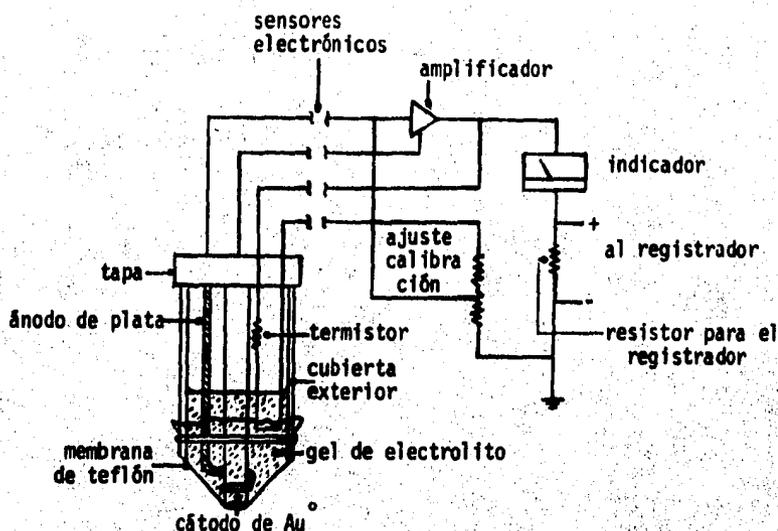


Fig. 5. Esquema de los principales componentes del electrodo de Clark. (comercial).

el potencial es el parámetro que relaciona la concentración. Los metales de los electrodos no son necesariamente metales nobles, los hay de plomo-plata y aluminio-platino. Una de las características más importantes de los electrodos galvánicos (polarizantes por sí mismos) es que la diferencia de potencial generada entre los dos metales es la adecuada para reducir el oxígeno y disolver la menor cantidad del metal noble. En los electrodos amperométricos las especies analizadas se consumen y en los potenciométricos no sucede así.

La señal que aparece en la carátula del aparato representa el flu-

jo de electrones que sale del electrodo que a su vez es función del flujo de moléculas de oxígeno a través de la membrana del electrodo (cuatro electrones por molécula de oxígeno).



Para que un electrodo amperométrico opere adecuadamente debe cumplir con dos condiciones: 1. El potencial aplicado al electrodo debe ser tal que sólo las especies bajo análisis reaccionen. El potencial debe ser suficientemente anódico o catódico para asegurar que todo el material que llegue a él reaccione, es decir, la concentración superficial de las especies debentenerse lo más cercano posible a cero. 2. El gradiente de concentración de las especies analizadas debe ocurrir dentro de una distancia fija de la superficie del electrodo. Bajo condiciones de agitación existe una película estacionaria hipotética de la solución llamada "película de difusión de Nernst", adyacente al electrodo. Se considera que el gradiente de concentración de oxígeno está contenido fundamentalmente en esta película estacionaria. Como su espesor es función de las condiciones de agitación, la medición será reproducible mientras se mantenga fija dicha condición.

Un electrodo polarográfico es aquel que requiere de la aplicación de un potencial para llegar al voltaje de operación deseado. Un electrodo galvánico requiere de la disminución del potencial.

Una medición de oxígeno disuelto se denomina indirecta porque se lleva a cabo en sistemas donde no se está efectuando una fermentación; los

valores obtenidos sólo indican un orden de magnitud y se emplean para hacer comparaciones entre diferentes reactores que operan en condiciones similares, dentro de este caso tenemos las dos técnicas siguientes:

d. Técnica de degaseo.

La palabra "degaseo" fué aplicada por Wise (1951) para medir los coeficientes de transferencia de oxígeno durante la reaeración de un caldo no inoculado que fué saturado con N_2 previamente. Después de iniciar la reaeración se mide el oxígeno disuelto a intervalos definidos, por muestreo o por un método electroquímico. El aumento en la concentración de oxígeno con el tiempo está dado por la ecuación

$$dC_1 / dt = k_1 a (C^* - C_1)$$

integrando entre dos límites $C_1 = f(t_1)$ y $C_0 = f(t_0)$

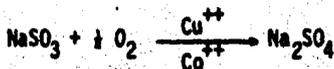
$$\ln \frac{C^* - C_1}{C^* - C_0} = -k_1 a (t_1 - t_0)$$

$$\text{a. } t_0 : C_0 = 0$$

$$\ln [1 - C_1(t)/C^*] = -k_1 a t$$

e. Método del sulfito.

Este método fué utilizado por Cooper et al (1944) para evaluar la transferencia de oxígeno en diferentes tipos de sistemas gas-líquido. Está basado en la oxidación del Na_2SO_3 a Na_2SO_4 en presencia de un catalizador (Cu^{++} o Co^{++}) de acuerdo a:



Según Reith y Beek (1973) la reacción del oxígeno con el Na_2SO_3 es de orden cero para el sulfito, de primer orden para el cobalto y de segundo orden para el oxígeno considerando los siguientes rangos:

$$\begin{aligned} 2 \times 10^4 \text{ N/m}^2 &< p_{\text{O}_2} < 10^5 \text{ N/m}^2 \\ 15^\circ\text{C} &< T < 60^\circ\text{C} \\ 3 \times 10^{-6} \text{ Kmol/m}^3 &< C_{\text{Co}^{++}} < 3 \times 10^{-3} \text{ Kmol/m}^3 \\ 0.4 \text{ Kmol/m}^3 &< C_{\text{SO}_3} < 0.8 \text{ Kmol/m}^3 \\ 7.5 &< \text{pH} < 8.5 \end{aligned}$$

N = newtons

p_{O_2} = presión parcial de O_2 en N/m^2

T = temperatura en $^\circ\text{C}$

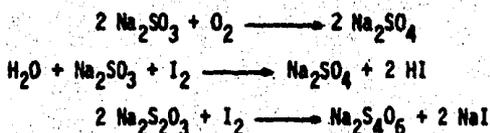
C = concentración en Kmol/m^3

Como las velocidades cinéticas para esta reacción son suficientemente rápidas la velocidad de oxidación es controlada sólo por la velocidad de transferencia de oxígeno a la solución.

A continuación se describen dos formas de llevar a cabo la técnica:

- Por titulación Yodométrica.

Se coloca en un fermentador una solución de NaSO_3 con Cu^{++} o Co^{++} como catalizadores; se ajusta el flujo de aire y la velocidad del impulsor y se empieza a tomar muestras periódicamente. Para prevenir la posterior oxidación de las muestras éstas deben guardarse en botellas llenas y perfectamente selladas. El sulfito no reaccionado de la muestra se pone en contacto con una solución conocida de yodo en exceso, el que se titula con una solución estándar de tiosulfato de sodio



Tomando en cuenta la estequiometría de las reacciones y el orden ce ro de la reacción entre el $\text{SO}_3^=$ y el O_2 :

$$k_1 a = \frac{N_A}{(C^* - C_1)} \quad \text{donde } C_1 = 0 \text{ y } k_1 a = N_A/C^*$$

- Medición en el transiente utilizando un electrodo de O_2 .

La técnica consiste en agitar y aerar el agua en el fermentador, según lo deseado, saturándola con O_2 . Agregar el Na_2SO_3 y el catalizador en solución para eliminar el oxígeno disuelto, a partir de este momento leer pe

rápidamente el % de oxígeno disuelto en el medio. (Fig. 6)

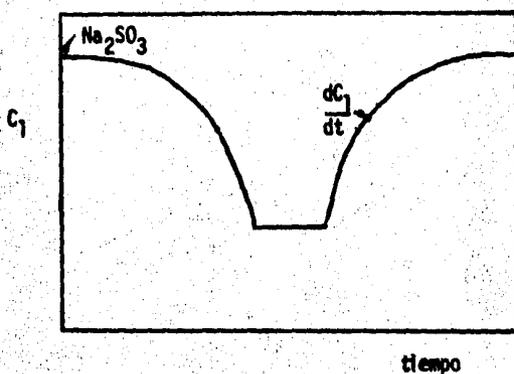


Fig. 6. Estimación del k_1a por el método del transiente. Curva típica de concentración de O_2 disuelto vs tiempo.

La ecuación de transferencia de O_2

$$dC_1/dt = k_1a (C^* - C_1)$$

Se arregla para obtener la ecuación de una recta

$$C_1 = -\frac{1}{k_1a} \frac{dC_1}{dt} + C^*$$

y de su pendiente conocer k_1a . (Fig. 7)

A pesar de que la técnica del sulfito es muy popular, tiene sus limitaciones. La más crítica es que se utiliza una reacción química para simular una fermentación real. Hay gran diferencia cualitativa y cuantitativa

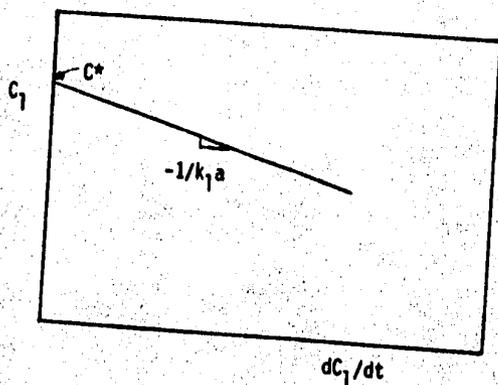


Fig. 7. Método de estimación del k_1a empleando la técnica del transiente.

entre los procesos difusionales involucrados en los dos sistemas. En el caso del sulfito la absorción del oxígeno se lleva a cabo en la región inmediata a la interfase gas-líquido, en cambio, cuando existen células hay que considerar el transporte de oxígeno a través del líquido y de la interfase líquido-sólido.

Como la medición directa se realiza en fermentaciones reales, tanto en lote como continuas, el valor obtenido es más representativo del sistema en cuestión, como sucede en las siguientes técnicas.

f. Balance de oxígeno en el sistema.

El balance de oxígeno en el fermentador es:

$$g_0 y_0 - g_1 y_1 - V r X = V dC/dt$$

g_0 = flujo de aire a la entrada

y_0 = fracción mol del O_2 en el aire a la entrada

g_1 = flujo de aire a la salida

y_1 = fracción mol del O_2 en el aire a la salida

V = volumen del fermentador.

r = velocidad específica de consumo de O_2 celular

X = concentración del microorganismo.

En el estado estacionario $dC/dt = 0$

De

$$dC_1/dt = k_1 a (C^* - C_1) - rX$$

$$k_1 a (C^* - C_1) = rX$$

y

$$g_0 y_0 - g_1 y_1 = V r X$$

combinando ambas

$$k_1 a = (g_0 y_0 - g_1 y_1) / [V (C^* - C_1)]_{prom}$$

Se denomina N_A o consumo de oxígeno

$$N_A = (g_0 y_0 - g_1 y_1) / V = g_0 (y_0 - y_1) / V$$

en general $g_0 = g_1$

Para la determinación de $k_1 a$ basta conocer N_A y el valor de C_1 medido por el electrodo. Pero cuando el fermentador es de gran escala es necesario calcular $(C^* - C_1)_{prom}$, pues la concentración de saturación de O_2 di-

suelto en el líquido en el fondo del tanque varía sustancialmente respecto a su concentración en la parte superior, debido a que durante el ascenso las burbujas ceden constantemente O_2 . De lo anterior se pueden derivar 2 criterios,

Fermentadores pequeños

$$k_1 a = N_A / (C^* - C_1)$$

Fermentadores a gran escala

$$k_1 a = \frac{N_A}{\frac{C_0^* - C_1^*}{\ln \frac{C_0^* - C_1}{C_1^* - C_1}}}$$

g. Método dinámico.

Fue desarrollado por Bandyopadhyay y Humphrey (1967). El método dinámico consiste en seguir la concentración de O_2 disuelto durante una breve interrupción de la aereación en un sistema fermentativo. Sólo se requiere de un electrodo que registre el oxígeno disuelto, de respuesta rápida y esterilizable.

Para una fermentación aeróbica típica en condiciones de estado estacionario

$$\begin{array}{l} \text{velocidad de} \\ \text{absorción de } O_2 \\ \text{oxígeno.} \end{array} = rX = \begin{array}{l} \text{velocidad de} \\ \text{transferencia} \\ \text{de oxígeno} \end{array} = k_1 a (C^* - C_1)$$

r = velocidad específica de absorción de oxígeno por unidad de masa celular.

X = concentración en masa de organismos fermentadores.

Cuando se interrumpe el aire

$$dC_1/dt = -rX$$

Esta condición no puede aplicarse inmediatamente después de que se interrumpe el aire porque las burbujas se tardan en salir del fermentador. En algunas ocasiones a altas velocidades de agitación existe aeración superficial que es necesario tomar en cuenta (en fermentadores menores de 200 l). Es posible minimizarla difundiendo N_2 en la superficie o bajando la velocidad de agitación durante el periodo de desgasado.

Durante el periodo de aeración

$$dC_1/dt = k_1a (C^* - C_1) - rX$$

r sólo es constante cuando la concentración de oxígeno disuelto está por arriba de la $C_{critica}$ biológica de O_2 . (Fig. 8).

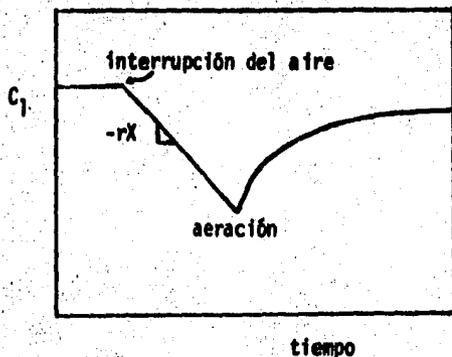


Fig. 8. Estimación del k_1a por la técnica dinámica. Curva típica de concentración de O_2 disuelto vs tiempo.

La ecuación durante el periodo de aeración puede reescribirse

$$C_1 = -1/k_1 a (dC_1/dt + rX) + C^*$$

de donde es posible calcular el $k_1 a$, (Fig. 9)

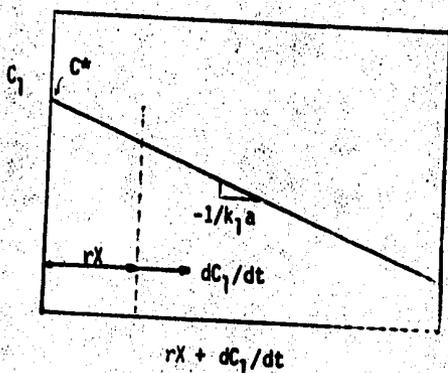


Fig. 9. Método de estimación del $k_1 a$ empleando la técnica dinámica.

Lo más importante del método radica en el hecho de que para determinar $k_1 a$ sólo se necesitan conocer C_1 y dC_1/dt . El método es muy consistente en sus resultados, además de que es rápido y fácil en su manejo. Aunque puede no ser útil para casos como los de caldos muy viscosos en los que las burbujas suben muy lentamente.

D. Patrones de flujo.

En los fermentadores "air-lift" las características del mezclado son muy importantes para su diseño y operación porque la velocidad de crecimiento máxima del microorganismo, o, especialmente la producción máxima de metabolitos requieren condiciones ambientales definidas.

Las características del mezclado se pueden analizar conociendo términos como: tiempo de mezclado y tiempo de circulación. Dichos parámetros pueden determinarse recurriendo a técnicas experimentales de estímulo-respuesta. Con este tipo de experimentación se estimula al sistema mediante una perturbación y se observa como responde a este estímulo; el análisis de la respuesta da la información deseada. El estímulo es una inyección del trazador en el fluido que entra al recipiente, mientras que la respuesta es una representación del trazador a la salida del recipiente, frente al tiempo. Puede usarse como trazador cualquier sustancia que se pueda detectar y que no perturbe el tipo de flujo en el recipiente, y cualquier tipo de señal de entrada: al azar, periódica, en escalón o un pulso.

El tiempo de mezclado es el tiempo requerido para alcanzar un grado definido de homogeneidad después de haber inyectado un pulso de un trazador al reactor.

El tiempo de circulación es el tiempo necesario para que una partícula del trazador inyectado recorra la trayectoria del líquido en el fer-

mentador y regrese al origen de la inyección.

En los reactores "air-lift" el mezclado sólo se ha estudiado para los cilíndricos y los tubulares encontrándose dos características, según Onken y Weiland (1983):

- a. El tiempo de mezclado disminuye al aumentar la velocidad de aeración.
- b. Se han observado dos comportamientos de mezclado: por encima de una determinada velocidad superficial crítica del gas, el mezclado mejora rápidamente, mientras que a velocidades mucho más altas el mezclado se vuelve menos eficiente.

E. Antecedentes.

En la patente de Stern y Gasner (1973) y en el artículo de Gasner (1974) referentes al fermentador "air-lift" rectangular, los autores señalan una serie de ventajas con respecto a los fermentadores convencionales:

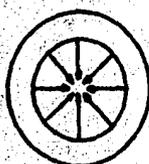
- No requiere partes móviles.
- La única fuente de potencia que se necesita comprar y dar mantenimiento es el compresor.
- El criterio de diseño es simple con lo que se reducen los costos de capital.
- Las velocidades de transferencia de oxígeno son altas a costos de potencia competitivos o menores comparados con los fermentadores agitados.

Y con respecto a los fermentadores cilíndricos o de tubo "draft":

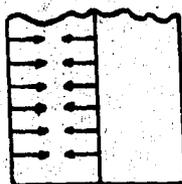
- Tiene un factor de funcionamiento de 19-21.5 $lb_{O_2}/HP-h$ a velocidades de transferencia de oxígeno de 60-100 mM_{O_2}/h , en cambio el fermentador "air-lift" cilíndrico lo tiene de 5-8 $lb_{O_2}/HP-h$ a las mismas velocidades.
- En el fermentador cilíndrico el factor de funcionamiento decrece al aumentar la velocidad de transferencia de masa en el punto en que el patrón de flujo cambia de flujo burbuja a flujo tapón. En el caso del "air-lift" rectangular se ha comprobado que el factor de funcionamiento disminuye menos a velocidades de transfe-

rencia de oxígeno altas.

- Para estudiar la coalescencia de las burbujas se consideró que éstas tienden a moverse hacia el centro de la sección ascendente. En el caso de los sistemas cilíndricos las burbujas forman un punto central al ascender, lo que propicia la coalescencia y el acanalamiento a velocidades superficiales bajas. En los sistemas rectangulares, las burbujas convergen en una línea. (Fig. 10). Empleando un modelo de migración de burbujas propuesto por Gasner se puede comprobar que es mayor el volumen de burbujas abajo del punto de convergencia en el caso del reactor cilíndrico por lo que aumenta la tendencia a la coalescencia. Es por eso que el reactor rectangular puede mantener mayor área interfacial y por lo tanto un mayor coeficiente de transferencia de oxígeno.



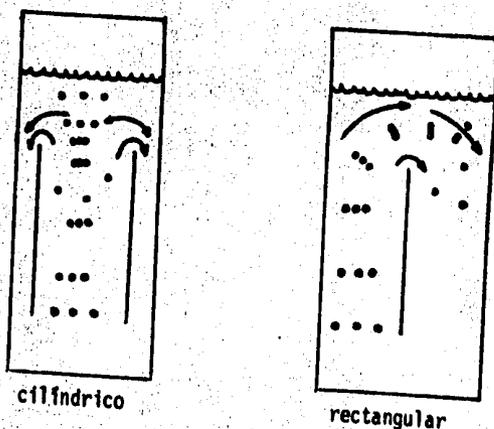
cilíndrico



rectangular

Fig. 10. Vista superior que muestra la convergencia de las burbujas en un sistema cilíndrico (un punto) y en uno rectangular (una línea).

- Es posible que la velocidad de transferencia de oxígeno aumente si la mayoría de las burbujas pasan de la zona ascendente a la descendente. En el sistema cilíndrico la corriente principal del líquido se separa en lo alto del tubo "draft" lo que ocasiona que más burbujas se liberen; en el caso del fermentador rectangular la corriente del líquido en lo alto del "baffle" cubre la nube de burbujas llevándolas a la región descendente, por lo que aumenta el área interfacial y la transferencia de oxígeno. (Fig. 11).



cilíndrico

rectangular

Fig. 11. Representación de la corriente líquida que permite a mayor número de burbujas pasar a la zona descendente en el caso del fermentador "airlift" rectangular, comparándolo con el cilíndrico.

- A continuación se muestran datos graficados del coeficiente de transferencia de masa en función de la potencia por unidad de volumen (Fig. 12) en donde se observa que el sistema rectangular es más eficiente que el cilíndrico y también datos del factor de funcionamiento contra la velocidad superficial del gas (Fig. 13):

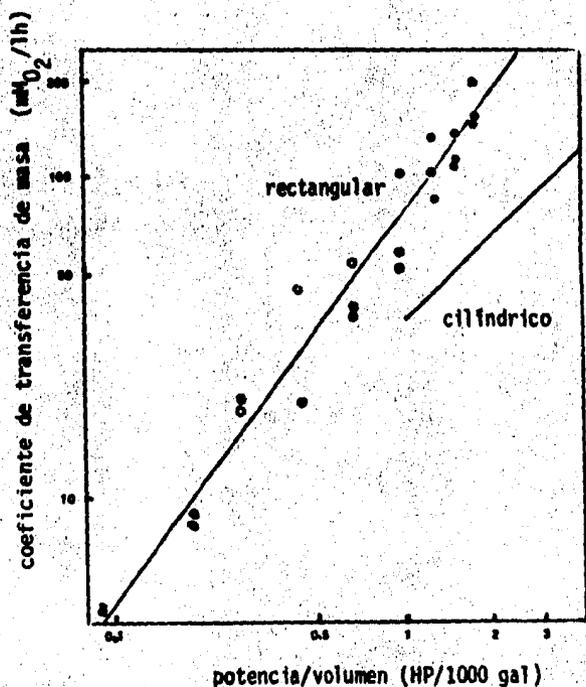


Fig. 12. Coeficiente de transferencia de masa en función de la potencia por unidad de volumen. (Gasner, 1973).

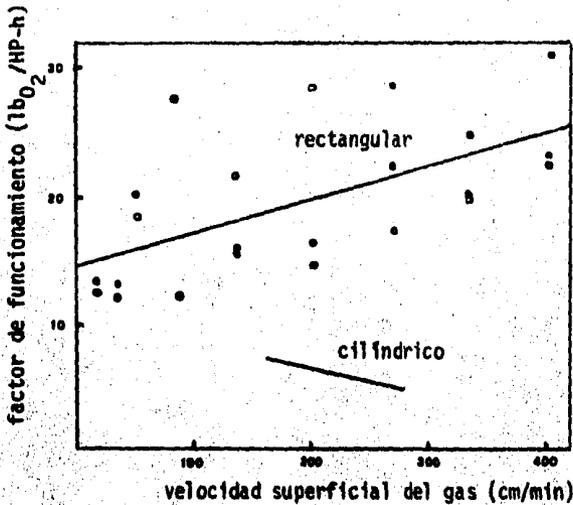


Fig. 13. Factor de funcionamiento en función de la velocidad superficial del gas. (Gasner, 1973).

Las consideraciones anteriores fueron las bases que llevaron a la construcción de un fermentador de este tipo en el Departamento de Biotecnología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, U.N.A.M.

El objetivo de la construcción del fermentador "air-lift" rectangular a nivel laboratorio es la producción de proteína unicelular a bajos costos de producción y con la posibilidad de llevar a cabo un escalamiento a nivel planta piloto.

Para lograr dicho objetivo se propuso inicialmente medir los coeficientes de transferencia de oxígeno por el método del sulfito, variando los

parámetros que pudieran afectarlo, para encontrar la configuración geométrica óptima del fermentador.

La primera variable que se estudió fué el diámetro de orificio del difusor, probándose tres: $1/16"$, $1/32"$ y $3/64"$, de los cuales se consideró más adecuado el de $3/64"$.

Hasta ese momento faltaban por optimizar otras variables por el método del sulfito, llevar a cabo el método dinámico para obtener un coeficiente de transferencia de oxígeno más real y estudiar el patrón de flujo presente en el fermentador, es por eso que se propone como objetivo en el presente trabajo:

F. Objetivo.

Estudiar los coeficientes de transferencia de oxígeno en un fermentador "air-lift" rectangular.

Metas específicas.

- Determinar el $k_L a$ por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador: ascendente, cabeza y descendente.
- Optimizar la configuración geométrica utilizando el método del sulfito en base a,
 - + la altura de la placa y del difusor con respecto al fondo del fermentador.
 - + la altura del difusor con respecto al fondo del fermentador dejando fija la placa en la altura óptima encontrada en el punto anterior.
 - + el tamaño de la placa.
 - + la relación área ascenso/área descenso = a_a/a_d .
- Emplear el método dinámico para obtener el $k_L a$ en condiciones más reales de acuerdo a la configuración óptima encontrada.
- Estudiar el patrón de flujo del fermentador, determinando aproximadamente el tiempo de mezclado y el de circulación con el método experimental de estímulo-respuesta.

III. METODO EXPERIMENTAL.

A. Fermentador.

Es un recipiente con área transversal rectangular, de aproximadamente 20 litros de capacidad. Sus dimensiones son: ancho 13 cm, largo 19.5 cm y alto 78 cm. (Fig. 14). El fondo es de forma acanalada con entradas pa

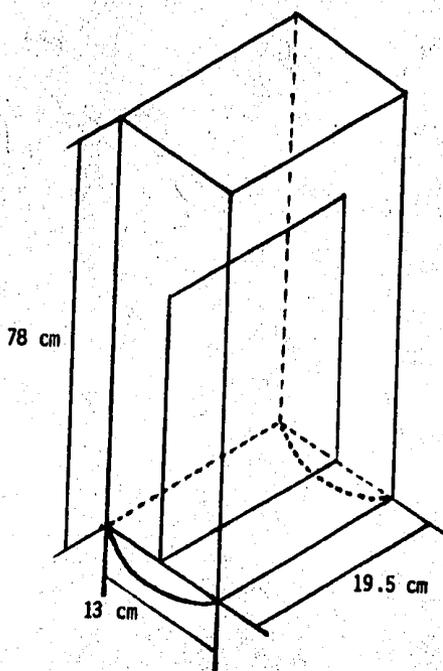


Fig. 14. Esquema representativo de las dimensiones del fermentador empleado.

ra la rejilla intercambiadora de calor y el difusor de aire, y con salidas de líquido y toma de muestra. La tapa del fermentador tiene conexiones de carga para la alimentación de ácido, álcali, antiespumante, nutrientes, una toma larga de muestra y perforaciones para electrodos de pH y tres para electrodos de oxígeno disuelto en las tres regiones del fermentador (ascendente, cabeza, descendente), además de dos termopozos.

Las paredes del fermentador están construídas de policarbonato (Lexán) sujetas por ángulos y varillas de acero.

El fondo del fermentador es de acero inoxidable de 3/16". La rejilla intercambiadora de calor está formada por cinco tubos de acero inoxidable de 3/8", colocados en paralelo a lo largo de la base del fermentador, para suministrarles vapor o agua de enfriamiento.

El difusor consta de dos varillas unidas por otra en su centro, formando una "H"; el tubo por el que se introduce el aire está sujeto a la base del fermentador por una tuerca unión en la región ascendente, que permite variar la altura. Los brazos de la "H" que forman el difusor tienen 40 orificios de 3/64" de diámetro.

Inicialmente el difusor se había construído con 30 orificios de 1/16" y el diámetro del tubo de difusión de aire a la entrada de 0.177 pul con lo que sólo se podían obtener 2 VVM (volumen de aire/volumen de medio/min) = 1.0594 pie³/min según los cálculos:

$$A_{\text{orificios}} = \pi/4 (1/16")^2 \times 30 = 0.092 \text{ pul}^2$$

$$A_{\text{tubo}} = \pi/4 (0.177")^2 = 0.0246 \text{ pul}^2$$

A = área

$D_1 = 0.177 \text{ pul}$ acero inoxidable $< D_{\text{nominal}}$ de 1/8" cédula 40

Según Crane con $D_n = 1/8"$ cédula 40 sólo se pueden obtener flujos de aire de máximo $1.282 \text{ pie}^3/\text{min} = 2.420 \text{ VVM}$.

Es por eso que se decidió construir tres nuevos difusores de tres anchos entre los brazos: 9.185 cm, 5.255 cm y 2.87 cm, con las medidas especificadas y de acuerdo a los estudios realizados, para que según los siguientes cálculos se pudieran obtener por lo menos 5 VVM con el fin de lograr un rango más amplio al variar el flujo de aire en los experimentos a realizar.

$$A_{\text{orificios}} = \pi/4 (3/64")^2 \times 40 = 0.0690 \text{ pul}^2$$

$$A_{\text{tubo}} = \pi/4 (0.2814")^2 = 0.0622 \text{ pul}^2$$

$D_{\text{tubo}} = 0.2814" \approx D_{\text{nominal}}$ de 1/4" cédula 40 con el que se pueden obtener flujos de aire de $6.048 \text{ VVM} = 3.204 \text{ pie}^3/\text{min}$.

La placa que divide el flujo en ascendente y descendente es plana, de acero inoxidable de 1/16" paralela a las paredes laterales del fermentador. Las paredes anterior y posterior poseen tres ranuras verticales que permiten elevar la placa con respecto al fondo y variar la relación a_a/a_d = áreas de ascenso/área de descenso), a 0.333, 1 y 3, para lo cual se usan los difusores de los siguientes anchos: 2.87 cm, 5.255 cm. y 9.185 cm. Además existen dos placas de diferentes dimensiones: 19.5 cm x 39 cm y 19.5 cm x

49 cm.

A continuación se presenta un esquema del aparato, mostrando las condiciones necesarias para la alimentación de vapor, agua y aire. (Fig. 15).

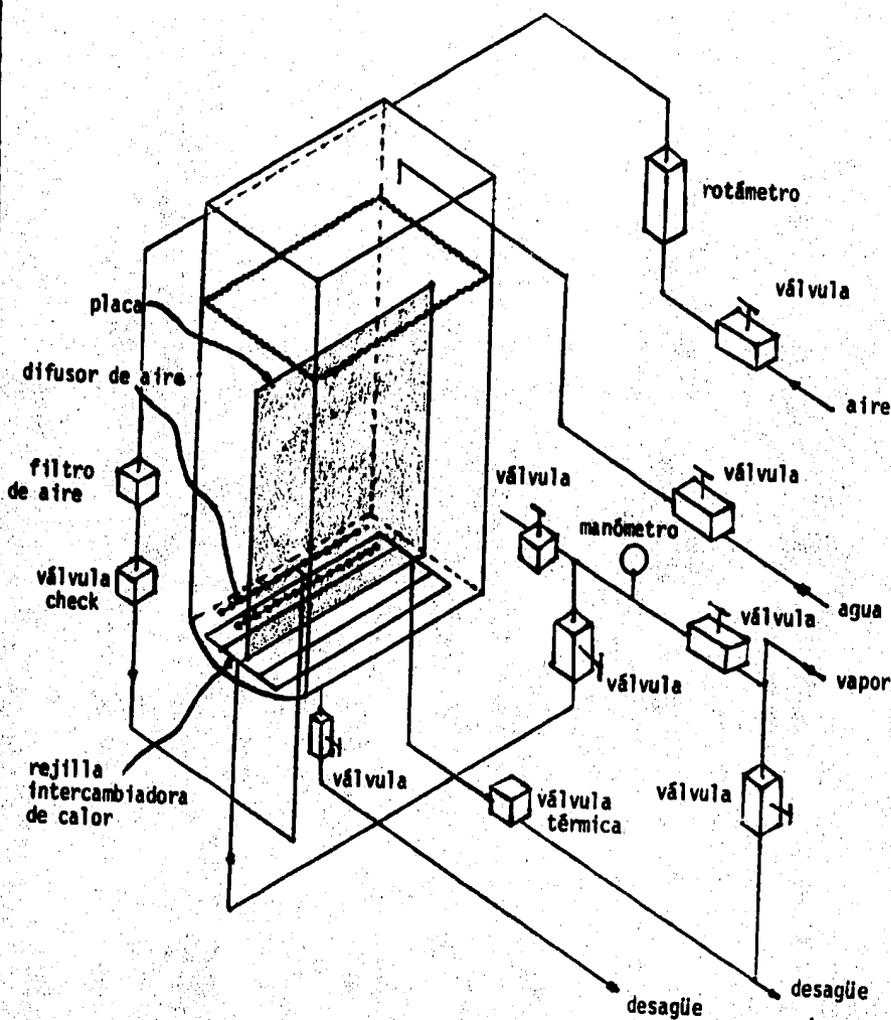


Fig. 15. Esquema del fermentador "airlift" rectangular que muestra las conexiones de vapor, agua y aire necesarias.

B. Determinaciones por el método del sulfito.

Todos los experimentos realizados se llevaron a cabo con Na_2SO_3 a una concentración de 0.75 g/l para un volumen de trabajo de 15 l y con 1 ml de CoCl_2 1 N como catalizador. La temperatura del agua se mantuvo constante a 30°C.

Se probaron flujos de aire de 0.5, 1, 2, 3, 4 y 5 VVM que equivalen en el sistema a velocidades superficiales de aire de 59.17, 118.34, 236.68, 355.02, 473.36 y 591.71 cm/min, calculadas como: $v_s = Q/A$. $v_s =$ velocidad superficial del aire, cm/min. $Q =$ velocidad volumétrica del aire, cm^3/min . $A =$ área transversal del fermentador, cm^2 .

El procedimiento seguido fué:

- Estabilizar el sistema al flujo de aire deseado, a 30°C y a 100% de oxígeno disuelto registrado en un analizador de oxígeno disuelto conectado a un electrodo de membrana galvánico.
- Añadir al fermentador el Na_2SO_3 y el CoCl_2 disueltos en aproximadamente 100 ml de agua.
- Después de que el analizador marca 0-10% y aumenta el % de oxígeno disuelto, iniciar las lecturas cada 10 segundos hasta que la velocidad de transferencia de oxígeno se pueda considerar constante.

Cada una de las corridas se hicieron por triplicado. En la región ascendente y descendente el electrodo se colocó a una altura de 24 cm y en la cabeza a 58 cm con respecto al fondo del fermentador.

Para evitar que las burbujas se adhirieran a la membrana del electrodo, sobretodo en flujos bajos, se le colocó una malla de plástico a su alrededor.

Con el fin de obtener un $k_1 a$ promedio y representativo de las tres regiones del fermentador se consideraron los volúmenes de cada una de ellas llegándose a establecer que para la relación:

$$a_a/a_d = 1 \quad \overline{k_1 a} = 0.4 k_{1a}^{asc} + 0.2 k_{1a}^{cabeza} + 0.4 k_{1a}^{desc}$$

$$a_a/a_d = 0.333 \quad \overline{k_1 a} = 0.27 k_{1a}^{asc} + 0.2 k_{1a}^{cabeza} + 0.53 k_{1a}^{desc}$$

$$a_a/a_d = 3 \quad \overline{k_1 a} = 0.53 k_{1a}^{asc} + 0.2 k_{1a}^{cabeza} + 0.27 k_{1a}^{desc}$$

Las posiciones del electrodo, la colocación de la malla y la forma de calcular el $k_1 a$ promedio se aplican a todos los experimentos posteriores.

C. Determinaciones por el método dinámico.

Para proceder en el estudio se requirió de un medio de cultivo y un microorganismo (levadura de panificación en marqueta, marca "La Florida").

Medio de cultivo:

1 g/l KH_2PO_4

1 g/l K_2HPO_4

0.1 g/l MgSO_4

3 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

1 g/l NaCl

1 g/l extracto de levadura

10 g/l glucosa

antiespumante al 10%

pH = 5.2

Se inoculó directamente la levadura de panificación en tres diferentes concentraciones: 1 g/l, 3 g/l y 5 g/l.

Con el fin de conocer la duración de la fase lag y de la fase log, para llevar a cabo las mediciones de k_{1a} en este último período, se corrió una curva de crecimiento (Fig. 16) tomándose muestras de 1 ml de líquido del medio cada hora; centrifugándolas y lavándolas dos veces para después aforarlas a 10 ml y leer en el espectrofotómetro a 540 nm la densidad óptica que interpolada en la curva patrón de DO (densidad óptica) vs concentración de

levadura dió la concentración de células en cada tiempo.

La curva patrón de DO vs concentración de levadura se realizó a partir de una solución de 1 g/100 ml de la que se tomaron alícuotas de 1-15 ml y se aforaron a 100 ml. Después de leer su absorbancia en el espectrofotómetro, se filtraron empleando el sistema milipore cuya membrana (0.45 micras), se taró previamente. Las membranas ya con las células se secaron al vacío en una estufa a 60°C hasta peso constante. De la diferencia de pesos y el volumen filtrado se obtuvo la curva de absorbancia vs mg/ml de levadura. (Fig. 17).

Para llevar a cabo la medición del k_1a se inoculó el medio de cultivo cuando los electrodos registraron 100% de saturación y el termómetro 30°C. Se colocaron dos electrodos con malla, uno en la región descendente y otro en la cabeza, debido a que según los datos obtenidos al realizar el método del sulfito los valores para la región ascendente y cabeza fueron similares.

Después de dos horas de crecimiento se iniciaron las mediciones de k_1a empezando con 1 VVM y terminando con 5. En todos los casos al cambiar el flujo de aire y para cada corrida realizada por triplicado fué necesario recalibrar la aguja del analizador de oxígeno disuelto en 100% para que al desgasear y después aerar, el rango de medición de la velocidad de transferencia de oxígeno fuera accesible; ya que conforme pasaba el tiempo de fermentación la concentración de oxígeno disuelto disminuía al aumentar la concentración celular.

Sólo fué posible determinar el k_1a en la fase de aeración tomando lecturas de % de oxígeno disuelto cada 10 seg, ya que en el desgaseo el consumo de aire se vió afectado por la falta de un sistema de agitación. Con las lecturas de % de de oxígeno disuelto y tiempo, se calculó el k_1a empleando el programa que se muestra a continuación, tanto para los datos del método dinámico como para los del método del sulfito. A partir de dichos k_1a se obtuvieron los k_1a promedio correspondientes.

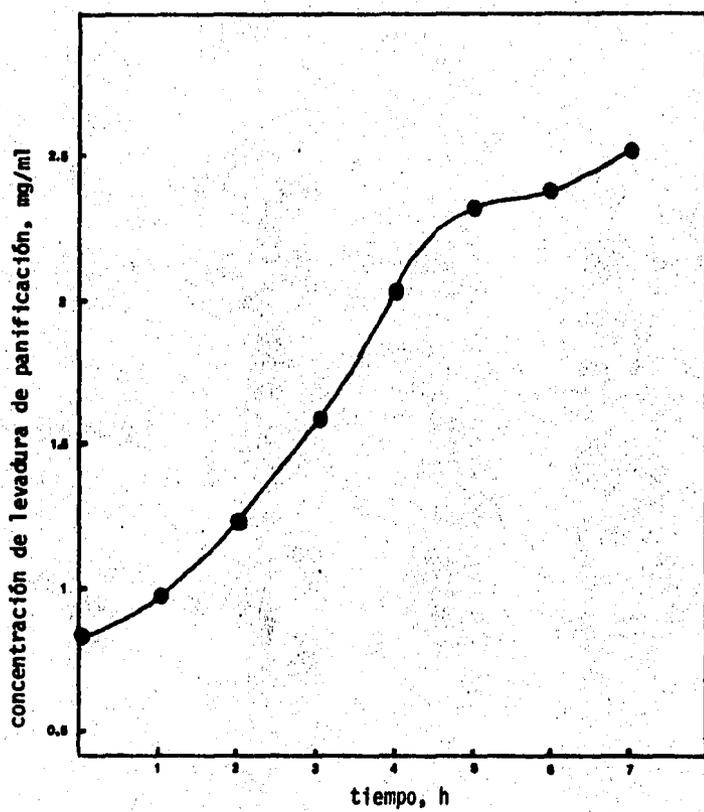


Fig. 16. Curva de crecimiento para levadura de panificación, inóculo 3 g/l.

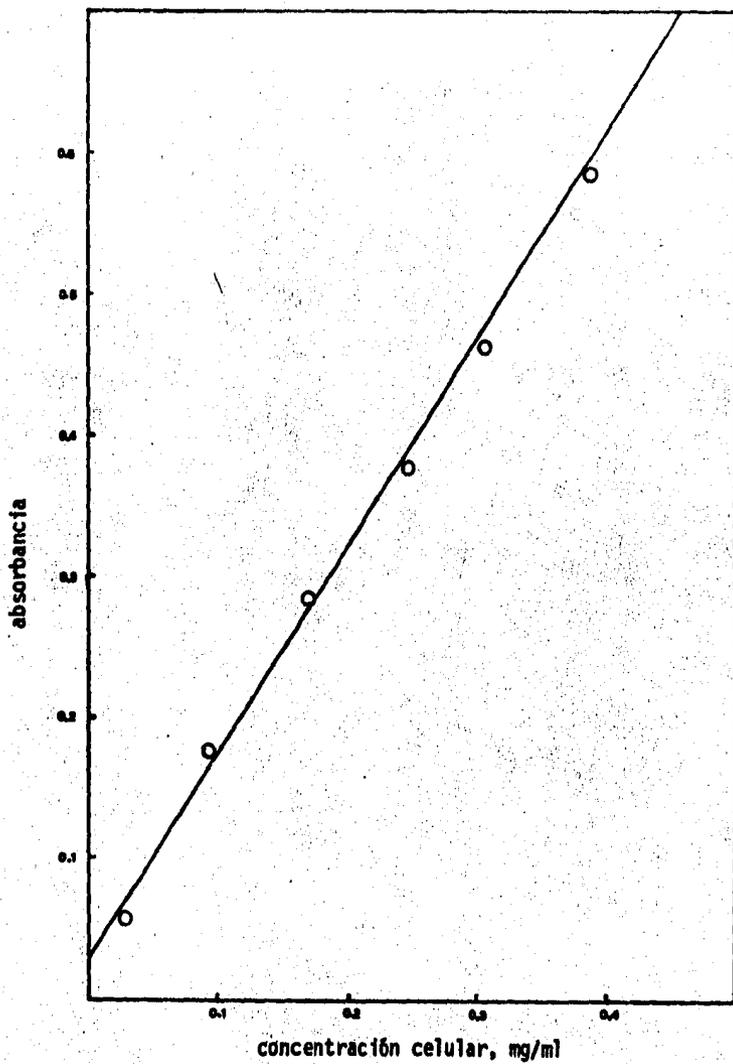


Fig. 17. Curva patrón para levadura de panificación.

Programa para calcular coeficientes de transferencia de oxígeno, en h^{-1} .

Condiciones:

- Computadora HP-85, lenguaje BASIC.
- Emplear datos de % de oxígeno disuelto y de tiempo en segundos, en la región transiente de la curva que relaciona C_1 vs t (C_1 = concentración de oxígeno disuelto y t = tiempo).

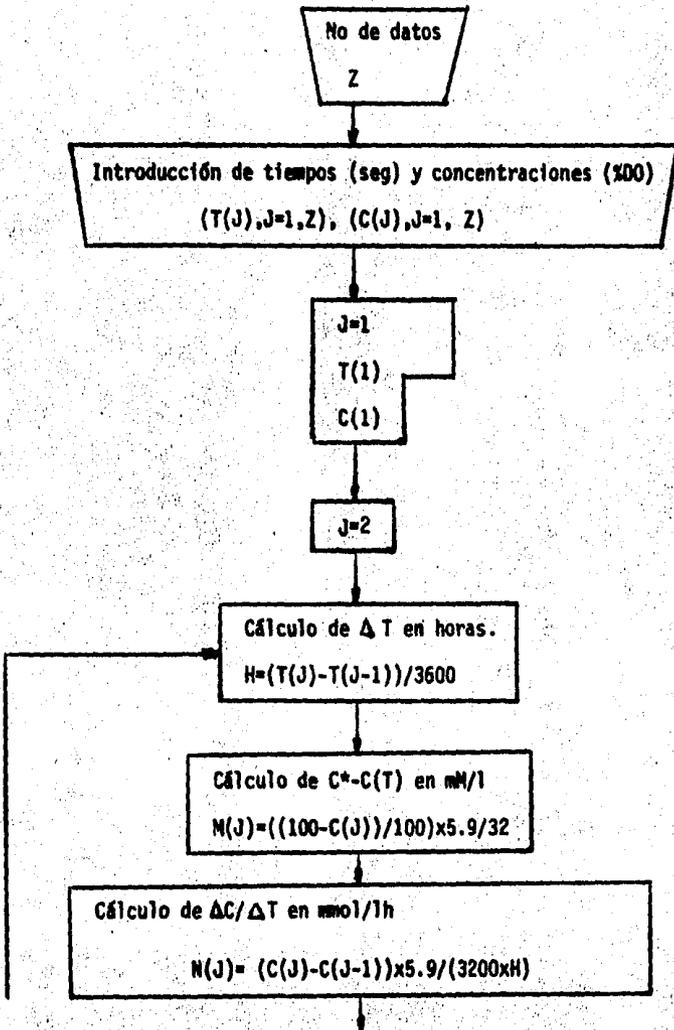
```

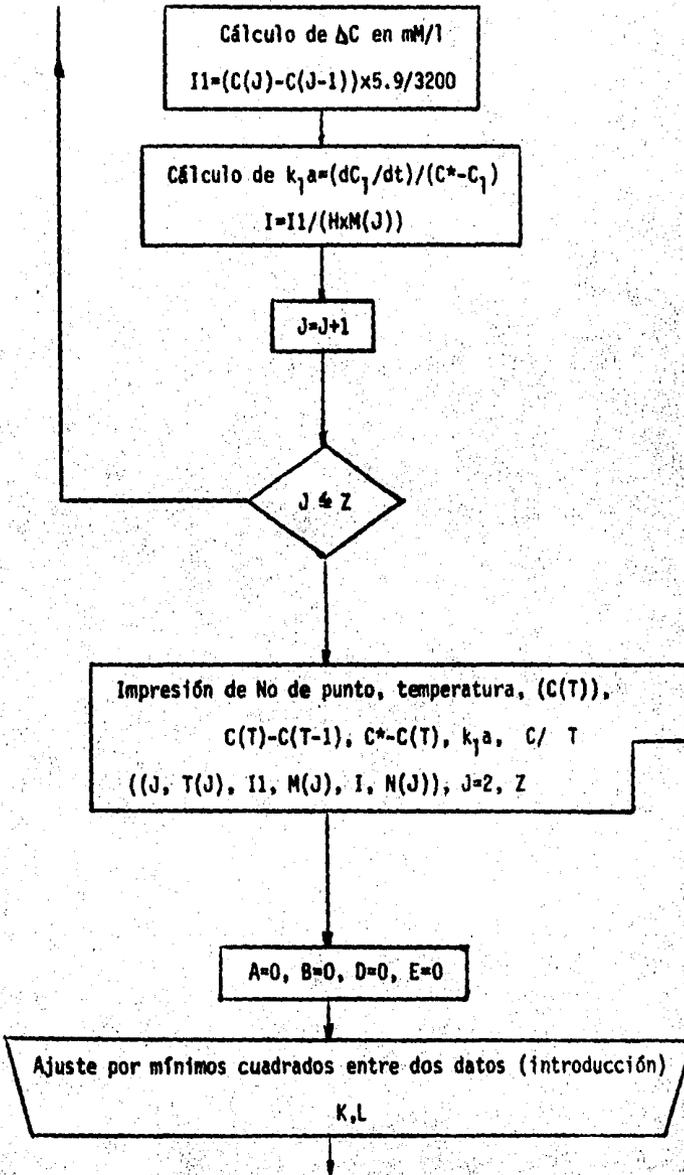
10 DIM T(50), C(50), I(50), M(50), N(50), Q(2)
20 DISP "NO. DE DATOS"
30 INPUT Z
40 FOR J=1 TO Z
50 DISP "TIEMPO(%;J;"), CONC."
60 INPUT T(J), C(J)
70 NEXT J
80 DISP "NO. T C(T) C(T)-C(T-1) C*-C(T) KLA D"
110 DISP "1.0000 "; T(1); " "; C(1)
120 FOR J=2 TO Z
130 H = (T(J)-T(J-1))/3600
140 M(J) = ((100-C(J))/100)x5.9/32
150 N(J) = (C(J)-C(J-1))x5.9/(3200xH)
155 I1 = (C(J) - C(J-1))x5.9/3200
156 I = I1/(HxM(J))

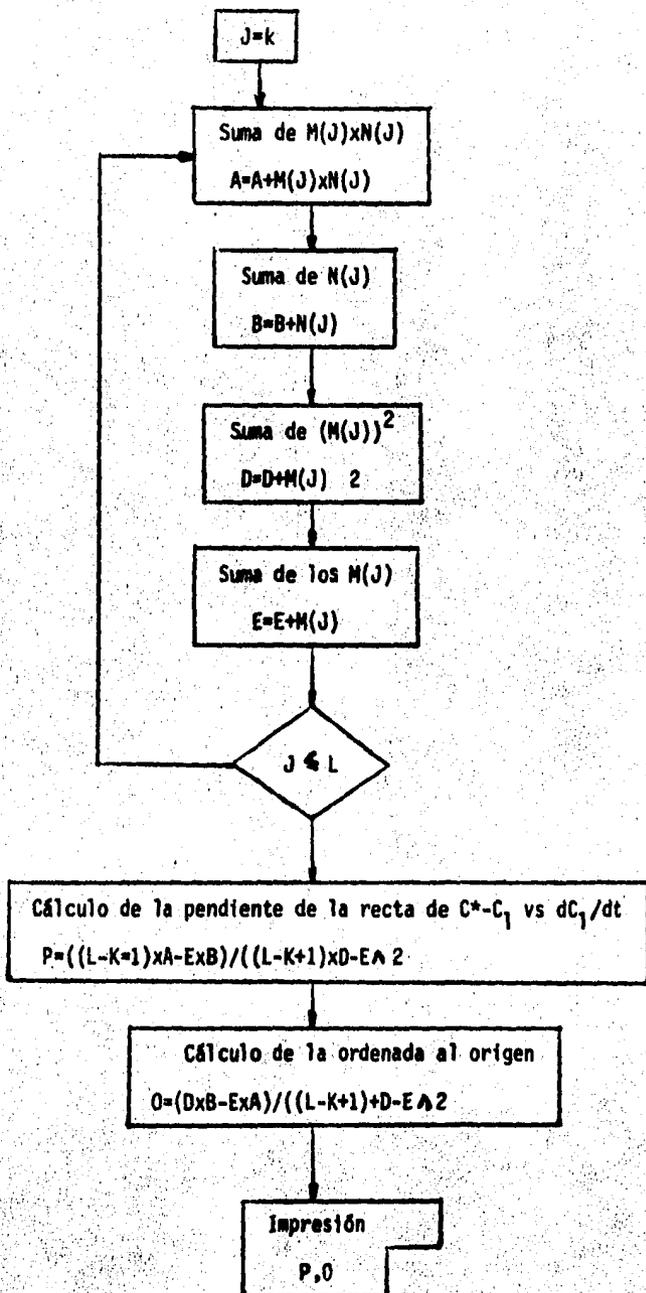
```

```
160 DISP J; T(J); C(J); I1; M(J); I; N(J)
170 NEXT J
240 A = 0
241 B = 0
242 D = 0
243 E = 0
245 DISP "AJUSTE DEL DATO NO. AL NO."
246 INPUT K, L
250 FOR J = K TO L
260 A = A + M(J) x N(J)
270 B = B + N(J)
280 D = D + M(J) 2
290 E = E + M(J)
300 NEXT J
310 P = ((L-K+1)xA-ExB)/((L-K+1)xD-EA 2)
320 Q = (DxB-ExA)/((L-K+1)+D-EA 2)
340 DISP "ORDENADA EN EL ORG. = "; Q; " PENDIENTE = "; P; " DEL DATO"; L;
    "AL";K
365 DISP "SE DESEA OTRO AJUSTE = 1"
366 INPUT Q
367 IF Q = 1 then 240
380 END
```

Diagrama de Flujo.







D. Determinación de los patrones de flujo del fermentador.

El método experimental de estímulo-respuesta usado para conocer el tiempo de mezclado y el tiempo de circulación fué el del trazador colorido: azul de Bromo-fenol.

El azul de Br-fenol se caracteriza porque a pequeñas concentraciones da un color oscuro que puede leerse fácilmente en el espectrofotómetro a 592 nm, además de ser muy estable a la luz y de no sufrir oxidación con el aire.

La concentración usada fué de 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, inyectándose 5 ml con 0.075 g de colorante para cada corrida realizada. Después de inyectar el colorante se tomaron muestras cada segundo de aproximadamente 10 ml durante 17 segundos, haciendo las pruebas por triplicado.

Para poder graficar $\mu\text{g}/\text{ml}$ de trazador vs tiempo fué necesario construir una curva patrón de densidad óptica vs concentración del colorante a partir de una solución de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. (Fig. 18).

El tiempo de mezclado se consideró como el punto en que la concentración del colorante permaneció constante y el tiempo de circulación, el tiempo aproximado entre dos cimas o dos valles consecutivos. Se trabajaron flujos de aire de 1-5 VVM.

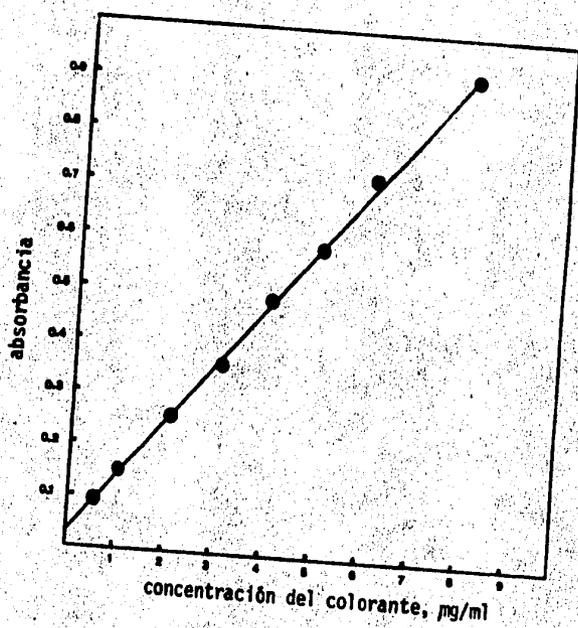


Fig. 18. Curva patrón para azul de Br-fenol.

IV. RESULTADOS.

A continuación se presentan tablas y gráficas que muestran los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos llevados a cabo.

A. Determinación del k_1a por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire.

Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 4 cm del fondo del fermentador.

Difusor a 4 cm del fondo del fermentador.

Relación $a_a/a_d = 1$.

En la Tabla 1 y en la Fig. 19 se muestran los resultados de la determinación del k_1a en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire con el fin de averiguar si existía diferencia real entre ellas. Como puede observarse resultó mínima en el caso de la región ascendente y cabeza y no así en la descendente. Es por esto que se decidió continuar los experimentos midiendo el k_1a en cada una de las regiones del fermentador. Las condiciones de: placa colocada junto con el difusor a 4 cm del fondo del fermentador y con una relación $a_a/a_d = 1$ están basadas en el trabajo experimental de Stern y Gasner (1973) escogidas para tener un marco de referencia al optimizar.

v_s cm/min	Región del fermentador	$k_1 a$ h^{-1}	$\bar{k}_1 a$ h^{-1}
59.17	ascendente	35.85	30.15
	cabeza	37.47	
	descendente	20.81	
118.34	ascendente	85.46	60.25
	cabeza	74.90	
	descendente	27.73	
236.68	ascendente	137.34	98.53
	cabeza	102.83	
	descendente	57.57	
355.02	ascendente	167.08	140.34
	cabeza	162.46	
	descendente	102.54	
473.36	ascendente	202.86	176.60
	cabeza	227.80	
	descendente	124.74	
591.71	ascendente	242.68	172.34
	cabeza	210.17	
	descendente	83.10	

Tabla 1. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 4 cm del fondo del fermentador. Difusor a 4 cm del fondo del fermentador. Relación área ascenso/área descenso = 1.

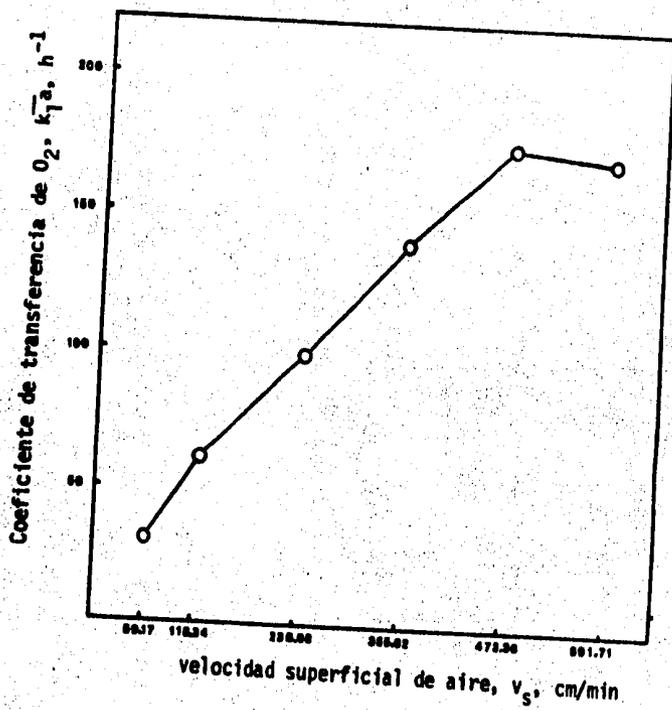


Fig. 19. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm, colocada a 4 cm del fondo del fermentador, al igual que el difusor. Relación $a_a/a_d = 1$.

B. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito variando la altura de la placa y del difusor con respecto al fondo del fermentador.

Placa de 19.5 cm x 49 cm.

Relación $a_g/a_d = 1$.

En la Tabla 2 y Figura 20 se analizaron tres posiciones de la placa y el difusor 4, 6 y 8 cm con respecto al fondo del fermentador.

Como puede observarse hay un pequeño aumento del $k_1 a$ cuando la placa y el difusor se encuentran a 6 cm, es por ello que se colocó la placa a dicha altura para proseguir la optimización.

Altura de la placa y difusor. cm	v_s cm/min	Región del fermentador	$k_1 a$ h^{-1}	$\overline{k_1 a}$ h^{-1}
4	118.34	ascendente	85.46	60.25
		cabeza	74.90	
		descendente	27.73	
	236.68	ascendente	137.34	98.53
		cabeza	102.83	
		descendente	57.57	
	355.02	ascendente	167.08	140.34
		cabeza	162.46	
		descendente	102.54	
	591.71	ascendente	242.68	172.34
		cabeza	210.17	
		descendente	83.10	
6	118.34	ascendente	64.52	47.67
		cabeza	57.92	
		descendente	25.71	
	236.68	ascendente	106.84	122.86
		cabeza	108.68	
		descendente	145.98	
	355.02	ascendente	135.11	147.25
		cabeza	140.98	
		descendente	162.54	
	591.71	ascendente	209.04	175.39
		cabeza	210.17	
		descendente	124.36	
8	118.34	ascendente	59.78	48.50
		cabeza	56.50	
		descendente	33.22	
	236.68	ascendente	99.85	102.60
		cabeza	101.38	
		descendente	105.98	
	355.02	ascendente	129.08	138.74
		cabeza	122.58	
		descendente	156.49	
	591.71	ascendente	208.66	187.02
		cabeza	204.10	
		descendente	156.85	

Tabla 2. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito variando la altura de la placa y el difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm. Relación $a_g/a_d = 1$. A diferentes velocidades superficiales de aire.

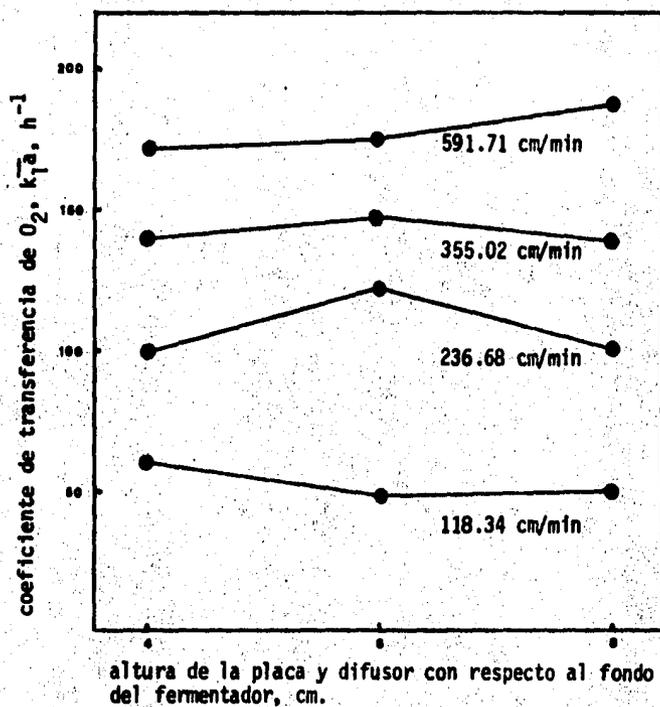


Fig. 20. Determinación del k_1a por el método del sulfito variando la altura de la placa y el difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm. Relación $a_g/a_d = 1$. A diferentes velocidades superficiales de aire.

C. Determinación del k_1a por el método del sulfito variando la altura del difusor con respecto al fondo del fermentador.

Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador.

Relación de $a_g/a_d = 1$.

En los resultados mostrados en la Tabla 3 y en la Figura 21 ya estaba fija la placa a 6 cm, faltando por conocer la posición del difusor. Para lograrlo se colocó el difusor a 4 alturas diferentes 6, 9, 12 y 22 cm, de mostrándose que la altura ideal en la que el k_1a es mayor fué la de 9 cm.

Altura del - difusor con- respecto al- fondo, cm.	v_s cm/min	Región del fermentador	$k_1 a$ h^{-1}	$\bar{k}_1 a$ h^{-1}
6	118.34	ascendente	64.52	47.67
		cabeza	57.92	
		descendente	25.71	
	355.02	ascendente	135.11	125.04
		cabeza	140.98	
		descendente	107.02	
	591.71	ascendente	209.04	175.39
		cabeza	210.17	
		descendente	124.36	
9	118.34	ascendente	87.20	49.82
		cabeza	84.64	
		descendente	36.90	
	355.02	ascendente	164.43	132.80
		cabeza	164.43	
		descendente	85.36	
	591.71	ascendente	216.57	182.94
		cabeza	219.24	
		descendente	131.17	
12	118.34	ascendente	82.15	62.44
		cabeza	83.52	
		descendente	31.85	
	355.02	ascendente	139.32	125.38
		cabeza	160.65	
		descendente	93.82	
	591.71	ascendente	213.58	178.01
		cabeza	218.11	
		descendente	122.40	
22	118.34	ascendente	64.14	54.98
		cabeza	63.78	
		descendente	41.43	
	355.02	ascendente	154.23	109.22
		cabeza	132.48	
		descendente	52.58	
	591.71	ascendente	158.76	146.30
		cabeza	186.55	
		descendente	113.72	

Tabla 3. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito variando la altura del difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Relación $a_0/a_d = 1$. A diferentes velocidades superficiales de aire.

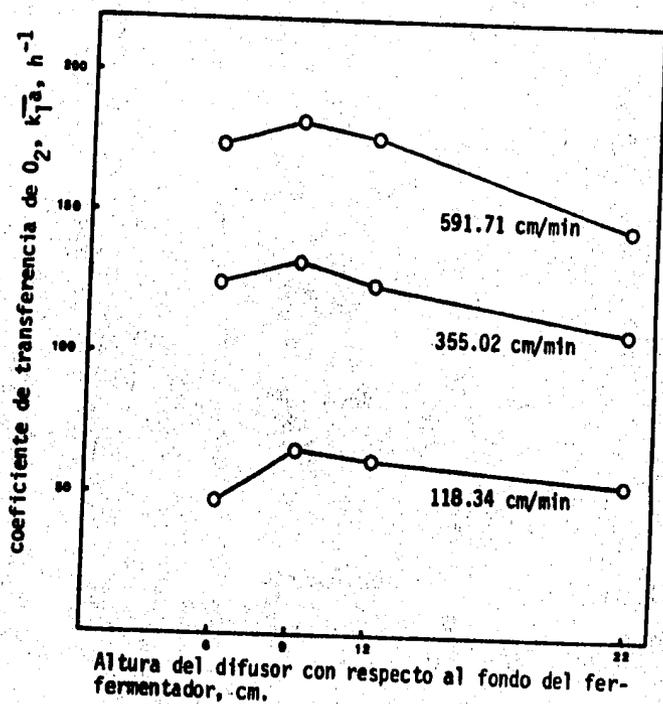


Fig. 21. Determinación del k_{1a} por el método del sulfito variando la altura del difusor con respecto al fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Relación $a_b/a_d = 1$. A diferentes velocidades superficiales de aire.

D. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito variando el tamaño de la placa.

Placa a 6 cm del fondo del fermentador.

Difusor a 9 cm del fondo del fermentador.

Relación $a_g/a_d = 1$.

Con el objeto de determinar el tamaño de placa adecuado para obtener un $k_1 a$ mayor se probaron dos placas, una de 19.5 cm x 39 cm y otra de 19.5 cm x 49 cm. En la Tabla 4 y en la Figura 22 se observa que hay un descenso en el $k_1 a$ al emplear la placa pequeña por lo que se continuaron los experimentos utilizando la placa mayor.

Tamaño de - la placa. cm	v_s cm/min	Región del - fermentador.	$k_1 a$ h^{-1}	$\bar{k}_1 a$ h^{-1}
19.5	118.34	ascendente	59.02	49.93
		cabeza	67.14	
		descendente	32.24	
x	355.02	ascendente	124.33	108.72
		cabeza	136.73	
		descendente	79.12	
39	591.71	ascendente	169.35	155.58
		cabeza	171.61	
		descendente	133.81	
19.5	118.34	ascendente	87.20	66.56
		cabeza	84.64	
		descendente	36.90	
x	355.02	ascendente	164.43	132.80
		cabeza	164.43	
		descendente	85.36	
49	591.71	ascendente	216.57	182.94
		cabeza	219.24	
		descendente	131.17	

Tabla 4. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito variando el tamaño de la placa. Placa colocada a 6 cm del fondo del fermentador. El difusor a 9 cm del fondo. Relación $a_s/a_d = 1$. A diferentes velocidades superficiales de aire.

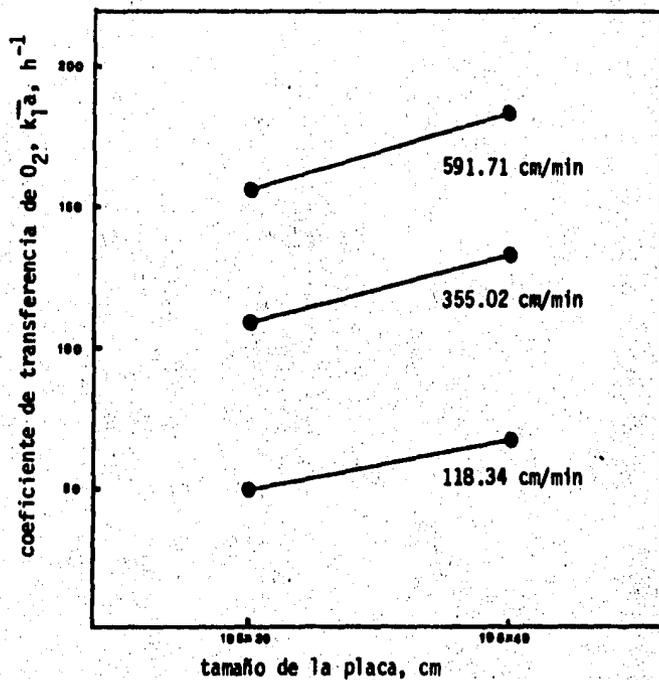


Fig. 22. Determinación del k_1a por el método del sulfito variando el tamaño de la placa. Placa colocada a 6 cm del fondo del fermentador. El difusor a 9 cm. Relación $a_a/a_d = 1$. A diferentes velocidades superficiales de aires.

E. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito variando la relación a_a/a_d .

Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador.

Difusor a 9 cm del fondo del fermentador.

La relación área de ascenso/área de descenso se mantuvo hasta este momento igual a 1 pero para comprobar que era la mejor se probaron las otras posibles relaciones: $a_a/a_d = 0.333$ y $a_a/a_d = 3$. En la Tabla 5 y en la Figura 23 se observa que las relaciones $a_a/a_d = 1$ y $a_a/a_d = 3$ dan lugar a valores similares y mayores de $k_1 a$ comparados con el caso de la relación $a_a/a_d = 0.333$. Se decidió mantener la relación $a_a/a_d = 1$ debido a que cuando $a_a/a_d = 3$ se perdía gran cantidad de líquido por la gran turbulencia creada en la región de la cabeza.

a_a/a_d	v_s cm/min	Región del - fermentador.	$k_1 a$ h^{-1}	$\bar{k}_1 a$ h^{-1}
0.333	118.34	ascendente	51.91	42.54
		cabeza	75.03	
		descendente	25.51	
	355.02	ascendente	91.98	102.83
		cabeza	138.88	
		descendente	94.77	
	591.71	ascendente	132.63	160.34
		cabeza	162.92	
		descendente	173.50	
1.000	118.34	ascendente	87.20	66.56
		cabeza	84.64	
		descendente	36.90	
	355.02	ascendente	164.43	132.80
		cabeza	164.43	
		descendente	85.35	
	591.71	ascendente	216.57	182.04
		cabeza	219.24	
		descendente	131.17	
3.000	118.34	ascendente	77.30	71.08
		cabeza	94.09	
		descendente	41.84	
	355.02	ascendente	134.89	133.00
		cabeza	191.65	
		descendente	85.86	
	591.71	ascendente	210.10	207.06
		cabeza	213.20	
		descendente	196.56	

Tabla 5. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito variando la relación área ascenso/área descenso. Placa colocada a 6 cm del fondo del fermentados. Difusor a 9 cm del fondo del fermentador. Placa de 19.5 cm x 49 cm. A diferentes velocidades superficiales de aire.

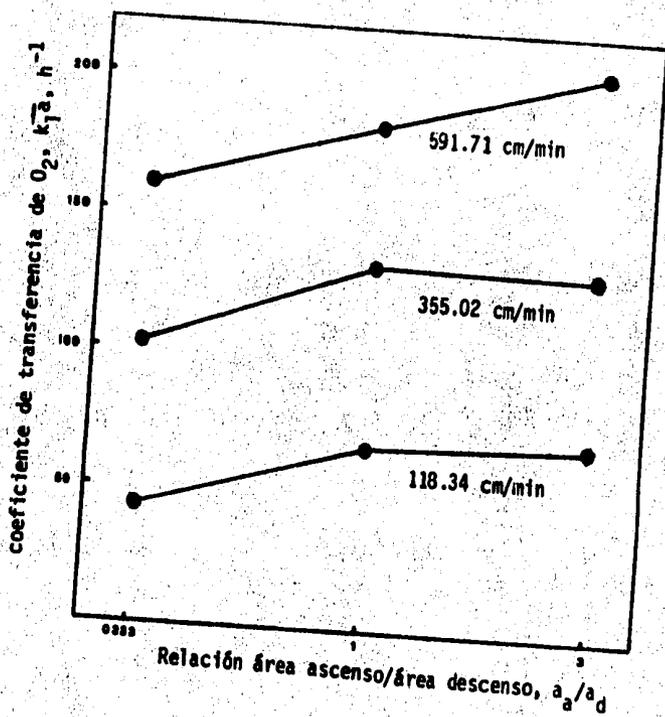


Fig. 23. Determinación del $k_L a$ por el método del sulfito variando la relación a_A/a_D . Placa colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Placa de 19.5 cm x 49 cm. A diferentes velocidades superficiales de aire.

F. Determinación del k_1a por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire.

Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador.

Difusor a 9 cm del fondo del fermentador.

Relación $a_a/a_d = 1$.

Para comprobar que se había logrado una mejora en el equipo, en cuanto a la transferencia de oxígeno al medio, se muestran en la Tabla 6 y la Figura 24 los nuevos valores de k_1a obtenidos al variar la posición de la placa de 4 a 6 cm y del difusor de 6 a 9 cm, demostrándose que efectivamente hay un aumento en los k_1a que no es por cierto muy significativo.

Es de observarse que en ambos casos, el mejor k_1a se obtuvo a 473.36 cm/min, lo puede deberse a que, a partir de 591.71 cm/min el flujo de burbuja empieza a transformarse en flujo tapón que implica menor área de transferencia de oxígeno.

v_s cm/min	Región del - fermentador.	$k_1 a$ h ⁻¹	$\bar{k}_1 a$ h ⁻¹
59.17	ascendente	50.34	48.75
	cabeza	53.68	
	descendente	44.70	
118.34	ascendente	87.20	66.56
	cabeza	84.64	
	descendente	36.90	
236.68	ascendente	119.88	114.76
	cabeza	124.20	
	descendente	104.92	
355.02	ascendente	164.43	132.80
	cabeza	164.43	
	descendente	85.36	
473.36	ascendente	197.32	185.45
	cabeza	206.77	
	descendente	162.92	
591.71	ascendente	216.57	182.94
	cabeza	219.24	
	descendente	131.17	

Tabla 6. Determinación del $k_1 a$ por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm, colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Relación $a_s/a_d = 1$. Difusor a 9 cm del fondo del fermentador.

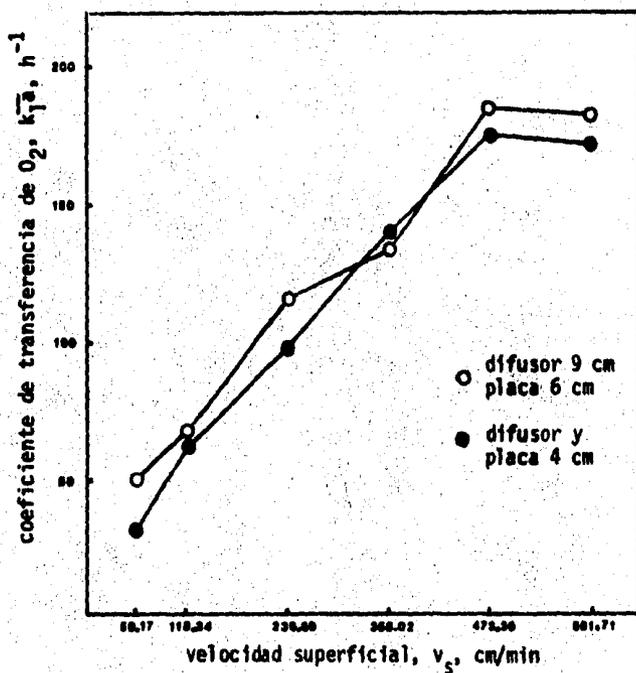


Fig. 24. Determinación del $k_L a$ por el método del sulfito en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire. Placa de 19.5 cm x 49 cm, colocada a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a_a/a_d = 1$. Se añaden, por comparación los datos de la Fig. 19.

G. Determinación del $k_1 a$ por el método dinámico en las tres regiones del fermentador a diferentes velocidades superficiales de aire y con concentraciones de inóculo (levadura de panificación).

Placa de 19.5 cm x 49 cm colocada a 6 cm del fondo del fermentador.

Difusor a 9 cm del fondo del fermentador.

Relación $a_g/a_d = 1$.

Los resultados de dichas mediciones se muestran en la Tabla 7 y en la Figura 25. Los valores de $k_1 a$ fueron superiores para las determinaciones con el método dinámico comparadas con las del método del sulfito, ascendiendo dichos valores al aumentar la concentración del inóculo.

v_s cm/seg	Región del fer- mentador	1 g/l		3 g/l		5 g/l		Método del sulfito	
		$k_{1,a}$ h^{-1}	$k_{1,a}^{-1}$ h^{-1}	$k_{1,a}$ h^{-1}	$k_{1,a}^{-1}$ h^{-1}	$k_{1,a}$ h^{-1}	$k_{1,a}^{-1}$ h^{-1}	$k_{1,a}$ h^{-1}	$k_{1,a}^{-1}$ h^{-1}
118.34	ascenden	45.92	89.52	62.56	80.64	45.76	89.38	87.20	66.56
	cabeza	45.92		62.56		45.76		84.64	
	descend	154.92		107.78		154.82		36.90	
236.68	ascenden	87.37	127.26	101.13	154.42	131.22	170.96	119.88	114.76
	cabeza	87.37		101.13		131.22		124.20	
	descend	187.11		234.37		230.59		104.92	
55.02	ascenden	109.11	153.16	117.29	184.53	129.71	210.88	164.43	132.80
	cabeza	109.11		117.29		129.71		164.43	
	descend	219.25		285.40		332.65		85.36	
73.36	ascenden	169.09	202.00	175.77	218.52	157.25	225.89	197.32	185.45
	cabeza	169.09		175.77		157.25		206.77	
	descend	251.38		286.65		328.87		162.92	
91.71	ascenden	203.37	232.40	188.62	232.86	190.52	257.44	216.57	182.94
	cabeza	203.37		188.62		190.52		219.24	
	descend	275.95		299.23		357.85		131.17	

Tabla 7. Determinación del $k_{1,a}$ por el método dinámico en las tres regiones del fermentador, a diferentes velocidades superficiales de aire y concentraciones de inóculo (levadura de panificación). Placa de 19.5 cm x 49 cm, colocada a 6 cm de fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a_a/a_c = 1$.

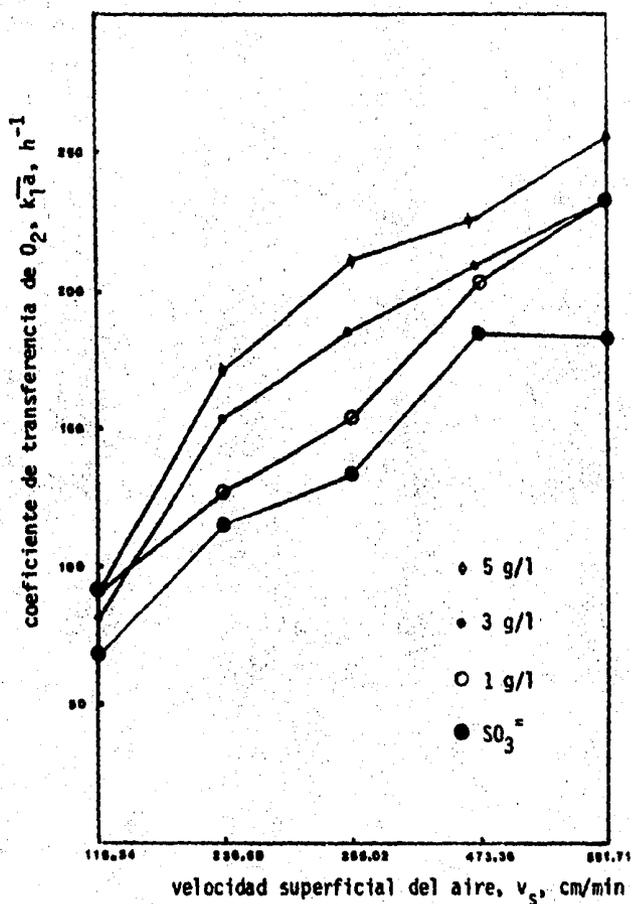


Fig. 25. Determinación del k_1a por el método dinámico a diferentes velocidades superficiales de aire y concentraciones de inóculo. Se incluye la determinación optimizada por el método del sulfito, para fines de comparación. Placa de 19.5 cm x 49 cm a 6 cm del fondo del fermentador. Difusor a 9 cm. Relación $a_a/a_d = 1$.

H. Determinación de los patrones de flujo del fermentador.

Las Figuras 26 a 30 indican el patrón de circulación del líquido mediante las curvas de concentración del colorante vs tiempo, variando la velocidad superficial del aire : 118.34, 236.68, 355.02, 473.36 y 591.71 cm/mín.

En la Figura 31 se demuestra el perfil que siguen tanto el tiempo de mezclado como el de circulación al aumentar la velocidad superficial del aire.

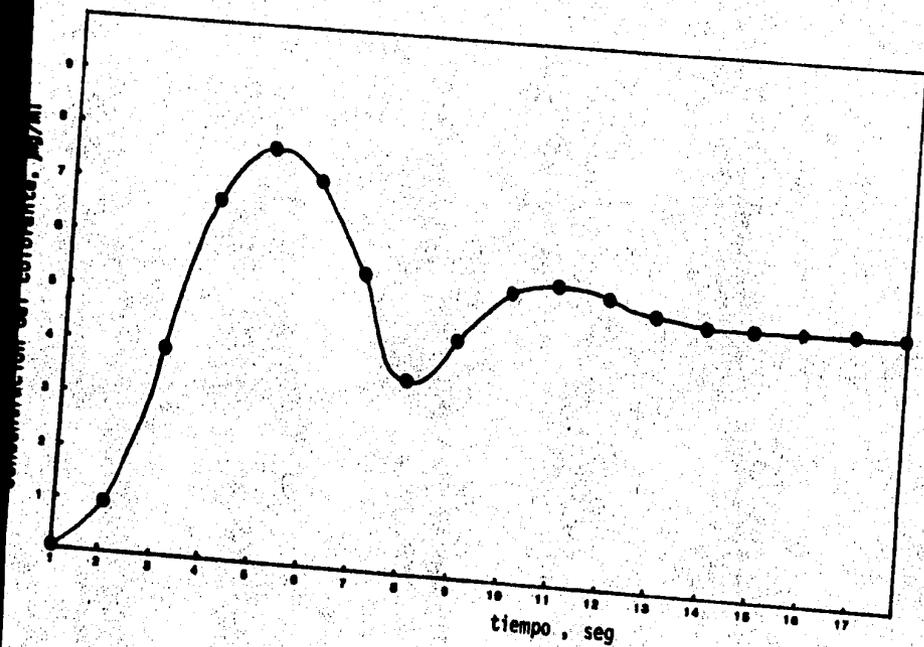


Fig. 26. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido.
Velocidad superficial del aire, 118.34 cm/min.

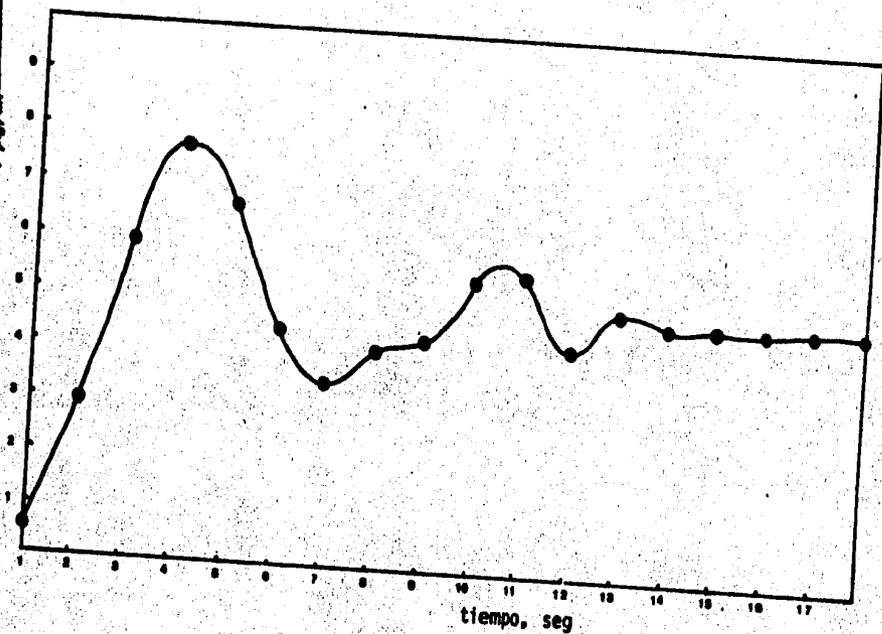


Fig. 27. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido.
Velocidad superficial del aire, 236.68 cm/min.

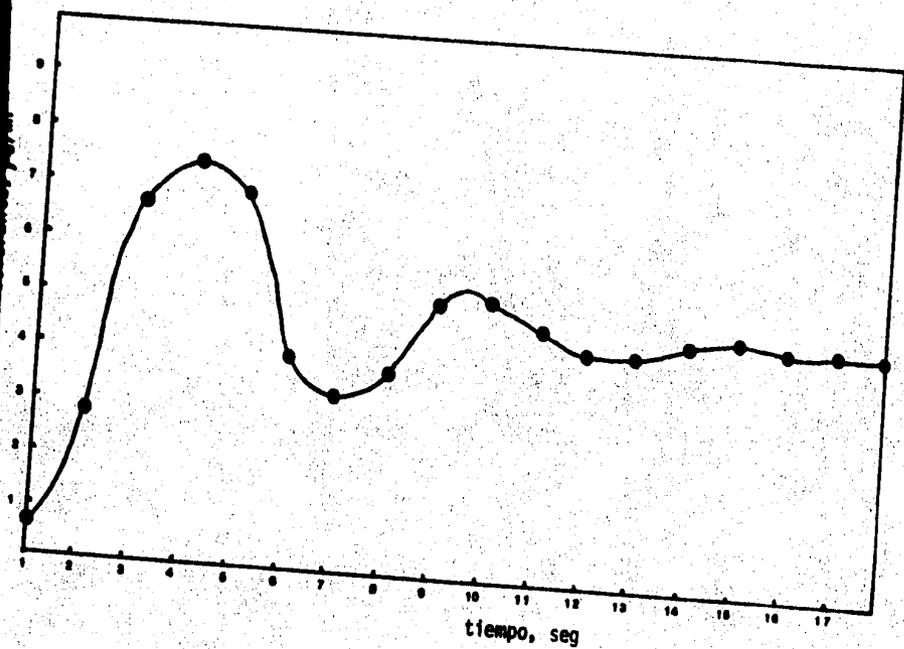


Fig. 28. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido.
Velocidad superficial del aire, 355.02 cm/min.

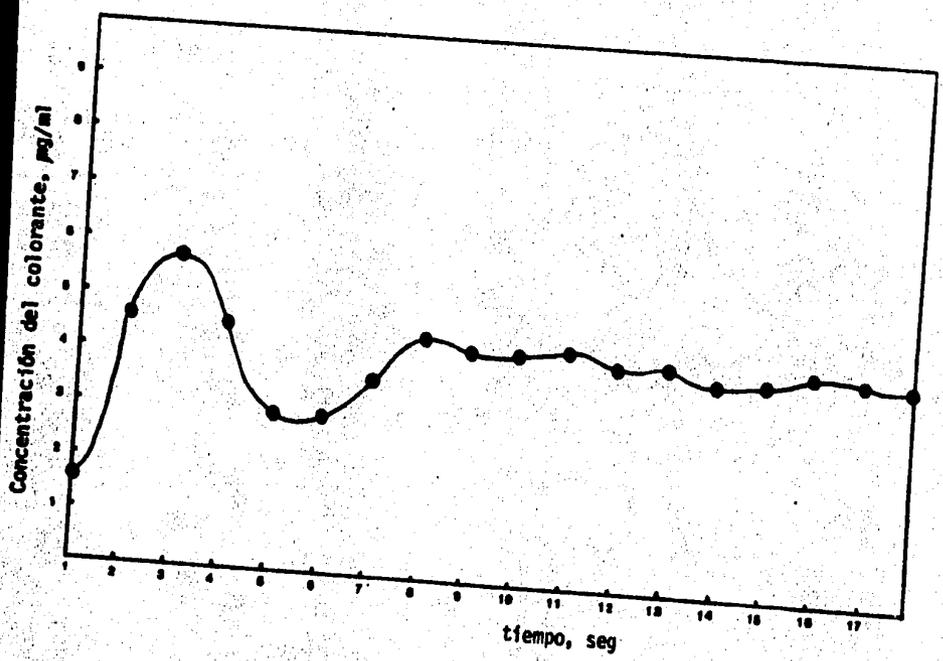


Fig. 29. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido.
Velocidad superficial del aire, 473.36 cm/min.

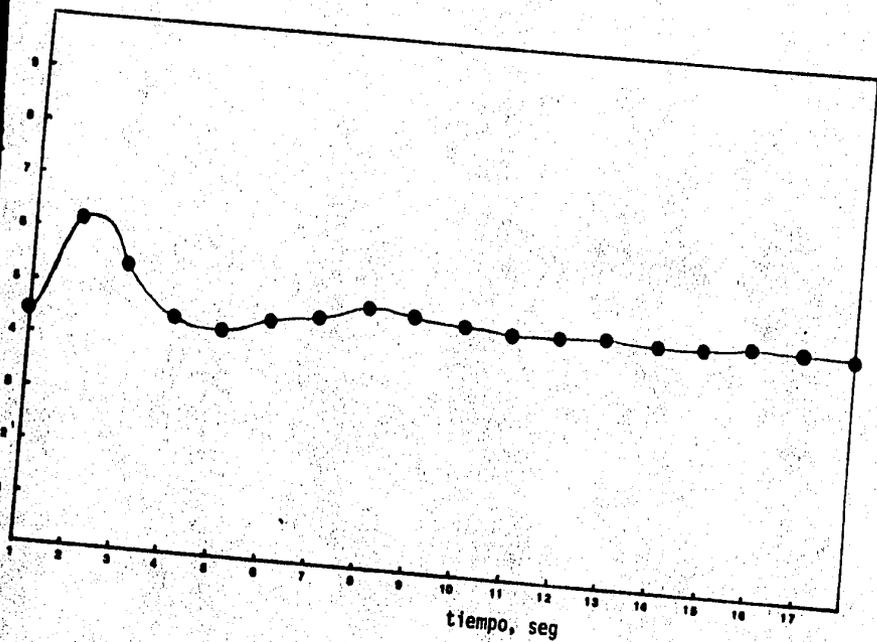


Fig. 30. Determinación del tiempo de mezclado y de circulación del líquido.
Velocidad superficial del aire, 591.71 cm/min.

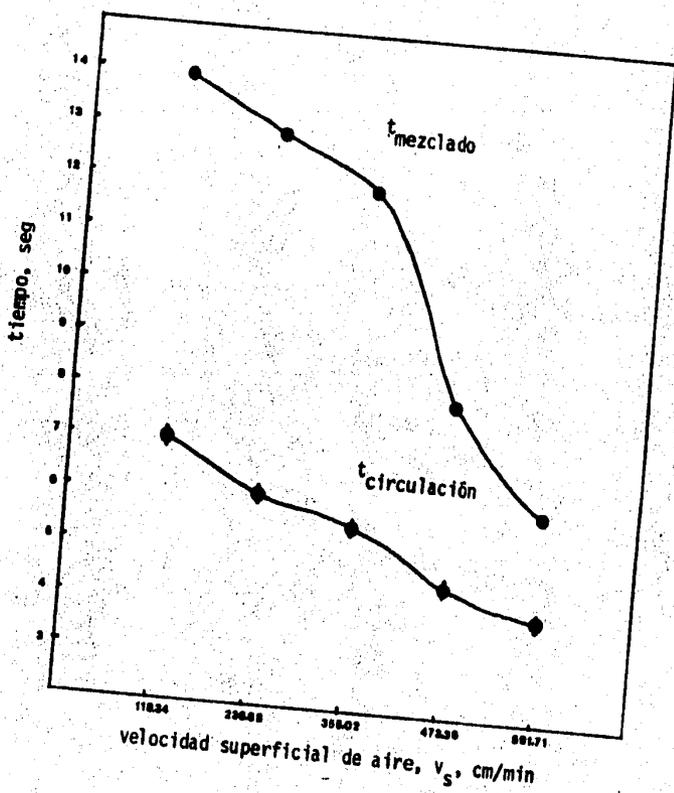


Fig. 31. Tiempos de mezclado y de circulación en función de la velocidad superficial del aire.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Después de optimizar la configuración geométrica del fermentador se obtuvo una mejoría en la transferencia de oxígeno, demostrada por un aumento en el k_1a . (Fig. 24). Dicho aumento fué superado por los valores logrados al emplear el método dinámico. (Fig. 25).

Los únicos factores geométricos que con su optimización contribuyeron al incremento del k_1a fueron la localización de la altura de la placa y del difusor con respecto al fondo del fermentador, que resultó ser 6 y 9 cm respectivamente. (Fig. 20 y 21).

El utilizar un tamaño de placa menor (19.5 cm x 39 cm) no reportó ninguna mejora, ya que al aumentar el volumen de la región de la cabeza disminuyó el volumen de la región de ascenso que en el caso del método del sulfito, fué en donde se obtuvieron coeficientes de transferencia de oxígeno mayores. (Fig. 22).

Variar la relación a_a/a_d , tampoco permitió un aumento en el k_1a , comparado con el obtenido en el caso $a_a/a_d = 1$. Al reducir la relación $a_a/a_d = 0.333$, el k_1a disminuyó en la región de ascenso y en la cabeza, debido a que la velocidad del líquido aumentó y no permitió que las burbujas tuvieran el tiempo de residencia adecuado para transferir todo su oxígeno; en cambio el k_1a sufrió un ligero aumento en la región descendente ya que las burbujas pudieron ceder ese oxígeno restante en este lugar. De cualquier forma

el $k_1 a$ resultó menor que el obtenido cuando $a_a/a_d = 1$. Al aumentar la relación $a_a/a_d = 3$, la velocidad de transferencia de oxígeno es máxima en el ascenso, pero debido a que hay mayor turbulencia en la cabeza, más burbujas pasan a la región descendente en donde hay mayor transferencia de oxígeno. En promedio el $k_1 a$ es muy similar al obtenido en la relación $a_a/a_d = 1$ e incluso un poco mayor, pero la pérdida de líquido por la gran turbulencia propició que no fuera considerada la mejor opción. (Fig. 23).

En el método dinámico (Fig. 25) el aumento en el $k_1 a$ fué el resultado de la mayor transferencia de oxígeno en la región descendente que superó a la de la región ascendente. Esto, debido a que en la región descendente es menor la cantidad de oxígeno disuelto (como lo demuestra el método del sulfito), por lo que las células presentes en ella lo absorben propiciando que el gradiente de concentración entre el medio y la membrana celular sea mayor, por lo que aumenta la rapidez con la que las células transfieren el oxígeno a su interior lo que se traduce en un gran aumento en el $k_1 a$. En el caso del método del sulfito no sucede lo mismo, porque al oxidarse el sulfito disminuye la transferencia de oxígeno ya que el O_2 disuelto aumenta en el medio sin existir una fuerza directora que induzca su absorción.

Con los $k_1 a$ obtenidos, las velocidades de transferencia de oxígeno máximas posibles para el método del sulfito y el dinámico fueron: 19.512 mM/1h y 29.071 mM/1h respectivamente para la configuración geométrica optimizada.

Los $k_1 a$ logrados tanto en el método del sulfito como en el dinámico

co resultaron ser menores con respecto a los reportados en la literatura para fermentadores air-lift, lo cuál demuestra que los fermentadores air-lift tipo rectangular deben mejorarse en su diseño si es que se desea que alcancen los $k_L a$ proporcionados por las otras clases de fermentadores; tomando en cuenta que a pesar de eso, siguen siendo los más baratos en construcción, mantenimiento y potencia consumida.

En cuanto a los tiempos de circulación y tiempos de mezclado medidos se puede decir que al aumentar la velocidad superficial disminuye el tiempo de circulación del líquido y el tiempo de mezclado. (Fig. 31).

Para completar el estudio del fermentador "air-lift" rectangular sería conveniente llevar a cabo fermentaciones específicas que pudieran indicar el comportamiento del reactor en sistemas biológicos; además de profundizar en el estudio de la mecánica de fluidos para establecer exactamente el tipo de mezclado que impera en el fermentador.

VI. BIBLIOGRAFIA.

- Aiba S., A.E., Humphrey, N.F. Millis, (1973). "Biochemical Engineering", 2a Ed., University of Tokyo Press, Jap. p. 157-193.
- Bandyopadhyay B., A.E. Humphrey (1967), "Dynamic Measurement of the Volumetric Oxygen Transfer Coefficient in Fermentation Systems", *Biotechnology and Bioengineering*, IX: 533-544.
- Blakebrough N., P.G. Shepherd and I. Nimmons (1967), "Equipment for Hydrocarbon Fermentation", *Biotechnology and Bioengineering*, IX:77-89.
- Blenke H., (1979), "Loop Reactors", Institut für Chemische Verfahrenstechnik Universität Stuttgart, D-7000, Stuttgart 1, West Germany.
- Cooper C.M., G.A. Fernstrom, S.A. Miller, (1944), "Performance of agitated gas-liquid contactors", *Ind. Eng. Chem.* 36:504.
- Crane (1965), "Flow of Fluids through valves, fittings, and pipe", Crane Co., New York and Chicago.
- Dairako K., T. Yamané, (1979), "Use of the Porous Teflon Tubing Method to Measure Gaseous or Volatile Substances Dissolved in Fermentation Liquids" *Biotechnology and Bioengineering*, XXI:1671-1676.
- Faust U., W. Sitting, (1980), "Methanol carbon source for biomass production in a loop reactor". En "Advances in Biochemical Engineering". A. Fiechter Ed. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, p. 17-63.
- Finn R.K. (1967), "Agitation and Aeration". En "Biochemical and Biological Engineering Science". N. Blakebrough Ed. 1, Academic Press, London-N.Y. p. 69-99.
- Gasner L.L. (1974), "Development and Application of the Thin Channel Rectan-

- gular air-lift mass transfer reactor to fermentation and Waste-water treatment systems", *Biotech. and Bioeng.*, 26:1179-1195.
- Gow J.S., J. D. Littlehales, S.R.L. Smith, (1975), "SCP Production from Methanol". En "Single Cell Protein II", S.R. Tannenbaum, D.I.C. Wang, Ed. Cambridge, Massachusetts, MIT Press, p. 370.
- Hatch R.T. (1973), "Experimental and Theoretical Studies of Oxygen Transfer in the air-lift fermentor", Tesis/Doctoral, Massachusetts Institute of Technology. E.U.A.
- Hatch R.T. (1975), "Fermenter design",. En "Single Cell Protein II.". S.R. Tannenbaum, D.I.C. Wang, Ed. Cambridge, Massachusetts. MIT Press, p. 46.
- Hines D.A., M. Bailey, J.C. Ousby, F.C. Roesler. (1975), "The ICI deep shaft aeration process for effluent treatment", *Int. Chem. Eng. Symp. Ser.* No. 41, D1.
- ICI Sanctions microbial protein feedstuffs plant, (1976), *Chemistry and Industry*, 858-859.
- Kanazawa M. (1975). "The production of yeast from n-paraffins". En "Single Cell Protein II." S.R. Tannenbaum, D.I.C. Wang, Ed. Cambridge, Massachusetts MIT Press. p. 438.
- Krebs W.M. and I.S. Haddad, (1972), *The Oxygen Electrode in Fermentation Systems*, Cap. 11. Reimpreso del Vol. 13 de "Developments in Industrial Microbiology". Soc. for Ind. Microbiol. American Institute of Biological Sciences. Washington, D.C.
- Laine B., C. Vernet, G. Evans. (1967), "Progres recents dans la production de proteines a partir du petrole". 7 th World Petroleum Congress, Mexico City.

- Lefrancois M.L. (1963). "Problems of aeration and circulation in aerobic fermentation vats". 34 th Int. Ind. Chem. Belgrade, Sec. 14.
- Lefrancois M.L., C.G. Mariller, J. V. Mejane. (1955), "Effectonnements aux procedes de cultures forigiques et de fermentations industriels". FP 1 102-200
- Leistner G., G. Müller, G. Sell, A. Bauer. (1979). "Der Bio-Hochreaktoreine biologische Abwas-serreinigungsanlage in Hochbauweise". Chem. Ing. Tech., 51:268.
- Muchmore C.V., J.W. Chen and J.N. Be Miller, (1971), "A Mechanistic Study of Oxygen Transfer in Aqueous Systems". Biotech. and Bioeng. 13:271-292
- Mukhopadhyay S.H. and Ghose T.K., (1976), "Oxygen Participation in Fermentation, Part.1 Oxygen Microorganism Interactions"., Process Biochemistry. p. 19-27 y 40.
- Onken U., P. Weiland P., (1983)., "Airlift Fermenters: Construction, Behavior and Uses". En "Advances in Biotechnological Processes", Alan R. Liss, Inc. New York, N.Y., 10011.
- Präve P., Sukatsch D.A., Faust U. (1976). "The Industrial Production of Natural Substances", Interdis. Sci. Rev., 1:85.
- Quintero R.R., (1981). "Ingenterfa Bioquímica, Teorfa y Aplicaciones", 1a Ed. Ed. Alhambra Mexicana S.A., México.
- Reith T. and W.J. Beek, (1973). "The oxidation of aqueous sodium sulphite solutions", Chemical Engineering Science, Pergamon Press. 28:1331-1339. Gran Bretaña.
- Sholler H., R. Eikemeyer (1933), Gärverfahren und Vorrichtung zur Gewinnung Von Hefe oder anderen Mikroorganismen. DBP 744:133.
- Sharp P.F., D.F. Hand and Guthrie E.S. (1941), "Quantitative Determination

of Dissolved Oxygen, Ascorbic Acid Oxidase Method", Ind. Eng. Chem. 13:9.

Stern A.M. and L.L. Gasner. (1973). "Mass Transfer Device". United States Patent 3,764,014. Oct 9.

Vincent A. (1974). "Measurement of Dissolved Oxygen", Process Biochemistry, p. 19-21.

Wang, Cooney, Demain, Dunnill et al (1979), "Fermentation and Enzyme Technology", John Wiley and Sons, 1a. Ed., USA.

Wise (1951). En Finn R.K. (1967). "Agitation and aeration". En "Biochemical and Biological Engineering Science". N. Blakebrough Ed. 1, Academic Press, London, N.Y. p. 69-99.