

## **Tema 7. Transferencia de materia en bioreactores**

- A- Transferencia de materia en fase líquida. Intercambio y transferencia de gases. Velocidad de transferencia de oxígeno y procesos fermentativos. Procesos aerobios, anóxicos y anaerobios.
- B- Solubilidad del oxígeno: características y variables de interés. Concentración crítica. Velocidad de respiración. Demanda de oxígeno: definición y medición.
- C- Transferencia de oxígeno: teoría de la doble capa, Coeficiente de transferencia global ( $K_{La}$ ). Determinación y uso en el diseño de biorreactores. Aireación en condiciones reales y de referencia. Influencia de variables. Tipos de aireadores. Rendimiento de la transferencia de oxígeno.

### **La tasa de transferencia de oxígeno y oxígeno volumétrico total coeficiente de transferencia**

**Resumen:** Durante el crecimiento microbiano aeróbico, los microorganismos requieren oxígeno como aceptor final de electrones para la producción de energía durante la fosforilación oxidativa. Si el oxígeno en el cultivo disminuye por debajo del suficiente para la fosforilación oxidativa, el metabolismo del organismo estará limitado por la concentración de oxígeno y la tasa de crecimiento específica disminuirá según el modelo Monod. De esta manera, el crecimiento celular y la formación de productos se convertirán en transporte en lugar de estar controlados cinéticamente, lo que conducirá a una disminución en el rendimiento y la productividad del proceso.

El suministro de oxígeno adecuado es especialmente difícil debido a la baja solubilidad del oxígeno. La solubilidad del oxígeno en agua es de alrededor de 8 mg/l a temperatura ambiente y disminuye aún más en el medio de cultivo debido a la presencia de solutos disueltos y las temperaturas de fermentación relativamente más altas. Este bajo nivel de solubilidad puede considerarse crítico cuando se considera la tasa de utilización específica de oxígeno de los microorganismos. Los hongos filamentosos requieren alrededor de 3 mmoles de  $O_2$ /g de células/h, levaduras alrededor de 4 a 8 mmoles de  $O_2$ /g de células/h, mientras que las bacterias pueden requerir hasta 12 mmoles de  $O_2$ /g células/h. Tomando un caso extremo, digamos 10 g/L bacterias con una tasa específica de utilización de oxígeno de 12 mmoles  $O_2$ /g de células/h, esto equivale a una tasa de utilización total de oxígeno (OUR) de 3840 mg  $O_2$ /l/h; ¡8 mg/L de oxígeno desaparecerían en sólo 7,5 segundos! Por lo tanto, es imperativo que se transfiera oxígeno continuamente al cultivo si se quieren satisfacer las necesidades metabólicas del microorganismo.

En los bioprocesos que contienen hidrocarburos, en lugar de carbohidratos, como única fuente de carbono, el efecto de la baja solubilidad del oxígeno sobre la adecuación del suministro de oxígeno puede verse exacerbado. La molécula de carbohidrato aporta alrededor de dos tercios del oxígeno necesario a través de su contenido de oxígeno intrínseco. Sin embargo, a diferencia de los carbohidratos, los hidrocarburos tienden a ser deficientes en oxígeno y, por lo tanto, todo el oxígeno necesario debe suministrarse mediante transferencia directa al cultivo. Además, el aumento de la viscosidad del fluido provocado por el hidrocarburo en suspensión dificulta la transferencia eficaz. Aunque se proporciona cierto alivio por la solubilidad del oxígeno considerablemente mayor en el hidrocarburo en comparación con la de una fase acuosa,

En vista de las consideraciones anteriores, la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) es fundamental para el diseño, operación y ampliación exitosos de bioprocesos aeróbicos y, en consecuencia, se han desarrollado varias expresiones matemáticas que predicen el comportamiento de VTO. Estos incluyen tanto correlaciones empíricas como modelos semifundamentales. Los modelos empíricos incorporan parámetros que influyen en la dinámica de los fluidos (potencia por unidad de volumen, velocidad superficial del gas) y en ocasiones también incluyen las propiedades del fluido (viscosidad, tensión superficial), esta última normalmente sólo cuando se utilizan sustancias viscosas. Están presentes. Sin embargo, como ocurre con todas las expresiones empíricas, su aplicación se limita a las condiciones bajo las cuales fueron derivados, como las condiciones operativas y la escala de la operación, y no se discutirán más a fondo.

Se han desarrollado varios modelos semifundamentales, cada uno de ellos basado en un mecanismo conceptual distinto. Estos modelos se han utilizado tanto en la predicción como en la medición de VTO y se definen y analizan en esta unidad. Las diferentes metodologías para la medición de VTO también se aclaran y evalúan y se discuten sus restricciones y limitaciones.

### **1- Efectos de la velocidad de transferencia de los gases en los procesos fermentativos**

En los procesos industriales los productos del metabolismo pueden ser peligrosos porque desplazan al oxígeno. Los caso más típicos se dan en la siguiente tabla:

Producto	Efecto
Etanol	Efecto negativo de altas presiones parciales de CO <sub>2</sub>

Estreptomicina	Aumento de la producción con velocidades de transferencia de oxígeno (VTO) crecientes que produce una leve disminución de O <sub>2</sub> y el efecto negativo de CO <sub>2</sub>
Glutamato de sodio	Máxima producción a valores intermedios de VTO. Efecto negativo de leves presiones parciales de CO <sub>2</sub>
Novobiocina	Efecto positivo con VTO creciente y luego estabilización
Penicilina	Aumento cpm VTO crecientes con tendencia a nivelarse
Tratamiento de efluentes	Los valores de VTO hacen que los tratamientos puedan ser aerobios, anaerobios o anóxicos

En el último caso se considera aerobio cuando el O<sub>2</sub> está en fase libre, anóxico cuando está combinado con otras sustancias y anaerobiosis cuando no hay oxígeno.

### **Solubilidad del oxígeno**

Es poco soluble, a 37 °C la solubilidad es de 7 mg/l y en presencia de sales como en el agua de mar es de 5,6 mg/l (3,4 % sales disueltas). La variación de la concentración de O<sub>2</sub> en el agua pura en función de la temperatura se puede modelar como:

$$C_s = 475 / (3,34 * t) \text{ [mg/l]} \quad 0 < t < 30 \text{ °C}$$

La solubilidad se puede relacionar con la ley de Henry

$$P_g = H X$$

También cuando hay otros medios como aguas residuales o medios de cultivo la concentración real varía según

$$\beta = C_{sr} / C_s \quad 0,92 < \beta < 0,98$$

Si incluimos el efecto de los sólidos disueltos y de la temperatura:

$$C_{sr} = \frac{(475 - 0,00265 * SD)}{33,5 * t} * 10$$

Corrección por efecto de la presión atmosférica

Para agua pura

$$C_s/C_{s(760)} = P/760$$

En el caso de aguas residuales las concentraciones calculadas solo sirven para la parte superficial

Concentración crítica de Oxígeno:

Es la concentración por debajo de la cual los trastornos metabólicos pueden causar la muerte en los microorganismos aerobios

Microorganismo	Temp (°C)	Ccrit (mg/l)
Pseudomonas ovalis	35	1,1
Escherichia coli	35	0,3
Sacharomyces cerevisiae	35	0,6
Candida utilis	32	2,0

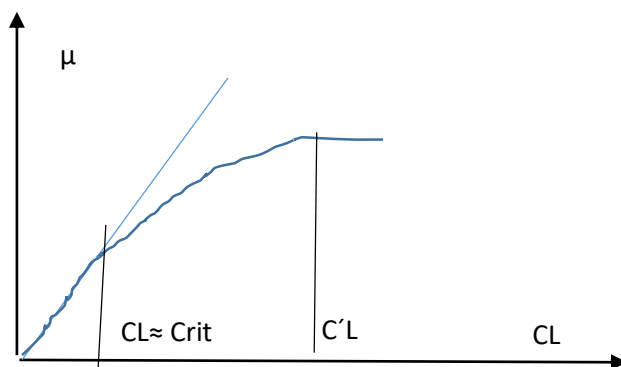
Entonces podemos decir que  $0,1 \text{ mg/l} < \text{Crit} < 2 \text{ mg/l}$ , si tenemos en cuenta la solubilidad para algunas especies la concentración crítica está entre el 20 y 30 % de la  $C_{sat}$ .

Como el  $O_2$  es un sustrato más podemos escribir la velocidad de crecimiento por sustrato limitante como

$$\mu = \mu_{max} * \frac{S}{K_s + S} = \mu_{max} * \frac{CL}{K_o + CL}$$

$CL$  concentración de  $O_2$  y  $K_o$  cte de saturación podemos escribiri que

$$Q_{O_2} = -\frac{1}{X} * \frac{dCL}{dt} = Q_{O_2M} * \frac{CL}{K_o + CL}$$



Podemos interpretar a la  $C_{crit}$  a aquella concentración por debajo de la cual la velocidad de crecimiento es directamente lineal a la concentración de oxígeno y por encima de  $C_L$  es independiente de  $C_L$ .

El requerimiento específico de oxígeno recibe el nombre de velocidad de respiración  $V_R$

$$V_R = \text{mgO}_2/\text{g} \times \text{h}$$

Se define la demanda de oxígeno  $N_A$  a la cantidad de oxígeno que debe suministrarse por litro de medio de cultivo de fermentación

$$N_A = \text{mgO}_2/(\text{l} \cdot \text{h})$$

Combinando se llega a que  $N_A = V_R \cdot X$

Ejemplos de velocidades específicas de **consumo de oxígeno**

Organismo	$V_R$ (mgO <sub>2</sub> /gcel.h)
Aspergillus niger	96
Streptomyces griseus	96
Penicillium chrysogenum	125
Klebsiella aerogenes	128
Sacharomyces cerevisiae	256
Escherichia coli	348

**Demanda de oxígeno**

Organismo	$N_A$
Lodos activados	32
Escherichia coli	160 a 320
Enterobacter aerogenes	160 a 320
Aspergillus sp	1600
Acetobacter sp	2800
Azotobacter	8300

NA es función de la etapa o fase crecimiento, edad del cultivo, concentración celular, composición del medio. En general  $100 \text{ mgO}_2/\text{lh} < \text{NA} < 3000 \text{ mgO}_2/\text{lh}$

## **2-. Ecuaciones de diseño de transferencia de oxígeno**

Se han desarrollado varios modelos para predecir VTO, tres de los cuales han sido los más ampliamente documentados: la teoría de las dos películas (TFT), la teoría de la penetración (PT) y la teoría de la renovación de la superficie (SRT). El TFT ha sido, con diferencia, el más utilizado y está bien documentado en textos de biotecnología que tratan de la transferencia de oxígeno. El desarrollo matemático es bastante largo por lo que aquí no se dan derivaciones completas. Más bien, el desarrollo conceptual se explica y respalda mediante expresiones matemáticas clave.

La TFT se basa en el supuesto de que se formará una película estancada a ambos lados de cualquier interfaz de fase, que toda la resistencia a la transferencia de oxígeno reside dentro de las películas estancadas y que la transferencia de oxígeno a través de estas películas estancadas se produce únicamente por difusión molecular. Así, en un medio acuoso, durante su transferencia desde el interior de la burbuja de gas al sitio de oxidación respiratoria en el microorganismo, la molécula de oxígeno teóricamente se encontrará con resistencia a la transferencia dentro de las películas estancadas en las fases gaseosa y líquida en la interfaz gas-líquido y en la fase líquida alrededor de la celda (Figura 1). En este análisis, se supone que el líquido a granel está suficientemente bien mezclado como para que la resistencia a la transferencia de oxígeno en este líquido sea insignificante. Además, se atribuye una resistencia insignificante a la transferencia a través de la propia interfaz gas-líquido.<sup>2</sup> Cuando se considera la baja solubilidad del oxígeno en la fase líquida y su alta difusividad en la fase gaseosa, la resistencia a la transferencia en la película de gas estancado en la interfaz gas-líquido es insignificante en comparación con la resistencia a la transferencia en la película de líquido estancado en la fase líquida. interfaz gas-líquido.

Además, al considerar los diámetros relativos de la burbuja de gas y los microorganismos individuales, está claro que la resistencia en la película líquida alrededor de la burbuja de gas es significativamente mayor que la de la película líquida alrededor del microorganismo. Por lo tanto, la VTO a través de la película de líquido estancado que rodea la burbuja se convierte en el paso de control de la velocidad del mecanismo. La difusión a través de esta película de líquido estancado define la VTO desde la burbuja hasta el microorganismo.

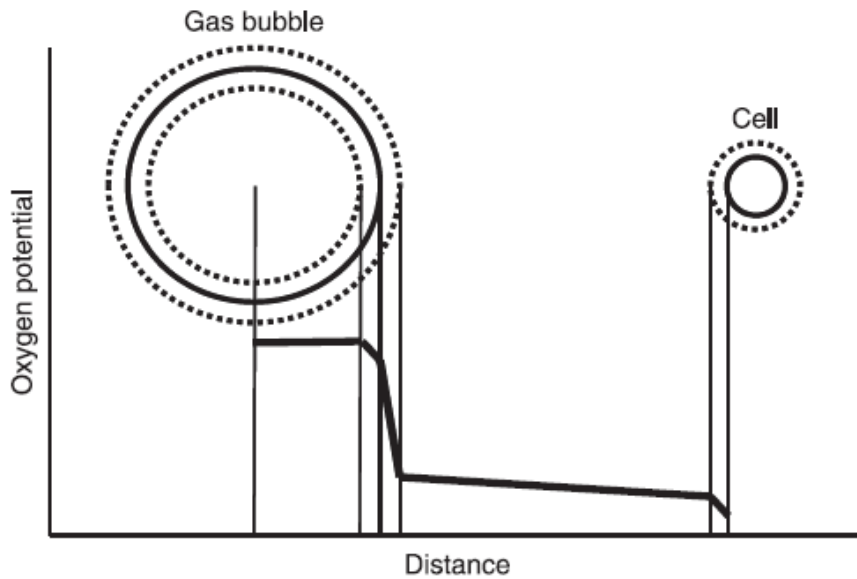


Figura 1 Posibles resistencias a la transferencia de oxígeno según el modelo de la Teoría de las Dos Películas

La difusión molecular ha sido bien definida por la Ley de Fick como proporcional a la diferencia de concentración que impulsa la difusión e inversamente proporcional al espesor de la película estancada a través de la cual tiene lugar la difusión. En términos de oxígeno que se difunde a través de la película de líquido estancado que rodea la burbuja, un flujo molar de oxígeno por unidad de área ( $J$ ) se puede definir como proporcional al gradiente de concentración de oxígeno a través de la película de líquido estancado alrededor de la burbuja de gas e inversamente proporcional al espesor de esta película, según la Ecuación 8.1, donde la difusividad del oxígeno en el líquido ( $D$ ) se supone constante.

[1]

$$J = -D \frac{dC}{dz}$$

La integración de la ecuación 8.1 produce el flujo molar de oxígeno de la burbuja al microorganismo (ecuación 2), donde  $C$  es la concentración total de oxígeno en el líquido,  $C_{se}$  es la concentración de oxígeno en el líquido que estaría en equilibrio con la de la fase gaseosa (es decir, la solubilidad del oxígeno) y  $\delta$  es el espesor de la película estancada.

[2]

$$J = \frac{D}{\delta} (C_{\text{sat}} - C)$$

Sin embargo, el flujo molar en términos de área de transferencia unitaria (es decir, superficie de la burbuja) es difícil de medir. Para superar esto, el flujo molar se ha medido tradicionalmente en términos de flujo molar por unidad de volumen (N). N se obtiene de J mediante la incorporación del área interfacial por unidad de volumen (a) (Ecuación 3).

[3]

$$N = \frac{D}{\delta} a (C_{\text{sat}} - C)$$

El término  $\frac{D}{\delta}$  corresponde a una resistencia inversa a la difusión, en la película de líquido estancado y está representado por el coeficiente de transferencia de oxígeno (Kl). En los modelos que describen la OTR, Kl y a se agrupan en un coeficiente volumétrico general de transferencia de oxígeno (Kla), como en la Ecuación 8.4, antes de equiparar N y OTR.

[4]

$$\text{OTR} = K_{L,a} V (C_{\text{se sat}} - C)$$

La  $K_{L,a}$  es un parámetro que se utiliza universalmente, principalmente debido a los desafíos asociados con la medición del área interfacial por unidad de volumen. Sin embargo, aunque no se realiza de forma rutinaria, la medición del área interfacial por unidad de volumen se ha llevado a cabo con gran éxito mediante fotografía de alta velocidad y análisis de imágenes. De esta manera, se pueden medir las áreas proyectadas de las burbujas y determinar los diámetros medios de Sauter. Los diámetros medios de Sauter, junto con las mediciones de retención de gas, facilitan el cálculo del área interfacial total por unidad de volumen.

Una crítica importante al TFR es, sin embargo, que predice una relación lineal entre  $K_{L,a}$  y la difusividad, mientras que los resultados experimentales sugieren una dependencia de la raíz cuadrada. La relación lineal predicha es consecuencia del supuesto implícito del establecimiento de un gradiente constante desde el instante del contacto gas-líquido. En realidad, en el primer contacto, el oxígeno en la película es igual al del líquido a granel y sigue un período transitorio durante el cual se inicia un gradiente y sólo más tarde alcanza un estado estacionario.



El supuesto de estado estacionario de la TFT se abordó en el PT considerando la difusión en estado inestable donde la turbulencia se extiende hasta la interfaz gas-líquido. Este enfoque es más apropiado en un recipiente bien mezclado, donde las corrientes parásitas exponen continuamente las superficies del líquido fresco al es menos probable que se produzca oxígeno y un gradiente de concentración en estado estacionario en una película estancada en la interfaz. El PT supone que la difusión en estado inestable tiene lugar en cada elemento líquido durante su tiempo en contacto con la interfaz gas-líquido (donde los tiempos de contacto se suponen idénticos). Por lo tanto, el PT considera la difusión en estado inestable donde el cambio en la concentración de oxígeno con el tiempo está definido por la Segunda Ley de Fick (Ecuación 5). A partir de esto, se puede obtener un flujo molar instantáneo por unidad de área (Ecuación 6)

que, cuando se integra, produce el flujo molar total por unidad de área (Ecuación 7).

$$\frac{dC}{dt} = D \frac{d^2C}{dz^2} \quad [5]$$

$$J_t = \sqrt{\frac{D}{\pi t}} (C_{sat} - C) \quad [6]$$

$$J = 2 \sqrt{\frac{D}{\pi t}} (C_{sat} - C) \quad [7]$$

Al igual que con la TFT, el flujo molar por unidad de área se combina con el área interfacial por unidad de volumen para dar el flujo molar por unidad de volumen (Ecuación 8.8).

$$N = 2 \sqrt{\frac{D}{\pi t}} a (C_{sat} - C) \quad [8]$$

En el PT, el término  $2 \sqrt{\frac{D}{\pi t}}$  representa Kl y la VTO es elegido por la misma ecuación final que para la TFT (Ecuación 4). Sin embargo, a diferencia del TFT, el PT predice una relación de raíz cuadrada entre Kl y D, lo cual es consistente con lo encontrado experimentalmente.

Aunque el PT introduce la dependencia del tiempo en la ecuación y predicción de Kl del PT es una mejora con respecto al TFT, se ha encontrado falla en el PT con respecto a la suposición de que los tiempos de contacto con el gas para cada elemento fluido son idénticos. Tiempos de contacto idénticos implican que la turbulencia es homogénea en todo momento. Sin embargo, éste no es el caso; Se producirán tiempos de contacto cortos en regiones de alta turbulencia y tiempos de contacto más largos en regiones de menor turbulencia. En consecuencia, el supuesto de tiempos de contacto idénticos limita el PT y sugiere que una teoría que incorpore tiempos de contacto variables sería más apropiada.

La SRT abordó los tiempos de contacto no uniformes. El flujo molar instantáneo por unidad de área (Ecuación 6) se combina con una función de distribución de edad, escrita en términos de la fracción de elementos líquidos reemplazados en la interfaz durante cada paso de tiempo, o la tasa fraccionaria de renovación de la superficie, (Ecuación.9). Al integrar, se obtiene el flujo molar promediado en el tiempo por unidad de área (Ecuación 10).

$$J = (C_{\text{sat}} - C) \int_0^{\infty} \sqrt{\frac{D}{\pi t}} e^{-st} dt \quad [9]$$

$$J = \sqrt{Ds} (C_{\text{sat}} - C) \quad [10]$$

Al igual que con el TFT y el PT, el flujo molar por unidad de área se combina con el área interfacial por unidad de volumen para dar el flujo molar por unidad de volumen (Ecuación 8.11).

$$N = \sqrt{Ds} a (C_{\text{sat}} - C) \quad [11]$$

En la SRT, el término representa Kl y la VTO es regido por la misma ecuación final que para la TFT (Ecuación 4). En cuanto al PT, una dependencia de raíz cuadrada de Kl y D se predice para el SRT, aunque mediante una agrupación diferente de parámetros.

El análisis anterior del desarrollo de los modelos TFT, PT y SRT para la predicción de la VTO en sistemas biológicos distingue diferencias importantes en los parámetros y forma de la ecuación para la predicción de Kl. Y esto tiene implicaciones cruciales con respecto a nuestra comprensión de Kl en sistemas biológicos. Sin embargo todos estos modelos presentan la misma expresión para VTO en

términos de  $K_L a$  y la fuerza impulsora (Ecuación 4) y es esta ecuación la que se usa universalmente para predecir y medir VTO en sistemas biológicos y la que da como resultado  $K_L a$  siendo citado como el parámetro clave en el diseño y ampliación de equipos de fermentación para procesos aeróbicos.

Esta expresión para VTO predice que la tasa se puede mejorar aumentando la  $K_L a$  y/o la solubilidad del oxígeno.  $K_L$  aumentándola se logra fácilmente mediante turbulencia amplificada que reduce la resistencia a la transferencia y mejora el área de transferencia. Un mayor gradiente de concentración se facilita mediante una solubilidad mejorada, afectada por un aumento de la presión parcial de oxígeno en el gas de burbujeo o un aumento de la presión total. La solubilidad también se ha incrementado mediante la introducción de gotitas de hidrocarburos que, debido a la mayor solubilidad del oxígeno en los hidrocarburos en relación con el agua, actúan como vectores de oxígeno para retener oxígeno en el sistema. Esto ha resultado eficaz en bioprocesos que utilizan sustratos de carbohidratos donde la concentración de hidrocarburos es baja. Sin embargo, en bioprocesos que utilizan hidrocarburos como sustratos, la concentración de hidrocarburos bien puede ser una concentración lo suficientemente alta como para dar como resultado una  $K_L a$  una depresión que eclipsa el efecto del aumento de la solubilidad del oxígeno en la VTO. La temperatura también afecta la solubilidad del oxígeno y una disminución de la temperatura produce una mejora. Sin embargo, normalmente no es factible disminuir la temperatura ya que esto puede afectar negativamente al crecimiento celular y la formación de productos.

Una amplia gama de parámetros del sistema afectan a  $K_L a$ , algunos influyen en la resistencia y, por tanto,  $K_L a$ , algunos influyen directamente en el área de transferencia y otros impactan en ambos. Estos incluyen el diseño y la geometría del recipiente y del impulsor, la turbulencia del fluido, las propiedades del fluido y la reología, y cada uno de ellos debe considerarse al adoptar métodos para mejorar la VTO en caso de que sea necesario. Sin embargo, se deben tener en cuenta los efectos interactivos y aplicar restricciones. Por ejemplo, aumentar la VTO mejorando el área interfacial por unidad de volumen se ve fácilmente afectado por una mayor agitación que, especialmente con un buen diseño de deflectores, promoverá la turbulencia. Sin embargo, una mayor turbulencia puede dañar los microorganismos sensibles al corte y, aunque aumenta la disponibilidad de oxígeno, el método mediante el cual se ha logrado esto podría disminuir la capacidad de los microorganismos para formar productos.

## 2 Medición de la tasa de transferencia de oxígeno

Se han documentado muchos procedimientos para medir la VTO. Algunos de ellos han quedado actualmente desacreditados, por ejemplo el llamado valor del sulfito. Aquí la tasa de oxidación de sulfito a sulfato se determina mediante titulación y se relaciona con la VTO. Sin embargo, se ha observado que la velocidad varía con el catalizador (cobre o cobalto) utilizado y de todos modos es inapropiada para biorreactores a gran escala.

Las metodologías para VTO actualmente en uso pueden clasificarse en términos generales en procedimientos de estado estacionario.

### 2.1 Cuantificación de VTO en condiciones de estado estacionario

Esta metodología mide la VTO en condiciones de estado estacionario donde la concentración de oxígeno disuelto permanece constante. En condiciones de concentración constante de oxígeno disuelto, el OUR del microorganismo es igual al VTO.<sup>4</sup>

OUR se calcula mediante un balance de masa de oxígeno alrededor del reactor y, dado que OUR = VTO, como resultado se cuantifica VTO. En la ecuación 12 se define conceptualmente un balance de masa de oxígeno alrededor del reactor.

*tasa de oxígeno que entra - tasa de oxígeno que sale - tasa de oxígeno utilizado = tasa de acumulación de oxígeno en el sistema* [12]

Aunque este equilibrio se refiere estrictamente a una tasa de masa, normalmente se escribe en términos de tasa molar. La igualdad implícita entre masa y moles en este caso es aceptable ya que no se produce ninguna reacción y se aplicará la convención de utilizar caudales molares. Entonces, matemáticamente, en estado estacionario la ecuación 12 se puede escribir en términos de caudales molares (F), volumen de líquido (V) y fracción molar de oxígeno (y) (Ecuación 13).

$$F_{en}(y_{O_2})_{en} - F_{afuera}(y_{O_2})_{afuera} - V(\text{NUESTRO}) = 0$$

[13]

El caudal molar de oxígeno que ingresa se conoce porque es un valor específico. No así el caudal molar que sale; esto se desconoce porque en este momento no se sabe cuánto oxígeno se está utilizando. Sin embargo se puede calcular considerando un balance de masa de nitrógeno, ya que los moles de nitrógeno que entran y salen permanecerán constantes (Ecuación 14).

$$F_{en}(y_{N_2})_{en} - F_{afuera}(y_{N_2})_{afuera} = 0 \quad [14]$$

Resolviendo el caudal molar de salida desconocido y observando que las fracciones molares de oxígeno, nitrógeno y dióxido de carbono son iguales a la unidad, el caudal molar de salida se puede escribir como la Ecuación.15.

$$F_{out} = \frac{F_{in} (y_{N_2})_{in}}{1 - (y_{O_2})_{out} - (y_{CO_2})_{out}} \quad [15]$$

Finalmente, la sustitución de la Ecuación 15 en la Ecuación 13 y la reorganización proporciona la expresión para NUESTRO (Ecuación 16).

$$OUR = \frac{F_{in}}{V} \left[ (y_{O_2})_{in} - \frac{(y_{O_2})_{out} (y_{N_2})_{in}}{1 - (y_{O_2})_{out} - (y_{CO_2})_{out}} \right] \quad [16]$$

Ahora se puede calcular OUR y, dado que  $OUR = VTO$  en estado estacionario, se conoce VTO. Conociendo VTO,  $K_L a$  se puede calcular a partir de la Ecuación 4, siempre que se mida la concentración disuelta 5 y se obtiene la solubilidad en oxígeno. Los datos sobre la solubilidad son escasos, pero para una solución acuosa, la solubilidad del oxígeno se puede aproximar mediante la solubilidad en agua a la misma temperatura, calculada fácilmente mediante la Ley de Henry, que relaciona la presión parcial en la fase gaseosa con la concentración de oxígeno en la fase líquida en contacto en equilibrio, es decir, la solubilidad del oxígeno en el líquido (Ecuación 17).

Este valor será marginalmente mayor que la solubilidad en el medio de cultivo porque los solutos en el medio tienden a disminuir la solubilidad del oxígeno por debajo de la del agua pura.

Queda una cuestión importante sobre el cálculo de la solubilidad del oxígeno. ¿En qué presión parcial de oxígeno debe estar basado; ¿El del aire de entrada o el del aire de salida? En un reactor bien mezclado, se supone que el fluido que sale del reactor tiene la misma concentración que el del reactor, por lo que, en estas condiciones, la solubilidad debe basarse en la composición del gas de salida. Sin embargo, a mayor escala, la mezcla puede no

siempre ser adecuada y en este caso, generalmente se utiliza el promedio logarítmico de las composiciones de gas de entrada y salida.

$x = p_H$  [17]

Para medios distintos de los acuosos, como las dispersiones acuosas de hidrocarburos, el cálculo de la solubilidad del oxígeno es un poco más complicado. En este caso, la solubilidad del oxígeno se puede aproximar mediante la promediación de la solubilidad en las fases acuosa e hidrocarbonada, según los porcentajes en volumen de cada una de las diferentes fases. La solubilidad de la fase acuosa se calcula utilizando la Ecuación 17 y la solubilidad de la fase hidrocarbonada se accede desde las tablas de datos físicos. Esta metodología, por lo tanto, cuantifica con éxito tanto  $K_L a$  y VTO. Además, realiza la medición sin alterar el cultivo y es la única metodología actualmente en uso que es totalmente no invasiva. Sin embargo, el método requiere analizadores de gas en línea que, siendo relativamente caros, no son necesariamente equipos estándar. Además, si bien es un método excelente para calcular la VTO en un cultivo, no se puede utilizar en un sistema sin respiración (libre de células). La ventaja de calcular VTO en sistemas libres de células es que la capacidad de suministrar oxígeno en diferentes biorreactores se puede comparar rápida y eficientemente midiendo el  $K_L a$  valores en agua en cada uno de los biorreactores.

La aplicación más adecuada de este método es durante el estado estacionario en cultivo continuo donde las concentraciones de células y sustrato (y por lo tanto de oxígeno) son constantes.

Lamentablemente, en ocasiones esta metodología se ha utilizado erróneamente durante condiciones transitorias en cultivos discontinuos durante períodos en los que la concentración de oxígeno disuelto varía con el tiempo, como durante el crecimiento equilibrado (exponencial), donde este método no es válido. Sin embargo, el método aún se puede utilizar en cultivos discontinuos y discontinuos, pero solo si hay un período de tiempo significativo en el que la concentración de oxígeno disuelto permanece constante.

La concentración constante de oxígeno disuelto, requisito previo, debe verificarse midiendo el oxígeno disuelto con una sonda de oxígeno. Esta sonda mide la tensión de oxígeno entre la solución a granel y un cátodo, en el cual una reacción reduce la concentración de oxígeno a cero. La diferencia en la tensión de oxígeno se relaciona entonces con la concentración de oxígeno en el fluido a granel. El cátodo está encerrado en una membrana permeable al oxígeno (generalmente silicona o teflón). La propia membrana introduce una resistencia a la transferencia de oxígeno y, en algunos casos, es

suficiente para generar un retraso de respuesta significativo en la lectura de la sonda. Las membranas de teflón sufren un retraso de respuesta más prolongado que las de silicona, pero son más resistentes, por lo que pueden ser obligatorias en situaciones corrosivas, como los bioprocesos basados en hidrocarburos.

## 2.2 Cuantificación de VTO en condiciones dinámicas

Una metodología utilizada frecuentemente para determinar VTO es mediante un método dinámico donde KIP primero se mide a y luego se determina VTO a partir de este valor y se calcula una fuerza motriz de acuerdo con la Ecuación 4. La fuerza impulsora se cuantifica a partir de la diferencia entre la solubilidad del oxígeno y la concentración aparente, ambas descritas anteriormente (Sección 2.1). Existen varias metodologías de medición para  $K_L a$  en condiciones dinámicas, pero todos se basan en un principio común, es decir, todos dependen de la respuesta de la concentración de oxígeno disuelto a un cambio escalonado en una entrada. El más simple de estos métodos supone que el retardo de respuesta de la sonda de oxígeno es insignificante. Esto implica que la lectura de la sonda no es significativamente diferente del valor real de la concentración de oxígeno disuelto en el líquido a granel (Sección 2.2.1). Las metodologías más complejas no parten de esta suposición y aquí el retardo de respuesta de la sonda se incorpora en el cálculo de la  $K_L a$  (Sección 2.2.2).

### 2.2.1 Metodologías dinámicas que suponen un retraso insignificante en la respuesta de la sonda

El método dinámico más utilizado para medir  $K_L a$  es el "procedimiento de desgasificación", que implica la extracción de oxígeno del líquido en un sistema sin células utilizando un rociado de nitrógeno, seguido de un cambio gradual en el gas de rociado de nitrógeno a aire. La respuesta del oxígeno disuelto. concentración al cambio escalonado en el oxígeno parcial La presión en el gas de entrada resulta únicamente del VTO y, por lo tanto, puede modelarse mediante la ecuación de primer orden que define la VTO (Ecuación 4), donde la VTO equivale a (Ecuación 18).

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_{sat} - C) \quad [18]$$

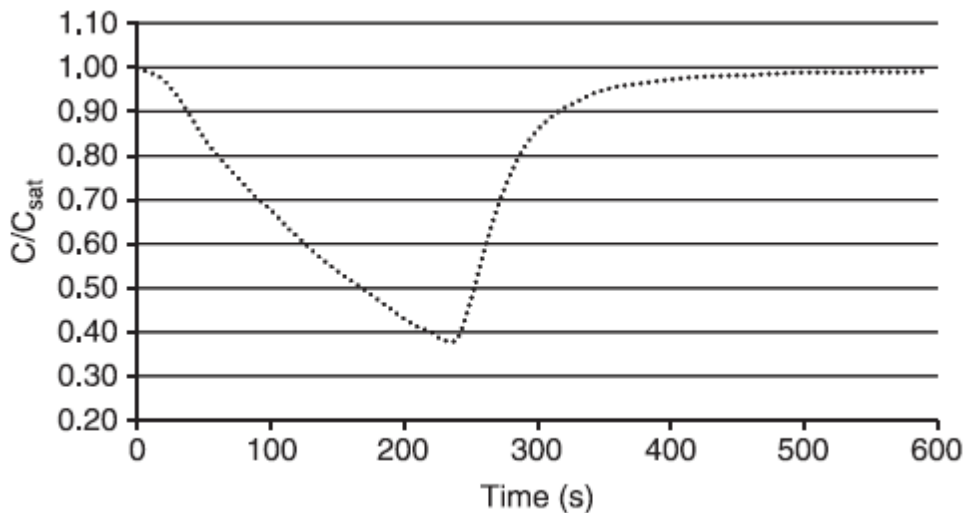
Integración de la Ecuación 8.18 entre los límites de  $C=0$  y  $C=C_8$  linealiza los datos (Ecuación 8.19) para proporcionar un gradiente negativo igual al valor de  $K_L a$ . La construcción gráfica es sencilla, porque el enfoque fraccional de la solubilidad se obtiene directamente de las grabaciones de la sonda.

Conociendo a  $K_L a$ , VTO puede entonces ser obtenido de la Ecuación 4 para la fuerza impulsora adecuada.

$$\ln \left[ 1 - \frac{C}{C_{\text{sat}}} \right] = -K_L a t \quad [19]$$

Esta metodología se puede utilizar de manera similar en sistemas que contienen células respiratorias. Experimentalmente, el procedimiento es el mismo excepto que inicialmente no se rocía nitrógeno al sistema. Más bien, se apaga la aireación del cultivo y se permite que la concentración de oxígeno disuelto disminuya naturalmente a través de la respiración hasta que alcance un valor de aproximadamente el 20% de la solubilidad del oxígeno (Figura 2). Se evitan valores más bajos ya que pueden limitar las concentraciones de oxígeno, lo que afectará negativamente a la tasa de crecimiento. Esto es especialmente importante con microorganismos facultativos que cambiarían del metabolismo aeróbico al anaeróbico y perjudicarían el rendimiento del proceso aeróbico.

Una vez que se ha alcanzado el límite de concentración de oxígeno más bajo, se inicia la aireación y continúa al mismo ritmo que antes de ser interrumpida. Como resultado, la concentración de oxígeno disuelto aumenta hasta aproximadamente el mismo valor que antes de la interrupción de la aireación.



Perfil de concentración de oxígeno durante el método dinámico en un sistema con células respiratorias.

La base de la respuesta del oxígeno disuelto. concentración al cambio de paso en presencia de células



Sin embargo, esto es muy diferente al de un sistema sin células. En este caso, la tasa de cambio de la concentración de oxígeno disuelto resulta de la diferencia entre la VTO y la OUR según la Ecuación 20, donde la OTR se define mediante la Ecuación 4.

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_{sat} - C) - OUR \quad [20]$$

La reordenación de la ecuación 20 genera la ecuación 21 que demuestra que  $K_L a$  se puede obtener a partir de la pendiente negativa de versus  $C$ . Luego, OTR se evalúa como antes (Ecuación 4).

$$\frac{dC}{dt} = -K_L a C + (K_L a C_{sat} - OUR) \quad [21]$$

Esta evaluación gráfica, sin embargo, implica estimar gradientes desde tangentes a los datos registrados de respuesta de oxígeno disuelto para obtener valores de , un método lo cual es inherentemente inexacto. En consecuencia, generalmente se prefiere un procedimiento alternativo que implique el ajuste de curvas.

Aquí, un polinomio de mejor ajuste ( $R^2$  mayor que 0,999) se obtiene de los datos registrados utilizando Excel. Esto se diferencia a obtener los valores para la curva versus  $C$  de la gradiente del cual se evalúa  $K_L a$ .

Este procedimiento dinámico también facilita la medición de OUR. OUR se puede calcular a partir del cambio en los datos de concentración de oxígeno disuelto registrados durante el período inicial sin aireación. Durante este período, VTO es cero y la respuesta de la concentración de oxígeno disuelto resultados la tasa de transferencia de oxígeno únicamente del OUR y, por lo tanto, se puede obtener directamente de los datos registrados como el gradiente negativo de la curva de concentración-tiempo. Además, los valores de OUR específicos se pueden cuantificar dividiendo el OUR con la concentración celular en el momento de la medición.

### **2.2.2 Metodologías dinámicas que incorporan un retardo de respuesta de la sonda**

Las metodologías dinámicas descritas (Sección 2.2.1) son precisas y confiables cuando el retraso en la respuesta de la sonda puede considerarse insignificante. Un punto de referencia ampliamente utilizado para determinar el nivel en el que se puede despreciar el retardo de respuesta de la sonda sin comprometer la precisión de la medición se define en términos de una relación entre  $K_L a$  y el retardo

de respuesta, es decir, el retardo de respuesta se supone insignificante cuando es mucho menor que el recíproco de  $K_L a$ . Experimentalmente, se descuida la influencia del retraso de respuesta en  $K_L a$  una medición en sistemas acuosos ha dado como resultado un error bajo (menos de aproximadamente 6%) cuando el retardo de respuesta es igual al recíproco de  $K_L a$ . Esto ha llevado al atajo generalizado donde  $K_L a$  específico Los valores  $a$  se utilizan directamente como único criterio para determinar si el retardo de respuesta se puede despreciar con seguridad. Este enfoque puede ser suficiente en sistemas donde los retrasos de respuesta son similares. Sin embargo, en sistemas viscosos, o sistemas que necesitan una membrana con resistencia superior como el teflón, el retraso de respuesta es considerablemente más largo que en sistemas no viscosos y la "identificación" de un  $K_L a$  específico un valor como único criterio para determinar si el retardo de respuesta puede despreciarse no es válido. En estas circunstancias, se debe evitar el atajo y la relación entre  $k_L a$  y el propio retraso de respuesta deben ser evaluados.

Además, incluso cuando se comparan sistemas viscosos y no viscosos con el mismo retraso de respuesta, el umbral  $K_L a$  puede ser hasta 3 veces menor en el sistema viscoso que en el sistema no viscoso correspondiente. La  $K_L a$  inferior umbral, combinado con el retraso de respuesta más largo en sistemas viscosos, significa que los criterios establecidos para sistemas acuosos no se pueden aplicar al determinar si el retraso de respuesta afectará significativamente la precisión del valor de  $K_L a$ . Esto afecta a una amplia gama de bioprocesos; por ejemplo, los bioprocesos que contienen sustratos viscosos como hidrocarburos o celulosa y aquellos que contienen altas concentraciones de hongos filamentosos se ven potencialmente afectados. Basta decir que se debe tener precaución antes de descuidar el retraso de respuesta, especialmente en sistemas viscosos y se recomienda encarecidamente que la posición predeterminada sea utilizar una metodología que tenga en cuenta el retraso de respuesta.

Se han establecido dos metodologías dinámicas que incorporan el retardo de respuesta de la sonda: el 'procedimiento de gasificación modificado' y el 'procedimiento de paso de presión'. El primero es más sencillo de ejecutar, tanto experimental como matemáticamente, y se utiliza más ampliamente, pero ambos dan excelentes resultados.

El "procedimiento de degasificación modificado" es experimentalmente idéntico al "procedimiento de degasificación" y se basa en la misma respuesta de primer orden. Sin embargo, aquí se tiene en cuenta el retraso de respuesta de modo que durante la aireación, el aumento de la concentración de oxígeno registrado por la sonda ( $C_{pag}$ ) se reconoce que está retrasado con respecto a la concentración

real de oxígeno (C). La respuesta registrada en oxígeno disuelto puede así modelarse mediante la ecuación de primer orden que define la OTR (Ecuación 4), donde la OTR equivale a (Ecuación.22).

$$\frac{dC_p}{dt} = K_L a (C_{sat} - C_p) \quad [22]$$

El retardo de respuesta en sí se simula dinámicamente con una constante de sonda característica (K<sub>p</sub>g), o tiempo de retardo de respuesta inverso, según una ecuación de primer orden (Ecuación 23).

$$\frac{dC_p}{dt} = K_p (C - C_p) \quad [23]$$

La incorporación del retardo de respuesta (Ecuación 8.23) en la Ecuación 8.18 produce la ecuación de segundo orden que describe la respuesta del sistema al cambio de paso teniendo en cuenta el retardo de respuesta de la sonda (Ecuación 24). (En presencia de células que respiran, el OUR debe incorporarse a la ecuación 22.)

$$\frac{C_p}{C_{sat}} = 1 - \frac{1}{K_p - K_L a} \left[ K_p e^{-K_L a t} - K_L a e^{-K_p t} \right] \quad [24]$$

Para evaluar K<sub>L</sub>a de la Ecuación 24, primero se debe determinar la constante de la sonda. Esto tiene que hacerse experimentalmente ya que el K<sub>p</sub>g difieren no solo entre sondas y membranas, sino también con diferentes propiedades del fluido, hidrodinámica y geometría del sistema y del impulsor. K<sub>p</sub>g se puede medir registrando la respuesta de oxígeno disuelto después de transferir la sonda de una solución sin oxígeno a una de saturación de aire (C=C<sub>se sentó</sub>).

Linealización de la Ecuación 8.23 con C=C<sub>se sentó</sub> produce K<sub>p</sub>g del gradiente negativo.

La K determinada experimentalmente se sustituye en Ecuación 24 que luego se puede utilizar para predecir una particular k<sub>lun</sub> valor. k<sub>lun</sub> se puede calcular iterativamente minimizando la suma de la raíz cuadrada del error entre el predicho por la Ecuación 24 y los datos registrado por la sonda usando Equation Solver en Excel®.

Una metodología dinámica alternativa para K<sub>L</sub> más recientemente se ha desarrollado una medición que incorpora el retardo de respuesta de la sonda. Esta metodología se denomina "procedimiento de paso de presión" y se basa en el cambio de oxígeno disuelto en respuesta a un cambio de paso en la

presión total. dentro del reactor. Este procedimiento experimental difiere del utilizado en el 'procedimiento de desgasificación' en que la presión parcial de oxígeno en el gas de entrada cambia mediante un cambio en la presión total del gas, en lugar de mediante un cambio en la fracción molar de oxígeno. El cambio de paso de presión se puede facilitar mediante reguladores de presión y válvulas en dos líneas de suministro de aire, una a baja presión y otra a una presión 20 kPa superior. Inicialmente, el aire ingresa al líquido a través del rociador desde la línea de baja presión. El cambio de paso de presión se inicia cambiando el rociado de aire de la línea de baja presión a la línea de alta presión y simultáneamente alimentando aire al espacio de aire por encima del nivel del líquido a través de una línea auxiliar de alta presión.

Para cada cambio de paso de presión, se calcula una serie de perfiles adimensionales de concentración de oxígeno disuelto-tiempo, utilizando un rango de  $K$  estimándola valores, de acuerdo con ecuaciones de balance de masa que describen la respuesta de la concentración de oxígeno disuelto al cambio de paso. Luego, los perfiles calculados se ajustan para incorporar la dinámica del retardo de respuesta de la sonda y se pueden resolver numéricamente usando Matlab.®. La comparación de estos perfiles con los obtenidos experimentalmente identificará cuál de los perfiles calculados se ajusta al perfil registrado experimentalmente. La  $K_{Lun}$  valor del perfil calculado de mejor ajuste es que  $K_{Lun}$  valor que describe la transferencia de oxígeno. Este método matemático es considerablemente más difícil de ejecutar que el del "procedimiento de desgasificación modificado". Esta es probablemente la razón principal por la que se ha utilizado comparativamente poco, ya que da tan buenos resultados como el modelo de segundo orden en el 'procedimiento de desgasificación' (Ecuación 24).

Valores típicos de  $K_La$

Equipo	Agitación	Veloc aire	$K_La$
Erlenmeyer agitado de 500 ml con 50 ml de medio	3 cm /250	-	200
Tanque de lodos activados		18	5 a 9
Fermentador industrial de 60 m <sup>3</sup>	0,6 CV/m <sup>3</sup>	52	400

El  $K_La$  es un parámetro de diseño, es decir depende del diseño del reactor.

Factores físicos que afectan la transferencia de O<sub>2</sub>:

Efecto de la temperatura

$$\frac{kla_1}{kla_2} = \sqrt{\frac{T_1 * \mu_1}{T_2 * \mu_2}}$$

Donde  $Kla$  es el coeficiente de transferencia,  $T$  la temperatura (K) y  $\mu$  la viscosidad absoluta

Se define capacidad de oxigenación como

$$CO = \frac{dCL}{dt} = (KLa)_{20^\circ C} (C_s - 0) = (KLa)_{20^\circ C} * 9,2$$

$$CO_{ref} = \left(\frac{dCL}{dt}\right)_{ref} = (KLa)_{20^\circ C} (C_s - 0) = (KLa)_{20^\circ C} * 9,2$$

$$CO_{real} = \left(\frac{dCL}{dt}\right)_{real} = (KLa)_{ref, t} (C_{s,r} - C_L)$$

Haciendo el cociente

$$\frac{\left(\frac{dCL}{dt}\right)_{real}}{\left(\frac{dCL}{dt}\right)_{ref}} = \frac{(CO)_{real}}{(CO)_{ref}} = \frac{(KLa)_{r, t}}{(KLa)_{20}} * \frac{(C_{s,r} - C_L)}{9,2}$$

En general hay que hacer correcciones por: temperatura, sólidos disueltos y presión

Corrección por temperatura: Se utilizan las correlaciones empíricas de Eckenfelder

$$(KLa)_{r, t} = (KLa)_{r, 20^\circ C} * \theta^{t-20}$$

$$(KLa)_t = (KLa)_{20^\circ C} * \theta^{t-20}$$

$\theta = 1.024$  por lo que  $Kla$  aumenta con la temperatura

$$\frac{\left(\frac{dCL}{dt}\right)_{r, t}}{\left(\frac{dCL}{dt}\right)_{ref}} = \frac{(CO)_{real}}{(CO)_{ref}} = \frac{(KLa)_{r, 20} * \theta^{t-20}}{(KLa)_{20}} * \frac{(C_{s,r} - C_L)}{9,2}$$

La relación

$$\frac{(Kla)r, 20}{(Kla)20} = \alpha < 1$$

Es función de la temperatura del líquido, naturaleza de los componentes orgánicos e inorgánicos disueltos, turbulencia, características del sistema de aireación

Corrección por sólidos disueltos

$$\frac{C_{s,r}}{C_s} = \beta$$

Para  $t=20$  °C,

$$\frac{(Kla)r, 20}{(Kla)20} = \alpha_{20}$$

$$\frac{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{real}}{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{ref}} = \frac{(CO)_{real}}{(CO)_{ref}} = \alpha * 1,024^{t-20} * \beta * \frac{(C_s - CL)}{9,2}$$

Corrección por presión

Se debe considerar si la aireación es superficial o bien si se trata de un aireador por inyección de aire comprimido (por ejemplo columna de burbujeo)

Aireación superficial

Considerando que el valor de saturación en la superficie:

$$C_s = C_{s,760} * \frac{P}{760}$$

$$C_{s,s} = (C_{s,s})_{760} * \frac{P}{760}$$

$$\frac{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{real}}{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{ref}} = \frac{(CO)_{real}}{(CO)_{ref}} = \alpha_{20^\circ C} * 1,024^{t-20} * \frac{(\beta C_{s,s} - CL)}{9,2}$$

$$\frac{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{real}}{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{ref}} = \frac{(CO)_{real}}{(CO)_{ref}} = \alpha_{20^{\circ}c} * 1,024^{t-20} * \frac{(\beta C_{s,s} * \frac{P}{760} - CL)}{9,2}$$

Para aireadores por inyección de aire o burbujeo hay que considerar la influencia de la columna de líquido por encima del punto de inyección de aire: para ello se propone una concentración de saturación de oxígeno en un punto de profundidad m en el tanque (Cs,m)

$$\frac{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{real}}{\left(\frac{dCl}{dt}\right)_{ref}} = \frac{(CO)_{real}}{(CO)_{ref}} = \alpha_{20^{\circ}c} * 1,024^{t-20} * \frac{(\beta C_{s,m} - CL)}{9,2}$$

$$C_{sm} = C_{s,s} * \left(\frac{Pb}{2,066} + 0,5\right)$$

Pb presión (kg/cm<sup>2</sup>) a la profundidad a la que se introduce al aire, C en mg/l.

$$Pb = Patm + \frac{d}{10,33} * 1,033 + \text{pérdida de carga}$$

Rendimiento de la transferencia de oxígeno

$$RT = \frac{\text{Kg de O}_2 \text{ transferidos}}{CV * h}$$

Potencia real del aireador es.

$$W(CV) = V(\text{tension}) * I(\text{corriente}) * \cos(fp) * 3^{0,5} * \frac{1 CV}{735 W} * \eta_{motor} * \eta_{reductor}$$