

**Diseño de Reactor de Tanque Agitado – Batch para la Obtención de Celulosa Bacteriana
por *Acetobacter Xylinum***

Edilmer Aparicio, Ivan Huaman, Juan A. Gonzales, Magaly Luna, Rosalin D. Aucca, Rosbert
Hanco y Alejandro S. Deza

Facultad de Ingeniería de Procesos, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

IQ617AQI: Ingeniería de las Reacciones Químicas

Ing. Rodney Vega Vizcarra

28 de octubre de 2020

Contenido

Contenido	2
Resumen	3
Abstract	3
Introducción	4
Marco Teórico	5
El proceso de obtención de la celulosa bacteriana consiste en cuatro fases:.....	5
Selección del Reactor	6
Selección del tipo de Reactor - “Producción de Celulosa Bacteriana en Reactor”	6
Reactor Intermitente	6
Diseño del Reactor	7
Diseño de Reactor	7
Leyes de Velocidad	7
Conversión y Tiempo de Operación	9
Diagrama del Reactor	10
Resultados	10
Conclusiones	11
Bibliografía	12
Anexos	13

Resumen

El presente trabajo se desarrolló con el propósito de diseñar un tipo de reactor adecuado para la producción y obtención de celulosa bacteriana por *Acetobacter xylinum* a base de sustancias orgánicas (glucosa). Actualmente, en el Perú la ingeniería de procesos no es desarrollada como se debe, ya que hay una deficiente participación en el ámbito del sector industrial, esto debido a que en el país la elaboración de diseños y fabricación de equipos industriales tal como los reactores en general es muy escasa, por lo mismo proyectos elaborados en laboratorio que pueden contribuir en el cuidado del medio ambiente, como la obtención de celulosas por bacterias no son llevados a gran escala. Debido a esta problemática este proyecto presenta una alternativa de solución para la obtención de celulosa bacteriana a gran escala; es diseñar el reactor adecuado para la obtención del mismo. En este proyecto se propone diseñar un reactor de tipo "tanque agitado" considerando los lineamientos propuestos para su diseño, como el dimensionamiento, parámetros como el T, P y pH, los materiales adecuados para el correcto funcionamiento del reactor, y demás. Se elige un reactor de tipo tanque agitado batch puesto que presenta un mezclador óptimo y funciona para fluidos como los líquidos y los gases por lo que se da un mayor contacto entre líquido y gas (O₂); por lo mismo el proceso de fermentación que se produce durante la obtención de la celulosa bacteriana por *Acetobacter xylinum* favorece a la buena obtención de la producción total sin dañar a las células presentes.

Palabras clave: celulosa bacteriana, acetobacter xylinum, reactor tanque agitado batch, diseño de reactor.

Abstract

This project was developed with the purpose of designing a type of reactor suitable for the production and obtaining of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* based on organic substances (glucose). Currently, in Peru process engineering is not developed as it should, since there is a deficient participation in the industrial sector, this due to the fact that in the country the design and manufacture of industrial equipment such as reactors in general, it is very scarce, for the same reason projects elaborated in the laboratory that can contribute to the care of the environment, such as the obtaining of celluloses by bacteria are not carried out on a large scale. Due to this problem, this application project presents an alternative solution for obtaining bacterial cellulose on a large scale; is to design the appropriate reactor to obtain it. In this project, it is proposed to design a "stirred tank" type reactor considering the proposed

guidelines for its design, such as sizing, parameters such as volume, the appropriate materials for the correct operation of the reactor, and others. A stirred tank type reactor is chosen since it has an optimal mixer and works for fluids such as liquids and gases, so there is a contact between liquid and gas (O₂); for the same reason, the fermentation process that occurs during the obtaining of bacterial cellulose by *acetobacter xylinum* favors the good obtaining of the total production without damaging the cells present.

Keywords: bacterial cellulose, *acetobacter xylinum*, stirred tank reactor, reactor design.

Introducción

La celulosa bacteriana es un polímero natural que se distingue por su alto grado de cristalinidad y alta pureza generado por bacterias aeróbicas. Estas características fisicoquímicas distinguen a la celulosa bacteriana de la celulosa de origen vegetal, así como también sus propiedades únicas como alta capacidad de retención de agua, grado de polimerización y buena compatibilidad.

Según (M. Moniri, y otros, 2017) La celulosa bacteriana es una forma purificada de celulosa que es producida por varios tipos de especies bacterianas que pertenecen principalmente al género de *Acetobacter*. Entre las bacterias de este género están el *Acetobacter Xylinum*. Comúnmente, el *Acetobacter Xylinum* produce celulosa a partir de la glucosa y la sacarosa como fuentes primarias de carbono. La celulosa bacteriana debido a sus extraordinarias propiedades podría fácilmente servir como biomasa para la producción de diversos productos industriales; tales como en la industria textil, el envasado de alimentos, en la medicina, en la industria del papel y demás aplicaciones; pero para tales producciones se requiere de la selección de un reactor adecuado para su elaboración, en este caso un reactor de tipo tanque agitado es la mejor opción.

Según (Ceballos Camargo , Farías Cepeda , & Rosales Marines , 2016) los reactores de tanque agitado se utilizan debido a que cuentan con el mejor mezclado de las especies reactivas. Estos reactores suelen ser de acero inoxidable, montados sobre un soporte adecuado y carecen de deflectores.

En la actualidad, el concepto de desarrollo sostenible es muy importante por lo que la introducción de la producción de celulosa bacteriana para la elaboración de muchos productos reduciría en mucho el uso de productos que dañan al medio ambiente.

Marco Teórico

La celulosa Bacteriana “CB”, es aquella celulosa formada y secretada por bacterias, preferiblemente en cultivo, por su pureza y estructura altamente cristalina, destaca como fuente alternativa a la de origen vegetal, la síntesis se observa en especies de género, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Zoogloea* y *Gluconacetobacter* (Sague, 2017). Las células bacterianas, que generan mayor rendimiento, son producidas por bacterias del género *gluconobacter xylinus* gram negativas, aerobios estrictos que realizan la oxidación incompleta de diversos azúcares y alcoholes. La CB se produce por síntesis química in vitro, en reactores, en un medio de cultivo y a condiciones de pH 4.0-6.0, temperatura 20- 35°C, 7rpm, inóculo 10% v/v, 4 días de cultivo. (Sague, 2017).

La obtención de CB, se cultiva en medios estáticos o sumergidos que proporcionan agitación y aireación. Una mejor manera de control de síntesis de la CB, puede ser logrado con fermentadores especiales horizontales que proporcionan una combinación entre cultivos sumergidos y estáticos.

El proceso de obtención de la celulosa bacteriana consiste en cuatro fases:

- a. Preparación del inóculo: Realizar la mezcla donde se encuentra presente la bacteria que presenta un 10% del volumen total del reactor.
- b. Medio de cultivo: Preparación del medio del cultivo, según los estudios realizados el sustrato, que genera un buen rendimiento son frutas y vegetales en procesos de descomposición, capaz de producir CB, sobre medios líquidos y sólidos formando una película o nata, sobre la superficie. (Sague, 2017).
- c. Fermentación: Este proceso se realiza en reactores que dura de 1 a 5 días., puede ser mediante vía agitada, estática o combinado. La primera vía mejora la difusión del nutriente al agitar el medio de cultivo e incrementa la solubilidad del oxígeno, puesto que el cultivo agitado reduce hasta 10 veces el tiempo de cultivo, y demasiada aireación es contraproducente debido a que se producen mutantes no productores de celulosa.
- d. Fase IV: Procesado: Esta etapa consta de filtrado que recupera la celulosa, lavado, neutralización, secado a través de un secador, y empaquetado del producto final. (Hongwei Zhao, 2018). El tanque agitado y el Airlift son los más utilizados en fermentaciones biológicas. Para una alta tasa de producción de celulosa bacteriana se requiere una transferencia de oxígeno alta, lo cual lo convierte en un factor importante, aunque eleve el costo energético. (H.Clark, 2015).

Selección del Reactor

Selección del tipo de Reactor - “Producción de Celulosa Bacteriana en Reactor”

Se comprobaron diferentes métodos para la obtención de la Celulosa Bacteriana modificando condiciones, tipos de baterías, un pH que varía de 04 – 06, volumen de reactor y entre otros de esta manera existen numerosos informes científicos publicados en los últimos años con el objetivo de incrementar el rendimiento para hacer rentable la producción de la Celulosa Bacteriana y así tener un producto comercial. Para elegir el tipo de reactor necesitamos considerar lo siguiente; la celulosa bacteriana presenta propiedades fisicoquímicas y mecánicas, tales como:

- Mayor grado de polimerización.
- Mayor absorción de agua.
- Mayor grado de retención.
- Mayor grado de resistencia mecánica en estado húmedo.

Tipos de reactores a considerar:

Reactor Tanque Agitado Batch:

Reactor Intermitente

(CSTR-Batch), Posee un modo de operación por lotes, se usan en la industria de procesos químicos en forma de tanque individual o baterías conectados en serie, pueden escalar matemáticamente con relaciones lineales en lugar de proporciones entre los parámetros de diseño, posee una facilidad de mantener o variar la temperatura, en este caso una temperatura de 28 – 30°C. Se tiene algunas consideraciones para la Producción de Celulosa Bacteriana:

- En lotes presenta mayor conversión. Asimismo, es Perfectamente agitado, La agitación también es favorable cuando es necesario mantener en suspensión un catalizador finamente dividido.
- Es Isotérmico y con estado estable.
- Mantener las condiciones requeridas es fundamental, de ello depende la correcta reacción de la sustancia ya que este puede variar sus propiedades fisicoquímicas a medida varia la temperatura o presión.

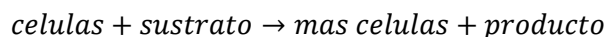
Diseño del Reactor

Diseño de Reactor

En muchos casos el diseño de un reactor está involucrado particularmente a las entradas, salidas, velocidades de reacción, tiempo de residencia de los reactantes por ende los procesos de obtención de celulosa bacteriana contempla una disminución de producción cuando se trata y la que más se adecua a este tipo de procesos es la utilización de reactores de tipo batch donde no va a tener entradas ni salidas, solo va a ver una carga de reactivos además de que se espera hasta que la reacción termine durante cierto periodo de tiempo.

Leyes de Velocidad

Hay muchas leyes para la velocidad de crecimiento celular de nuevas células:



La expresión más empleada es la ecuación de Monod para crecimiento exponencial:

$$r_g = \mu C_c$$

Donde:

r_g = velocidad de crecimiento de la célula $g/dm^3 \cdot s$

C_c = concentración de células, g/dm^3

μ = velocidad de crecimiento específico s^{-1}

La velocidad de crecimiento específico de la célula se puede expresar como

$$\mu = \mu_{max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad s^{-1}$$

Donde

μ_{max} = velocidad de reacción específica de crecimiento máxima s^{-1}

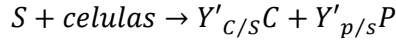
K_s = constante de Monod, g/dm^3

C_s = concentración de sustrato g/dm^3

Al combinar la ecuación 1 y 2 llegamos a la ecuación de Monod para la velocidad de crecimiento de las células bacterianas.

$$r_g = \frac{\mu_{max} C_s C_c}{K_s + C_c}$$

Si es posible distinguir el sustrato (S) consumido en presencia de células para formar nuevas células (C) del sustrato consumido para formar producto (P).



Los coeficientes de rendimiento se pueden escribir como.

$$Y'_{c/s} = \frac{\text{Masa de sustrato consumida para formar nuevas celulas}}{\text{masa de nuevas celulas formada}}$$

$$Y'_{p/s} = \frac{\text{Masa de sustrato consumido para formar producto}}{\text{masa de producto formado}}$$

Utilización de sustrato. Relacionamos la tasa de consumo de nutrimentos $-r_s$ con las velocidades de crecimiento celular, generación de producto y mantenimiento celular. En general, podemos escribir.

$$\begin{bmatrix} \text{tasa neta de} \\ \text{consumo} \\ \text{de sustrato} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{velocidad a} \\ \text{la que es} \\ \text{consumido por} \\ \text{las celulas} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \text{velocidad a} \\ \text{la que es} \\ \text{consumido para} \\ \text{formar producto} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \text{velocidad a} \\ \text{la que es} \\ \text{consumido para} \\ \text{mantenimiento} \end{bmatrix}$$

$$-r_s = Y'_{s/c}r_g + Y'_{s/p}r_p + mC_c$$

Si el producto se sintetiza durante la fase de crecimiento, quizá no sea posible separar la cantidad de sustrato consumida para crecimiento celular de la que se consume para sintetizar producto. en tal caso, todo el sustrato consumido se agrupa en el coeficiente estequiométrico $Y_{s/c}$ y la velocidad de desaparición de sustrato es.

$$-r_s = Y_{s/c}r_g + mC_c$$

La velocidad correspondiente de formación de producto es.

$$r_p = -r_g Y_{p/c}$$

El nutrimento requerido para el crecimiento prácticamente se agota, en tanto se emplea un nutrimento distinto llamado nutrimento secundario, para mantenimiento de la celula y para sintetizar el producto deseado. En este caso la velocidad de formación del producto es:

$$r_p = \frac{k_p C_{sn} C_c}{K_{sn} + C_{sn}}$$

La velocidad neta de consumo de nutrimento secundario durante la fase estacionaria es

$$-r_{sn} = mC_c + Y_{sn/p} r_p \qquad -r_{sn} = mC_c + \frac{Y_{sn/p} k_p C_{sn} C_c}{K_{sn} + C_{sn}}$$

Conversión y Tiempo de Operación

$$[\text{Moles de A que reaccionan}] = [N_{A0}] * [x]$$

el balance molar del reactor intermitente sea o no constante el volumen del reactor está dado por:

$$-\frac{dN_A}{dt} = (-r_{sn})V \quad ; \quad N_{sn} = \text{número de moles A presentes inicialmente}$$

En reactores intermitentes, nos interesa determinar cuánto tiempo se deben dejar los materiales que reaccionan dentro del reactor para alcanzar cierta conversión X, para determinar este tiempo escribimos el balance molar en términos de conversión, por tanto, la ecuación de diseño en forma diferencial es:

$$N_{sn0} \frac{dX}{dt} = -r_{sn}V$$

Para un reactor de volumen constante $V = V_0$

$$\frac{1}{V_0} \frac{dN_{sn}}{dt} = \frac{d(\frac{N_{sn}}{V_0})}{dt} = \frac{dC_{sn}}{dt}$$

$$\frac{dC_{sn}}{dt} = r_{sn}$$

Si queremos determinar el tiempo necesario para alcanzar una conversión específica X, se tiene que separar variables.

$$dt = N_{sn0} \frac{dX}{-r_{sn}V}$$

integrando desde el límite de la reacción en el tiempo cero, momento en el que no hay conversión inicial ($t=0$, $X=0$) se obtiene el tiempo t necesario para lograr una conversión X en un reactor intermitente.

$$t = N_{sno} \int_0^X \frac{dX}{-r_{sn}V}$$

A medida que los materiales que reaccionan permanecen más tiempo en el reactor, la conversión es mayor.

Diagrama del Reactor

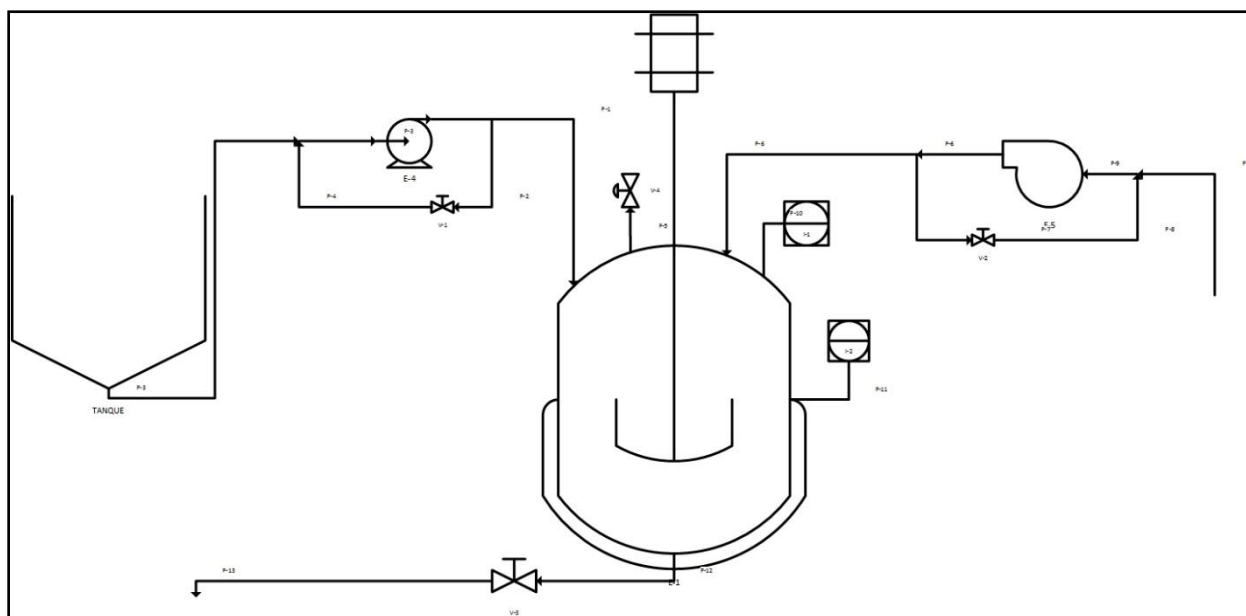


Ilustración 1. Diagrama de Proceso para la Obtención de CB en Reactor Tanque Agitado – Batch (Fuente: Elaboración propia)

Resultados

Para el diseño del biorreactor se utilizó como sustrato para la producción de BC compuestos con un alto contenido de glucosa y a un menor costo económico. Los parámetros de operación que se consideran son óptimos para un mejor rendimiento de la conversión de la glucosa en celulosa bacteriana. Las variables de temperatura se consideran de 30°C porque en este punto las bacterias *xylinum* encuentran un ambiente en el que tienen mayor eficiencia de conversión de glucosa en celulosa, así como también se considera un pH adecuado entre 4 y 5 ya que a menor pH se producen ácidos que dañan las bacterias y a pH más alto o básico las bacterias simplemente no pueden desempeñarse adecuadamente. El sustrato también debe contener bastante carbono orgánico en su mayoría y otros nutrientes para la bacteria *xylinum*, es por eso que se propone utilizar cascara de frutas como la piña manzana y otros el objetivo también es reducir los costos que se pueden ocasionar para la obtención de la materia prima a transformar. Un último parámetro muy importante es el tamaño del reactor el cual no debe significar que a mayor tamaño y mayor cantidad de materia prima (glucosa) se tenga una mayor

producción porque es indispensable que el medio donde se produce la conversión y fermentación esté debidamente oxigenada lo cual es muy dificultoso en un reactor de gran tamaño. La utilización de concentraciones crecientes de glucosa puede conducir a la producción de ácido glucónico, como subproducto durante la biosíntesis de celulosa, lo que resulta en valores de pH decrecientes gradualmente y rendimientos de producción de glucosa a celulosa. Se opta por un biorreactor de tipo Batch de tanque agitado continuo debido a que la agitación permite una uniforme oxigenación en el medio de cultivo como consecuencia un mayor rendimiento en comparación a una producción no agitada el reactor intermitente se emplea para fabricar productos costosos y para procesos difíciles de convertir en operaciones continuas. Para el diseño del reactor se considera en principio un determinado rendimiento el cual influye directamente en el diseño del volumen del reactor, la cantidad de reactores y también la cantidad de materia prima a utilizar (sustrato y bacteria *xylinum*). Para este caso se tomó de referencia algunas investigaciones en el coeficiente del rendimiento de producto sustrato es de 0.44 y en base a eso se considera una conversión que varía alrededor de 34.96% para un volumen de 80 L y concentración de sustrato de 250 g/dm³ de celulosa bacteriana. Una vez planteada la velocidad de reacción se procede a utilizar las ecuaciones ya establecidas en la bibliografía para un biorreactor del tipo tanque agitado continuo, esto con el objetivo de tener un control sobre el proceso de producción y de esta manera las ecuaciones de velocidad y de conversión permiten hacer cálculos de tiempo de residencia del sustrato dentro del reactor, así como el tiempo de carga y descarga.

Conclusiones

- Las celulosas bacterianas (CB) presentan mejores propiedades fisicoquímicas en comparación con las células vegetales, además de que son más favorables para el cuidado del medio ambiente.
- Las células bacterianas Las bacterias que generan un mejor rendimiento de CB son bacterias llamadas *Acetobacter xylinum* pertenecientes al género *Acetobacter*. Los CB son polímeros que se pueden obtener a partir de frutas, cáscaras, de muchos otros alimentos que contengan suficiente glucosa en su estructura, incluso si estas ya estén como residuos.
- El reactor tipo Tanque Agitado – Batch, es la mejor opción para la obtención de celulosa bacteriana, debido a que presenta un extraordinario mezclador y se aplica una vía agitada estática; además de que presenta un mejor rendimiento en comparación a otros reactores.

- La investigación realizada para la producción de CB y la posterior elección del reactor intermitente Batch, trajo consigo analizar el diseño, hallar lo óptimo de la producción por la gran demanda de este producto y su amplia aplicación en la industria comercial.

Bibliografía

- Ceballos Camargo , L. E., Farías Cepeda , L., & Rosales Marines , L. (2016). Problemas y soluciones en el diseño de reactores enzimáticos. *Redalyc.org*.
- M. Moniri, A. Boroumand Moghaddam, S. Azizi, R. Adbul Rahim, A. Bin Ariff, W. Zuhainis Saad, . . . R. Mohamad. (2017). Producción y estado de celulosa bacteriana en ingeniería biomédica. *Science Research*.
- H.Clark, J. (2015). Produccion de celulosa Bacteriana a partir de Desechos Industriales y Corrientes de Subproductos. *International Journal of Molecular Sciences*, 7.
- Hongwei Zhao, J. X. (2018). Production of Bacterial, Cellulose Using Polysacchride Fermentation Wastewater as Inexpensive Nutrient Sources. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 8.
- Nava, M. G. (2016). *Diseño de planta Piloto para Produccion de Celulosa Bacteriana*. Barcelona: ETSEIB.
- Riascos, M. L. (2015). *Determinacion de las Condiciones de Cultivo para la Produccion de Celulosa por la Bacteria Nativa*. Medellin: Maestria en Biotecnologias.
- Sague, L. (2017). Metodo para LA Regeneracion de Tejidos Vegetales Dañados Mediante Celulosa Bacteriana. *WIPO/PCT.Organizacion Mundial de la Propiedad Intelectual*, 36.
- H. SCOTT FOGLER (2008). Ecuaciones de diseño para reactores de flujo - Elementos de Ingeniería de las Reacciones químicas (4° edición)

Anexos

Fermentador	Método de cultivo	Fuente de carbono	Tasa de producción
Frasco Agitado	Batch	Glucosa	0,08 g/L·h
Tanque agitado	Continuo	Fructosa	0,95 g/L·h
Reactor	Fed-Batch	Glucosa	0,31 g/L·h
Reactor	Fed-Batch	Molasa	0,11 g/L·h
Reactor	Batch	Fructosa	0,074 g/L·h
Reactor	Batch	Fructosa	0,20 g/L·h
Reactor Airlift	Batch	Fructosa	0,20 g/L·h
Reactor Airlift	Batch	Fructosa con agar	0,20 g/L·h
Disco rotatorio	Batch	Glucosa	0,02 g/L·h

Tabla 1. Cuadro Comparativo de Producción de CB Bajo Distintas Condiciones de Cultivo (Extraído Diseño de Planta Piloto para Producción de Celulosa Bacteriana – María Guinea Nava (2016)).