



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA

**DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN
HIDRODINÁMICA DE UN BIORREACTOR MULTIFUNCIONAL**

**TESIS:
PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ELIANE GUEVARA LÓPEZ

DIRECTORES DE TESIS:

**M.C. VANIA SHUHUA ROBLES GONZÁLEZ
M.C. JOSÉ HUMBERTO CASTAÑÓN GONZÁLEZ**

HUAJUAPAN DE LEÓN, OAX. DICIEMBRE DE 2004

RESUMEN:

Ante la falta de un biorreactor que pudiera proveer versatilidad de condiciones para el desarrollo de diversos procesos biotecnológicos, se diseñó y construyó una columna de vidrio de 9.8 cm por 54.3 cm, con un difusor de placa porosa en la base. Se elaboraron *baffles* de teflón y acrílico adaptables al reactor para ser operado como *airlift* y un agitador de acero inoxidable con dos motores a velocidades de 43 y 307 rpm, para utilizarse como Reactor Agitado Mecánicamente (RAM). Se caracterizó hidrodinámica determinando para las tres configuraciones el tiempo de mezclado (t_m) empleando un método visual. Para la columna de burbujeo y el *airlift* se determinó el coeficiente de retención de gas (E_g) como una relación de alturas; el diámetro de burbuja (d_{bms}) con la toma de fotografías y la ecuación de Sauter y el área interfacial de contacto gas-líquido (a') con la expresión de Calderbank. Para el *airlift* se determinó la velocidad de circulación del líquido utilizando marcadores de papel colocados en el fluido. El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}) se determinó teóricamente empleando las ecuaciones de Akita y Yoshida, Calderbank y Bousinesq para la columna de burbujeo y las de Bello y col. para el *airlift* y experimentalmente en la columna de burbujeo empleando un medidor de oxígeno disuelto. En ambas configuraciones se introdujo aire a velocidades de 1 a 8 LPM con incrementos de 1.0 LPM. Los volúmenes de operación fueron de 1.0 a 3.5 L en intervalos de 0.5 L para la columna de burbujeo, 2.9 L en el *airlift* y 1.0 L en el RAM. Los resultados se analizaron estadísticamente con diseños bifactoriales. Los t_m y k_{La} en la columna de burbujeo y el *airlift* variaron en función de las velocidades superficiales del gas (U_{GR}) y volúmenes de operación, resultado valores más altos en el caso del *airlift* debido a la recirculación del líquido. La medición del k_{La} experimental en la columna de burbujeo arrojó valores muy dispersos por la falta de homogeneidad del difusor, por lo que no se pudo establecer una relación en función de U_{GR} . En la configuración RAM el t_m disminuyó al aumentarse la velocidad de agitación, con la desventaja de la formación de vortex.

A mis Padres y Hermanos

AGRADECIMIENTOS

A mis Padres y Hermanos por todo el cariño y confianza que depositaron en mí durante la realización de mis estudios.

A mis asesores M.C. Vania Shuhua Robles González y José Humberto Castañón González por todo el apoyo que me brindaron en la elaboración de la tesis.

Al M.C. Víctor Manuel Cruz Martínez por la ayuda prestada en el diseño y construcción del reactor.

A la Universidad Tecnológica de la Mixteca por el apoyo económico prestado, sin el cual no hubiera sido posible la realización de éste trabajo.

A mis profesores, que durante cinco años compartieron sus conocimientos conmigo.

A mis compañeros, quienes no sólo fueron el mejor equipo de trabajo durante la carrera, sino también unos grandes amigos que me brindaron su apoyo y confianza.

INDICE

	Página
Resumen	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice.....	v
Índice de figuras	vii
Índice de Gráficas.....	ix
Índice de Cuadros	xi
Índice de Fotos.....	xii
Lista de símbolos.....	xiv
Lista de abreviaturas	xv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Modo de operación de los biorreactores.....	3
2.2. Tipos de reactores biológicos	5
2.2.1. Reactores con Agitación Mecánica (RAM)	5
2.2.1.1 Agitación	8
2.2.1.1.1. Agitadores rotativos.....	8

2.2.2. Torres de Contacto Gas-Líquido (TCGL)	11
2.2.2.1. Columnas de burbujeo	11
2.2.2.2. Biorreactores <i>airlift</i>	12
2.3. Dispositivos internos en biorreactores	14
2.3.1. <i>Baffles</i>	14
2.4. Transferencia de oxígeno	15
3. HIPÓTESIS	20
4. OBJETIVOS	21
4.1. Objetivo general	21
4.2. Objetivos específicos.....	21
5. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1. Materiales	22
5.2. Métodos.....	23
5.2.1. Metodología del diseño.....	23
5.2.2. Caracterización hidrodinámica	39
5.2.2.1. Determinación del tiempo terminal de mezclado (t_m).....	39
5.2.2.2. Determinación del coeficiente de retención de gas (E_g)	40
5.2.2.3. Determinación del diámetro de burbuja (d_{bms})	40
5.2.2.4. Determinación del área interfacial de contacto gas-líquido (a')	41
5.2.2.5. Velocidad de circulación del fluido.....	42
5.2.2.6. Determinación teórica del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$).....	46
5.2.2.7. Determinación experimental del $k_L a$	46
5.2.2.8. Análisis estadístico de los resultados	47

6. RESULTADOS	48
6.1. Caracterización de la columna de burbujeo.....	48
6.1.1. Tiempo terminal de mezclado (t_m)	48
6.1.2. Coeficiente de retención de gas (E_g)	49
6.1.3. Diámetro de burbuja medio de Sauter (d_{bms}).....	50
6.1.4. Área interfacial de contacto gas-líquido (a').....	52
6.1.5. Determinación teórica del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) para la columna de burbujeo	53
6.1.6. Determinación experimental del $k_L a$ en la columna de burbujeo	57
6.2. Caracterización del reactor <i>airlift</i>	58
6.2.1. Tiempo terminal de mezclado (t_m)	59
6.2.2. Coeficiente de retención de gas (E_g)	60
6.2.3. Diámetro de burbuja medio de Sauter (d_{bms}).....	61
6.2.4. Área interfacial de contacto gas-líquido (a').....	62
6.2.5. Velocidad de circulación del fluido.....	63
6.2.6. Determinación teórica del $k_L a$ para el reactor airlift	64
6.3. Caracterización hidrodinámica del reactor agitado mecánicamente.....	66
6.3.1. Determinación del tiempo terminal de mezclado (t_m).....	66
7. CONCLUSIONES.....	68
8. PERSPECTIVAS	69
BIBLIOGRAFÍA.....	70
APÉNDICE A. CONCENTRACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUA DESTILADA SATURADA DE AIRE.....	75
APÉNDICE B. MANUAL DE ARMADO DEL EQUIPO	76

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Fermentador de agitación mecánica con circulación interna	6
2. Fermentador de agitación mecánica sin circulación interna.....	7
3. Diferentes móviles de agitación	9
4. Columnas de burbujeo: a) Diseño básico, b) Columna con <i>baffles</i> perforados horizontales, c) columna con <i>baffles</i> verticales y d) Columna con relleno de láminas corrugadas para la dispersión del gas.....	11
5. Principales configuraciones de reactores <i>airlift</i> . ALTC (<i>Airlift</i> de Tubos Concéntricos), ALL (<i>Airlift</i> de recirculación externa) y SCAL (<i>Airlift</i> de Cilindro Seccionado).....	13
6. Pasos que integran la metodología del diseño.....	23
7. Columna de burbujeo.....	28
8. Vistas frontal y superior de la tapa del biorreactor	29
9. Base del biorreactor con el difusor de placa filtrante.....	30
10. Biorreactor en la configuración <i>airlift</i>	31
11. Vistas frontal, lateral y superior de los <i>baffles</i> para la obtención de la configuración <i>airlift</i>	32
12. Propuesta para el diseño del Reactor Agitado Mecánicamente.....	33
13. Agitador de acero inoxidable para la configuración RAM.....	34
14. Vistas superior y frontal de las bridas de unión para el biorreactor.....	35

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Página
1. Tiempo terminal de mezclado (t_m) para la columna de burbujeo en función de la velocidad superficial del gas (U_{GR}) y a distintos volúmenes de operación V_l	48
2. Coeficiente de retención de gas (E_g) para la columna de burbujeo en función de U_{GR} , a distintos valores de V_l	49
3. Diámetro de burbuja (d_{bms}) en la columna de burbujeo en función de U_{GR}	51
4. Área interfacial de contacto gas-líquido (a') en función de U_{GR} a distintos V_l para la columna de burbujeo.....	52
5. $k_L a$ teórico para la columna de burbujeo en función de U_{GR} , utilizando la ecuación de Akita y Yoshida 1, sustituyendo E_g por los valores experimentales obtenidos.....	53
6. $k_L a$ teórico en función de U_{GR} utilizando la ecuación de Akita y Yoshida 2, sustituyendo a' y d_{bms} por los valores experimentales obtenidos para la columna de burbujeo.....	54
7. $k_L a$ teórico para la columna de burbujeo en función de U_{GR} utilizando la ecuación de Calderbank ₁ , sustituyendo a' por los valores experimentales obtenidos.....	55
8. $k_L a$ teórico en función de U_{GR} utilizando la ecuación de Bousinesq, sustituyendo E_g y a' por los valores experimentales obtenidos para la columna de burbujeo.....	56
9. $k_L a$ experimental para la columna de burbujeo.....	58
10. Tiempo terminal de mezclado (t_m) para la configuración <i>airlift</i> en función de la velocidad superficial del gas (U_{GR}).....	59
11. Coeficiente de retención de gas (E_g) en función de U_{GR} para la configuración <i>airlift</i>	60
12. Diámetro de burbuja (d_{bms}) en función de U_{GR} para la configuración <i>airlift</i>	61
13. Área interfacial de contacto gas-líquido (a') para el reactor <i>airlift</i> en función de U_{GR}	62

14. Velocidad de circulación en el ducto aireado (v_{lr}) y en el ducto de retorno (v_{ld}) en función de U_{GR} en la configuración <i>airlift</i>	63
15. $k_L a$ teórico en función de U_{GR} para la configuración <i>airlift</i> utilizando la ecuación (9) de Bello y col	64
16. $k_L a$ teórico para la configuración <i>airlift</i> en función de U_{GR} , utilizando la ecuación (10) de Bello y col. que relaciona presiones, volumen y altura del líquido.....	65

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Características principales de los RAM, columnas de burbujeo y biorreactores <i>airlift</i>	25
2. Fórmulas para el cálculo de los números de Bo y Ga	44
3. $k_L a$ teóricos para la columna de burbujeo con un volumen de 3.5 L	56
4. Tiempo terminal de mezclado (s) para la configuración RAM	66
A-1. Concentración de OD (mg/L) en agua destilada saturada de aire a distintos valores de temperatura (°C) y presión (mm de Hg).....	75

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Foto	Página
1. Columna de burbujeo armada con las bridas.....	36
2. Biorreactor <i>airlift</i> con los <i>baffles</i> de teflón	37
3. Agitador de paleta para la configuración RAM.....	38
4. Diámetros de burbuja a 1 LPM de aire.....	50
5. Partes principales en el armado del reactor.....	77
6. Piezas para el armado de la configuración <i>airlift</i>	77
7. Rotámetro sujeto al soporte universal.....	78
8. Empaques de neopreno y grasa silicón	78
9. Empaques de neopreno unidos a la base del reactor.....	79
10. Base unida al cuerpo.....	79
11. Bridas C y D unidas.....	80
12. Ajuste de los tornillos para fijar la base al cuerpo.....	80
13. Tapa unida al cuerpo.....	81
14. Unión y ajuste de bridas A y B	81
15. Manguera superior del rotámetro	82
16. Introducción de la manguera de aire en el reactor.....	82
17. Manguera inferior del rotámetro	83

18. Manguera inferior del rotámetro conectada a la toma de aire del laboratorio	83
19. Uso de trozos de manguera y pinzas de plástico para bloquear las salidas del reactor sin uso	84
20. Reactor armado y unido al rotámetro	84
21. Placas sobre los <i>baffles</i>	85
22. Introducción y ajuste de los tornillos en <i>baffles</i>	86
23. <i>Baffle</i> con placas y tornillos	86
24. Introducción de las placas para unión del segundo <i>baffle</i>	87
25. Unión y ajuste de los dos <i>baffles</i>	87
26. Saliente de los <i>baffles</i> en la parte inferior del reactor	88
27. Ajuste de los <i>baffles</i> en el reactor	88

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Relación entre la cabeza hidrostática máxima y la presión en la parte superior del reactor (adim)
μ	Viscosidad dinámica (g/cm s)
ρ_g	Densidad del gas (Kg/m ³)
ρ_l	Densidad del líquido (g/cm ³)
τ	Tensión superficial (g/s ²)

LISTA DE ABREVIATURAS

adim	Adimensional
ALL	<i>Airlift</i> de Recirculación Externa
ALTC	<i>Airlift</i> de Tubos Concéntricos
a'	Área interfacial de contacto gas-líquido (cm^{-1})
A_d	Área seccional del <i>downcomer</i> (cm^2)
A_r	Área seccional del <i>riser</i> (cm^2)
Bo	Número de Bond (adim)
C_L	Concentración de oxígeno disuelto en la fase líquida (mmol/L)
C^*	Concentración de oxígeno disuelto en equilibrio con la presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa (mmol/L)
D	Difusividad del oxígeno en agua (cm^2/s)
d_b	Diámetro de burbuja (cm)
d_{bi}	Valor del diámetro de las burbujas (cm)
d_{bms}	Diámetro de burbuja medio de Sauter (cm)
D_r	Diámetro del reactor (cm)
E_g	Coefficiente de retención de gas
g	Constante gravitacional (cm/s^2)
Ga	Número de Galileo (adim)
H_l	Altura del líquido (mm)
H_{lg}	Altura de la mezcla gas-líquido (mm)

K_G	Coeficiente global de transferencia de masa con relación a la película gaseosa (cm/h)
k_L	Coeficiente global de transferencia de masa con relación a la película líquida (cm/h)
$k_L a$	Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (h^{-1})
LPM	Litros por minuto
n_i	Número de veces que se presenta un diámetro determinado
OD	Oxígeno Disuelto
p	Presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa (atm)
p^*	Presión parcial de oxígeno en equilibrio con la concentración de oxígeno disuelto en la fase líquida (atm)
P_{atm}	Presión atmosférica (atm)
P_g	Consumo de potencia (watts)
P_{in}	Presión interna (atm)
P_{top}	Presión en la superficie del líquido (atm)
Q_g	Gasto volumétrico de aire (m^3/s)
R	Constante general de los gases (J/kmol K)
RAM	Reactor Agitado Mecánicamente
rpm	Revoluciones por minuto
Sc	Número de Schmidt (adim)
SCAL	<i>Airlift</i> de Cilindro Seccionado
t	Tiempo (s)
T	Temperatura absoluta (K)

TCGL	Torres de Contacto Gas-Líquido
t_m	Tiempo terminal de mezclado (s)
U_{GR}	Velocidad superficial del gas (cm/s)
v_b	Velocidad de ascenso de las burbujas (cm/s)
ν_c	Viscosidad cinemática (cm ² /s)
V_l	Volumen del líquido (L)
v_{lr}	Velocidad lineal de circulación del líquido en la zona de ascenso (cm/s)
v_{ld}	Velocidad lineal de circulación del líquido en la zona de descenso (cm/s)

1. INTRODUCCIÓN.

Durante la Primera Guerra Mundial (1914-1918) se desarrolló un proceso para la producción de acetona por fermentación; posteriormente (años 30's) comenzaron a emplearse fermentadores aeróbicos a gran escala para la producción de levadura comprimida (Stanbury y Whitaker, 1984). De la Segunda Guerra Mundial hasta cerca de 1960 la mayor parte de los productos obtenidos fueron antibióticos, entre ellos la penicilina. En los años siguientes se desarrollaron transformaciones químicas de esteroides, cultivo de células animales, así como procesos para la producción de aminoácidos; además, se perfeccionaron la obtención e inmovilización de enzimas y células y la producción de proteína unicelular de levaduras y bacterias para la alimentación animal y humana. En 1982, se introdujo la insulina humana e inició la producción de etanol por células inmovilizadas, enzimas, alta fructosa, aspartame y anticuerpos (Crueger y Crueger, 1989).

Un biorreactor es un equipo en el que se pueden realizar reacciones bioquímicas para convertir cualquier sustrato en un producto de utilidad por la acción de biocatalizadores (enzimas, células o estructuras subcelulares) (Chisti y Moo-Young, 2002). Los biorreactores se emplean en la manufactura de productos comerciales como metabolitos primarios (ácido acético, acetona, alcohol, ácidos orgánicos, aminoácidos, vitaminas y polisacáridos); metabolitos secundarios (antibióticos); enzimas industriales; cultivo de células (biomasa) y tratamiento de aguas residuales (Chisti, 1989; Smith, 1996). Cuando hay producción de células se conocen como fermentadores. El sustrato puede ser un químico orgánico, inorgánico o un material complejo no purificado como carne o estiércol (Chisti y Moo-Young, 2002).

Con el transcurso del tiempo se han diseñado distintos tipos de biorreactores; como los agitados mecánicamente (agitador movido por un motor), de agitación neumática (aire u otro gas), reactores para cultivo con células inmovilizadas

(lecho fijo o fluidizado) y algunos que combinan características de distintos diseños, como los de agitación mecánica con suministro de aire y recientemente reactores *airlift* (de agitación neumática) con agitadores mecánicos (Chisti y Jauregui-Hazza, 2002). Todos estos diseños tienen como fin mejorar las condiciones de cultivo, sobre todo la transferencia de oxígeno (factor limitante del crecimiento en microorganismos aerobios).

Para conocer las características de funcionamiento de los reactores se determinan los principales parámetros (tiempo de mezclado, coeficiente de retención de gas, diámetro de burbuja, área interfacial de contacto gas-líquido, y coeficiente de transferencia de oxígeno) operando el reactor bajo ciertas condiciones, con determinados medios y sustratos (caracterización), dependiendo del uso que se le pretende dar. En muchos de los casos para obtener datos que brinden un panorama general del funcionamiento del reactor, éste se evalúa operando con agua destilada (caracterización hidrodinámica).

El fin de éste trabajo fue diseñar y construir un reactor que pueda operar de distintas formas (biorreactor multifuncional) a fin de obtener condiciones variadas de mezclado y transferencia de oxígeno, y que permita trabajar un mayor número de sustratos y/o biocatalizadores. Se pretende que dicho diseño tenga aplicaciones en distintos procesos, como el desarrollo de productos fermentados y apoyo para investigaciones biotecnológicas.

Se caracterizó hidrodinámicamente el biorreactor en cada una de sus configuraciones, de tal forma que permitiera el análisis de los parámetros principales, como tiempo de mezclado y coeficiente de transferencia de oxígeno, para la elección de la variante adecuada (columna de burbujeo, *airlift* o reactor agitado mecánicamente) de acuerdo a los biocatalizadores y sustratos que se van a emplear, así como los productos que se quieran obtener.

2. ANTECEDENTES.

En la mayoría de los bioprocesos las células y los biocatalizadores están sumergidos y suspendidos en un medio en el que pueden mantenerse activos, permitiendo a la vez, la solubilidad de los sustratos (Chisti y Moo-Young, 2002).

El funcionamiento óptimo de cualquier biorreactor depende de diferentes factores entre los que se encuentran (Scragg, 1997):

- La concentración de biomasa que debe permanecer alta para que las transformaciones bioquímicas puedan efectuarse con mayor eficiencia.
- Una adecuada transferencia de oxígeno que permitirá el crecimiento de los microorganismos aerobios (Chisti, 1989).
- El mantenimiento de las condiciones estériles para evitar contaminaciones en el medio de cultivo.
- Agitación efectiva para que la distribución de los sustratos y microorganismos en el reactor sea uniforme.
- Eliminación del calor que se produce por la agitación mecánica o por el mismo crecimiento microbiano y que puede afectar el desarrollo del cultivo.
- Creación de las condiciones correctas de corte ya que las velocidades elevadas pueden ser dañinas para el microorganismo, pero las bajas también pueden ser indeseables debido a la floculación o al crecimiento de biomasa sobre la pared del reactor y sobre el agitador, lo cual provocará heterogeneidad en el sistema.

2.1. Modo de operación de los biorreactores.

Existen distintas formas de operación en los reactores que influyen en el resultado de la fermentación (Shügerl, 1987; Chisti y Moo-Young, 2002):

- a. Operación discontinua o por lotes. Se inicia con la inoculación de un medio preesterilizado dentro de un reactor que ofrezca un buen mezclado. Existe un periodo específico de reacción durante el cual la composición del medio cambia a medida que los nutrientes se consumen para producir biomasa y metabolitos. El volumen del medio permanece prácticamente constante, exceptuando pérdidas mínimas por evaporación. La principal ventaja de este sistema es su bajo costo y es útil cuando los niveles de producción son pequeños.

- b. Operación continua. La fermentación empieza como en el cultivo por lotes y cambia a una alimentación continua cuando se ha obtenido una concentración adecuada de biomasa. La velocidad de alimentación es constante y el volumen del medio no cambia, ya que los productos se obtienen a la misma velocidad de alimentación. Se llega a una concentración constante sin importar el tiempo y la posición en el biorreactor. Las principales ventajas son el alto grado de mecanización y automatización que lo hacen útil para la producción a gran escala.

- c. Operaciones semi-continuas o *fed-batch*. Puede considerarse una combinación de las dos operaciones anteriores, en este caso el biorreactor trabaja por lotes durante un tiempo y cuando el sustrato limitante del crecimiento es agotado el fermentador es alimentado nuevamente, por lo que el volumen del medio se incrementa con el tiempo. El medio se obtiene al final del período establecido del proceso. Éste sistema presenta un alto nivel de flexibilidad, ya que para satisfacer la demanda de un crecimiento exponencial en la población celular sólo debe aumentarse la velocidad de alimentación sin necesidad de vaciar completamente el reactor, los biocatalizadores presentes en el volumen que se deja como base en el reactor pueden servir para mantener la conversión de los sustratos que se están alimentando (Ordaz y col, 2004).

2.2. Tipos de reactores biológicos.

Existen diferentes tipos de fermentadores que permiten una amplia diversidad de usos, algunos se utilizan en la fabricación de productos fermentados como son vinos, cervezas, quesos, etc. (Scragg, 1997).

Existen biorreactores que utilizan agitación mecánica (Reactores Agitados Mecánicamente ó RAM); algunos que aprovechan el aire suministrado con fines de mezclado (reactores con agitación neumática) como son las columnas de burbujeo o los reactores *airlift*, los que utilizan el bombeo de parte del mismo medio para el mezclado (biorreactores de chorro) y otros que se utilizan para el cultivo de células o enzimas inmovilizadas, como los reactores de lecho fijo, lecho fluidizado, con microportador y los de membrana. De todos éstos los más comunes son los RAM, las columnas de burbujeo y los reactores *airlift*.

2.2.1. Reactores con Agitación Mecánica (RAM).

Son tanques cilíndricos con un motor que mueve una flecha central, la cual soporta uno o más agitadores. Generalmente, se le colocan cuatro *baffles* a la misma distancia del centro alrededor de la periferia del tanque (Chisti y Moo-Young, 2002). Es el fermentador más comúnmente utilizado, su diseño data de los años 40's, durante la Segunda Guerra Mundial. Tiene gran aplicación en la industria farmacéutica por ser económico (Crueger y Crueger, 1989; Scragg, 1997).

La relación altura/diámetro es entre tres y cinco, excepto en el cultivo de células animales donde, normalmente, no excede de dos y se utilizan reactores sin *baffles* (Chisti y Moo-Young, 2002). El agitador puede ser introducido por arriba o por el fondo del tanque siempre que se cuente con un sello hermético.

En el laboratorio, los recipientes con volúmenes de hasta 20 L son elaborados de vidrio y para volúmenes mayores de acero inoxidable (Crueger y Crueger, 1989; Scragg, 1997). Pueden ser con o sin recirculación interna.

En los **biorreactores con recirculación interna** (Fig. 1), se utiliza un cilindro (tubo de circulación) en el interior del tanque en el cual el líquido de fermentación se introduce por la parte superior y sale por la parte inferior; el fluido en movimiento arrastra las burbujas de gas, mejorando la transferencia de oxígeno. La desventaja de este tipo de biorreactor es que no se pueden utilizar en el cultivo de organismos filamentosos los cuales no soportan grandes fuerzas de corte (Scriban, 1985).

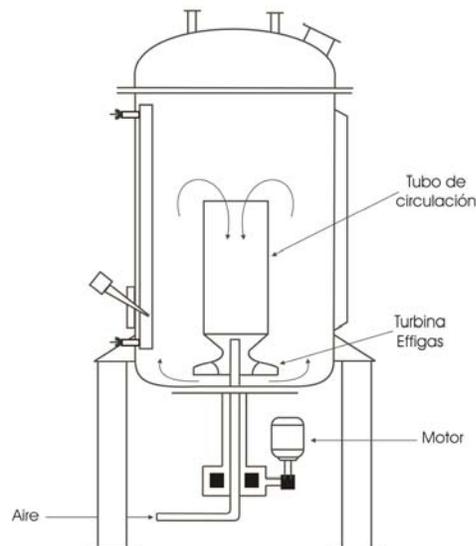


Fig. 1. Fermentador de agitación mecánica con circulación interna. Tomado de Scriban, 1985.

Los **biorreactores sin circulación interna** (Fig. 2), son convenientes para la producción de antibióticos, por tratarse, generalmente, de procesos exotérmicos que utilizan microorganismos filamentosos relativamente frágiles y sensibles a la acción de corte y cuyas necesidades de oxígeno no son muy grandes. Para reducir el efecto de corte, la velocidad de rotación del agitador es de 50-60 rpm, que además, asegura la transferencia del oxígeno que los microorganismos necesitan (Scriban, 1985).

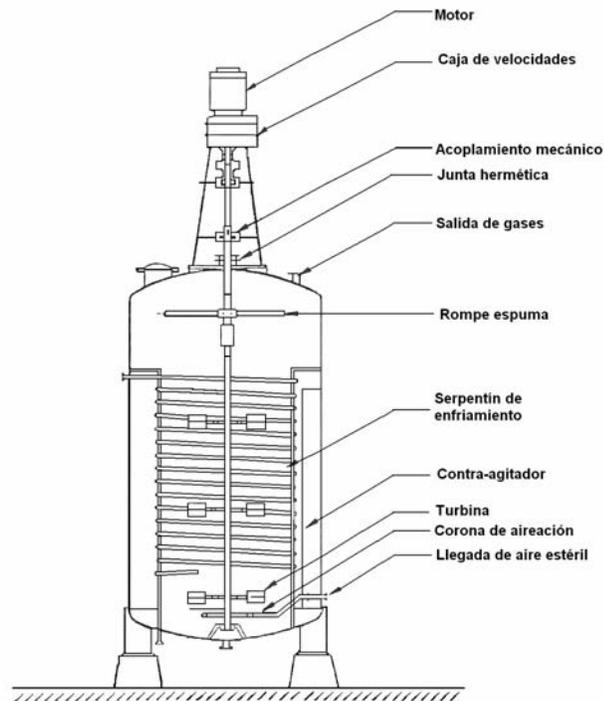


Fig. 2. Fermentador de agitación mecánica sin circulación interna. Tomado de Scriban, 1985.

Algunos procesos microbiológicos tienen una demanda elevada de oxígeno, por lo que son más exotérmicos, como sucede en el caso de la producción de biomasa microbiana. Para eliminar el calor que se produce durante la fermentación se pueden utilizar serpentines o dobles cubiertas y, en algunos casos, se realiza el enfriamiento del fluido en un intercambiador de calor externo al biorreactor, sin embargo, estos equipos resultan difíciles de limpiar, el fluido de fermentación arrastra una gran cantidad de partículas en suspensión, y durante el intercambio térmico el cultivo no es aireado; por lo que se prefiere el enfriamiento *in situ* (Scriban, 1985).

2.2.1.1. Agitación.

La agitación ayuda a que las distintas fases presentes en el fermentador entren en contacto; además favorece los intercambios térmicos al crear turbulencia. En algunos biorreactores la agitación se logra, únicamente, con la introducción de un gas de oxigenación mientras que en otros se consigue mecánicamente utilizando agitadores.

Existen diferentes tipos de agitadores cuyas finalidades son (Scragg, 1997):

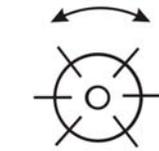
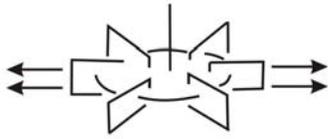
- Dispersar el aire en la solución de nutrientes.
- Obtener una temperatura y una concentración de nutrientes uniforme en todo el recipiente.
- Suspender los microorganismos y nutrientes sólidos.
- Dispersar los líquidos inmiscibles presentes.

El número de agitadores depende de la relación altura/diámetro del contenedor. El agitador inferior está localizado, aproximadamente, a 1/3 del diámetro del tanque sobre el fondo (Chisti y Moo-Young, 2002).

2.2.1.1.1. Agitadores rotativos.

Son los más comúnmente utilizados en fermentaciones. El mezclado de las fases se debe al movimiento de rotación de un móvil de agitación, unido a un eje conectado a un motor eléctrico (Scriban, 1985).

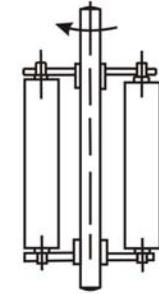
Móviles de agitación de gasto radial



Turbina Rushton



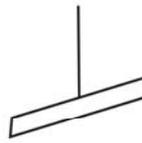
Turbina de paletas encorvadas



Agitador Spin

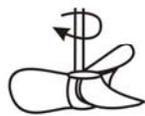


Agitador de ancla

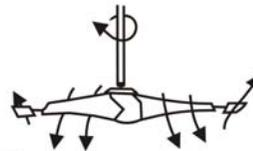


Paleta

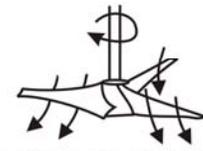
Móviles de agitación de gasto axial



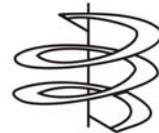
Hélice marina



Hélice de doble flujo

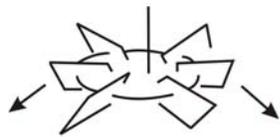


Hélice de grandes paletas delgadas



Agitador de cinta helicoidal

Móvil de agitación con gasto radial y axial



Turbina con paletas inclinadas

Fig. 3. (Scriban, 1985) Diferentes móviles de agitación.

Entre este tipo de agitadores se encuentran (Fig. 3): los móviles de agitación de gasto radial (las turbinas Rushton y de paletas encorvadas, los agitadores *Spin*, de ancla y la paleta), los de gasto axial (las hélices marina, de

doble flujo y de grandes paletas delgadas y el agitador de cinta helicoidal) y los de gasto radial y axial (la turbina con paletas inclinadas) (Scriban, 1985).

La **turbina de Rushton** es el tipo de agitador más empleado, consta de varias paletas sujetas a un eje central (4, 6 u 8) y el diámetro de ésta, es normalmente entre el 30 y el 50% del diámetro del tanque. Se utiliza para la agitación de líquidos viscosos. La acción de corte de este tipo de agitador facilita la transferencia de oxígeno al disminuir la coalescencia de las burbujas (Scriban, 1985; Fieldson, 1988a; Scragg, 1997).

Generalmente se colocan a una distancia de un cuarto del diámetro del tanque, para evitar el asentamiento de sólidos en el fondo del recipiente y mantener una distribución uniforme (Scragg, 1997).

Las **turbinas de paletas curvas** producen el mismo tipo de acción que las **Rushton**; cuando la viscosidad del fluido que se agita aumenta, como en el caso de algunas fermentaciones (antibióticos, polisacáridos) se utilizan agitadores de régimen radial, como el **de paletas grandes, rectangulares** o los **de ancla**; el **agitador “Spin”** deriva de este último tipo y está constituido por cuatro paletas verticales dispuestas en soportes perpendiculares con libertad de rotación sobre ellas mismas, en el curso de la fermentación su posición angular es ajustada automáticamente a una en la que se logre el menor consumo de energía posible; con este tipo de agitador se logra reducir el tiempo de mezclado de medios con viscosidad elevada y, además, permite una buena transferencia de oxígeno. Las **hélices de paletas grandes delgadas** se utilizan para fluidos viscosos ya que pueden utilizarse junto con un agitador de régimen radial (**turbina Rushton**) ambas colocadas sobre el mismo eje (Scriban, 1985).

2.2.2. Torres de Contacto Gas-Líquido (TCGL).

En éstas quedan comprendidos las columnas de burbujeo y los reactores *airlift*, que utilizan la agitación neumática y resultan más económicas que los reactores con agitación mecánica; sin embargo, se obtienen valores inferiores del coeficiente global de transferencia de oxígeno ($k_{L,a}$). Son de los reactores más utilizados, sobre todo en el tratamiento de aguas residuales, por su diseño sencillo y la economía de operación (Castañón, 1999). Al no utilizar agitación mecánica, no se genera el calor que se presenta en los RAM, por lo que no es necesario el uso de sistemas de enfriamiento.

2.2.2.1. Columnas de burbujeo.

Son recipientes cilíndricos que usualmente tienen una relación altura/diámetro entre 4 y 6. En éstas el gas es asperjado por la base del reactor a través de tubos perforados, placas perforadas o difusores de metal o vidrio microporoso. El diseño básico puede ser modificado por adición de otros dispositivos internos como placas perforadas horizontales, *baffles* verticales o relleno de láminas corrugadas (Fig. 4) (Chisti y Moo-Young, 2002).

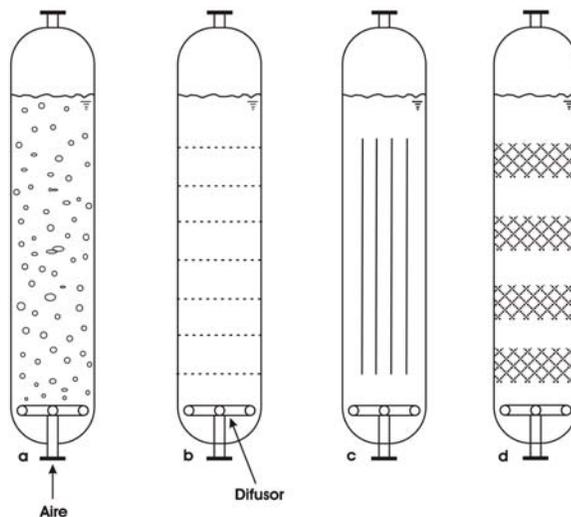


Fig. 4 Columnas de burbujeo: a) Diseño básico, b) Columna con *baffles* perforados horizontales, c) columna con *baffles* verticales y d) Columna con relleno de láminas corrugadas para la dispersión del gas (Tomado de Chisti y Moo-Young, 2002).

La transferencia de oxígeno, mezclado y otros factores del funcionamiento son influenciados principalmente por la velocidad superficial del gas y las propiedades del fluido. El diámetro de la columna no afecta su funcionamiento cuando el diámetro excede 0.1 m, exceptuando el perfil de mezclado que mejora con el incremento de éste. La transferencia de masa y calor mejoran con el incremento en la velocidad de flujo de gas (Chisti y Moo-Young, 2002).

Son útiles para procesos microbiológicos que no requieren una transferencia de oxígeno importante, como en el cultivo de células vegetales. Se han utilizado en la industria química por su, relativamente, bajo costo de capital, configuración simple y reducidos costos de operación debido a los bajos requerimientos energéticos. También se han usado para la producción de vinagre y cerveza en gran escala (Scriban, 1985; Bailey y Ollis, 1996).

2.2.2.2. Biorreactores *airlift*.

Poseen recirculación y son conocidos, también, como biorreactores de elevación con aire o en rizo (Scriban, 1985). Consisten en un tanque dividido en dos zonas interconectadas, principalmente por un *baffle* o un tubo de draft. Sólo una región es asperjada con gas y es conocida como ascendente o *riser*, la otra zona se nombra descendente o *downcomer*. La división en dos zonas conduce a una diferencia de densidades en el fluido entre ambas regiones, tendiendo a ser menor en el caso del *riser*, con lo que se origina la recirculación del medio en el reactor (Verlaan, Vos y van't Riet., 1988; Chisti, 1997; López, 1997; Chisti y Moo-Young, 2002). La separación en dos zonas hace que sean más efectivos en la suspensión de células y en la transferencia de oxígeno que las columnas de burbujeo (Chisti y Moo-Young, 2002).

Los biorreactores *airlift* pueden ser de circulación interna o externa (Fig. 5). Los primeros poseen un tubo colocado en el interior del tanque, que delimita las dos zonas (*Airlift* de Tubos Concéntricos, ALTC) o puede estar seccionado

verticalmente por un *baffle* (*Airlift* de Cilindro Seccionado o *Split Cylinder Airlift*, SCAL) (Scriban 1985; López, 1997). En la Fig. 5 se muestran las vistas superiores de las distintas configuraciones de reactores *airlift*.

Por lo general, la cantidad de aire necesario para la reacción biológica es suficiente para actuar como la única fuente de movimiento del líquido (Scragg, 1997). En los reactores con recirculación externa (*Airlift Loop*, ALL) los tubos de ascenso y descenso están separados (Scriban, 1985; López, 1997).

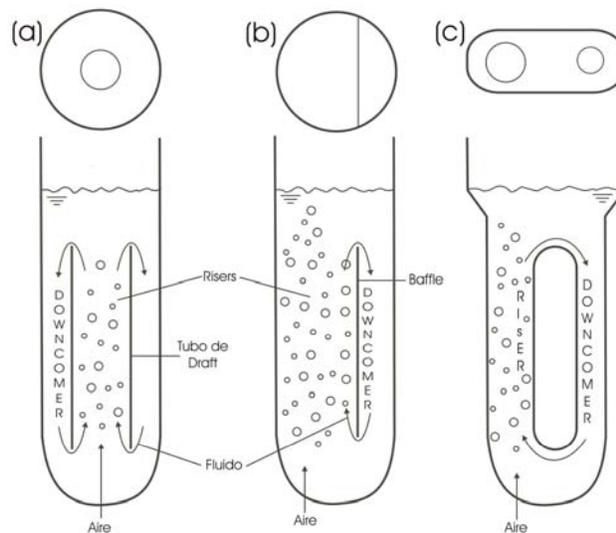


Fig. 5. Principales configuraciones de reactores *airlift*. (a) ALTC (*Airlift* de Tubos Concéntricos), (b) SCAL (*Airlift* de Cilindro Seccionado) y (c) ALL (*Airlift* de Recirculación Externa). Tomado de Chisti y Moo-Young, 2002.

En los fermentadores *airlift* se pueden generar altas velocidades lineales sin la necesidad de un mecanismo de recirculación externa (Chisti, 1989). Son altamente eficientes en energía al compararlo con los RAM y tienen productividades comparables a éstos (Chisti y Moo-Young, 2002).

Se han utilizado para el cultivo de células bacterianas y levaduras, fermentaciones con hongos, cultivo de células animales y vegetales, enzimas inmovilizadas y biocatálisis celular, cultivos de microalgas y para el tratamiento

de aguas residuales (Stanbury y Whitaker, 1984; Scriban, 1985; Crueger y Crueger, 1989; Chisti y Moo-Young, 2002).

Las características de funcionamiento de los reactores *airlift*, dependen principalmente de la velocidad de inyección del gas y la velocidad de recirculación del líquido (Chisti y Moo-Young, 2002).

2.3. Dispositivos internos en biorreactores.

Además de los agitadores, los biorreactores son equipados con otros dispositivos internos que permiten aumentar la eficiencia del mismo, tal es el caso de los *baffles*.

2.3.1. Baffles

En los reactores de agitación mecánica, éstos se utilizan para provocar turbulencia en las paredes del biorreactor; sin los *baffles* la fuerza centrífuga conduce a que el fluido se concentre cerca de las paredes, esto hace que el nivel aumente al formarse el *vortex*, lo que impide que se cree turbulencia y un mezclado óptimo. Generalmente se colocan cuatro y tienen una relación de anchura de 1:10 o 1:12 con respecto al diámetro del reactor; en reactores de gran escala se llegan a colocar hasta más de doce *baffles* como intercambiadores de calor (Fieldson, 1988b; Crueger y Crueger, 1989).

En los reactores *airlift*, se utilizan *baffles* para conseguir la separación de las dos zonas (SCAL). Las dimensiones de éste dependen del tamaño de la columna. El *baffle* debe quedar completamente sellado a las paredes del reactor de tal forma que no haya paso del medio del *riser* al *downcomer* a excepción de la recirculación.

2.4. Transferencia de oxígeno.

El oxígeno juega un papel fundamental en el metabolismo aerobio productor de energía como receptor final de los electrones y de los protones producidos en las reacciones de oxidación, además interviene en mecanismos de regulación del metabolismo en forma directa, como inductor o como represor de la síntesis de enzimas respiratorias. Cuando el crecimiento microbiano se realiza sobre un sustrato menos oxidado que la biomasa, como los sustratos glucocídicos y los hidrocarburos, el oxígeno desempeña el papel de sustrato para la obtención de constituyentes celulares (Scriban, 1985).

La transferencia de oxígeno es el proceso por el cual éste es transportado de una fase a otra, generalmente de una gaseosa a una líquida (Metcalf y Eddy, Inc, 1991).

El oxígeno es poco soluble en medio acuoso, por lo que la transferencia de éste se vuelve importante en el cultivo de microorganismos aerobios a nivel laboratorio y en la industria, cuyos procesos fermentativos suelen requerir oxígeno. El transporte del mismo de la fase gaseosa hacia las células debe permitir el mantenimiento de una concentración adecuada de oxígeno disuelto, de manera que el crecimiento microbiano no se vea limitado (Stanbury y Whitaker, 1989; Metcalf y Eddy, Inc., 1991; Nielsen, Villadsen y Liden, 2003). La concentración crítica de oxígeno disuelto (valor en el cual el crecimiento se ve limitado) depende de las condiciones del cultivo y de la especie microbiana (Chisti y Moo-Young, 2002).

La demanda de oxígeno en una fermentación depende de la concentración de biomasa y la actividad respiratoria (velocidad y grado de oxidación de los sustratos que se usan para el crecimiento), que se relaciona con la velocidad de crecimiento. Las células microbianas tienen una demanda

mayor que las células animales y vegetales (Stanbury y Whitaker, 1989; Chisti y Moo-Young, 2002). Se vuelve complicado suministrar oxígeno cuando la demanda excede $4\text{-}5 \text{ Kg O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. La transferencia de éste se ve afectada por la temperatura (a mayor temperatura, menor solubilidad del oxígeno), intensidad del mezclado y los constituyentes del medio que afectan la viscosidad del mismo y la solubilidad del oxígeno (menor solubilidad a mayor concentración de solutos) (Metcalf y Eddy, Inc., 1991; Chisti y Moo-Young, 2002; Nielsen, Villadsen y Liden, 2003).

Por lo anterior, los equipos de fermentación son provistos con difusores que introducen aire, oxígeno u otra mezcla de gases que lo contenga a una velocidad adecuada y agitadores que mejoren la transferencia (Stanbury y Whitaker, 1989; Metcalf y Eddy, Inc., 1991; Chisti y Moo-Young, 2002). En general, se puede obtener una mejor transferencia de oxígeno en reactores de laboratorio y plantas piloto que en procesos a gran escala, como los que se llevan a cabo en la industria (Nielsen, Villadsen y Liden, 2003).

La transferencia de oxígeno de un reactor a otro depende de distintos factores. En las columnas de burbujeo el transporte se mejora con el aumento de la velocidad de flujo de gas. La máxima velocidad de aireación, por lo general es menor a 0.1 m/s. En los *airlift*, además de la velocidad del gas, influye la velocidad de circulación del líquido y las dimensiones de las dos zonas. Para una óptima transferencia de oxígeno, se recomienda que la relación entre las áreas seccionales *riser/downcomer* sean de entre 1.8:1 y 4.3:1. En los RAM se busca aumentar la transferencia con la agitación mecánica (Chisti y Moo-Young, 2002).

Además la transferencia de oxígeno tiene una aplicación muy importante en el tratamiento biológico de aguas residuales, en el cual se introduce oxígeno al medio en forma de burbujas o se expone el líquido como gotitas a la atmósfera, para poder cubrir la demanda (Metcalf y Eddy, Inc., 1991).

El transporte de oxígeno del gas hacia los microorganismos se lleva a cabo en cuatro etapas: 1) el oxígeno pasa a través del gas hacia la interfase gas-líquido, 2) a lo largo de la interfase, 3) por el líquido y 4) hacia el organismo (Scragg, 1997).

Para determinar la ecuación de transferencia de oxígeno se usan principalmente dos teorías. La primera de éstas consiste en el establecimiento de un gradiente de presión parcial de oxígeno en el interior de la burbuja de gas a causa de la presencia de la película gaseosa. Se conoce como teoría de las películas laminares. La presión parcial creada en la interfase p^* está en equilibrio con la concentración de oxígeno disuelto C^* . En el seno del líquido se establece un gradiente en la concentración del mismo debido a la película líquida. Se supone que el perfil de equilibrio es independiente del tiempo (régimen estacionario) y el equilibrio entre p^* y C^* se obtiene instantáneamente al entrar en contacto el gas y el líquido. La ecuación es (Scriban, 1985):

$$\frac{dC_L}{dt} = K_G \cdot a'(p - p^*) = k_L \cdot a'(C^* - C_L) \quad (1)$$

donde:

$\frac{dC_L}{dt}$ = Rapidez de transferencia (mmol O₂/L.h).

K_G = Coeficiente global de transferencia de masa con relación a la película gaseosa (cm/h).

k_L = Coeficiente global de transferencia de masa con relación a la película líquida (cm/h).

p = presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa (atm).

a' = Superficie específica de intercambio (cm²/cm³).

p^* = Presión parcial de oxígeno (atm) en equilibrio con C_L .

C_L = Concentración de oxígeno disuelto en la fase líquida (mmol/L)

C^* = Concentración de oxígeno disuelto (mmol O_2/L) en equilibrio con p , presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa.

La segunda teoría considera nuevamente, la transferencia de oxígeno como una difusión continua entre la burbuja y el líquido, a través de una película única de poco espesor en régimen estacionario. Aplica la Ley de Fick a este mecanismo de transferencia considerado como unidireccional. La ecuación es (Scriban, 1985):

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L \cdot a(C^* - C_L) \quad (2)$$

Debido a la dificultad para determinar el k_L y a' de forma individual, normalmente se utiliza su producto ($k_L a$) para especificar la transferencia de masa gas-líquido y se denomina coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (Nielsen, Villadsen y Liden, 2003).

El área interfacial está en función del coeficiente de retención de gas (E_g) y el diámetro promedio de las burbujas; en donde el primero es una relación entre el volumen desplazado al introducir el gas en el reactor y el volumen de la mezcla gas-líquido.

En la caracterización de una columna de burbujeo a nivel laboratorio, operando con volúmenes de líquido entre 1.0 y 3.5 L, se encontraron valores de E_g que van de 0.2 a 7.0 % para U_{GR} entre 0.2 y 1.6 cm/s y $k_L a$ entre 86.77 y 390.17 h^{-1} para U_{GR} de 0.2 a 1.5 cm/s (Sánchez, 2000).

Choi, Chisti y Moo-Young (1996) probaron un reactor neumáticamente agitado con área transversal rectangular de 0.456 * 0.153 m y altura de trabajo de 1.64 m operando en tres configuraciones diferentes: a) columna de burbujeo, b) *airlift* de tubos concéntricos aireado en el centro y c) *airlift* de tubos

concéntricos aireado en la periferia. Encontraron valores de E_g entre 0.035 y 0.16 y de k_{La} de 47 a 252 h^{-1} para U_{GR} de 1 a 8 cm/s.

Por otro lado, Chisti y Jáuregui-Haza (2002) determinaron la transferencia de oxígeno en un reactor *airlift* con un volumen aproximado de 1.5 m^3 y aireado en la periferia, que además poseía un agitador mecánico doble en la zona de descenso. Usaron velocidades de agitación de 0 a 260 rpm. Al operar el reactor con agua encontraron valores de E_g que van desde 0 a 0.08 y k_{La} de 10 a 72 h^{-1} para U_{GR} de 0 a 10 cm/s.

Uno de los métodos más utilizados para conocer la cantidad de oxígeno disuelto en el medio es utilizando electrodos polarográficos (amperométricos) que poseen una membrana permeable al oxígeno. Éstos están constituidos por un ánodo de platino, y un cátodo hecho de un anillo de plata/óxido de plata. El electrolito es un gel de metilcelulosa que contiene KCl. Los dos electrodos están alimentados por una tensión constante. La reducción de oxígeno en el cátodo modifica la intensidad de la corriente del circuito de manera proporcional a la cantidad presente (Scriban, 1985).

3. HIPÓTESIS.

Con el diseño del biorreactor propuesto se podrá obtener un intervalo amplio de tiempos de mezclado y coeficientes de transferencia de oxígeno; pudiéndose emplear para diversos procedimientos biotecnológicos.

4. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo general.

Diseñar, construir y caracterizar hidrodinámicamente un biorreactor multifuncional para la elaboración de productos fermentados y el desarrollo de investigaciones biotecnológicas.

4.2. Objetivos específicos.

- Diseñar un biorreactor multifuncional, en base a los biorreactores existentes en la bibliografía.
- Construir el biorreactor con los materiales apropiados para facilitar su caracterización hidrodinámica.
- Caracterizar hidrodinámicamente el biorreactor en las configuraciones de columna de burbujeo, *airlift* y RAM.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1. Materiales.

Para el diseño se utilizó el software Corel Draw 11.

Para la caracterización hidrodinámica se requirieron los siguientes materiales y reactivos:

Materiales:

- Biorreactor de vidrio con capacidad de 4.1 L.
- Tubería de látex.
- Compresora.
- Rotámetro de escala 1 a 10 LPM.
- Cronómetro digital.
- Cámara fotográfica digital.
- Cámara de video.
- Pinzas para tubería.
- Empaques de neopreno.
- Grasa silicón.
- Electrodo de oxígeno disuelto OAKTON DO 100 Series.
- Computadora personal.
- Software Freehand 10.

Reactivos:

- Agua destilada.
- Solución de azul de metileno al 0.5 y 1.0 %.
- Nitrógeno gaseoso.

5.2. Métodos.

5.2.1. Metodología del Diseño.

Para diseñar y construir el biorreactor multifuncional fue necesario seguir los pasos que se muestran en la Fig. 6.

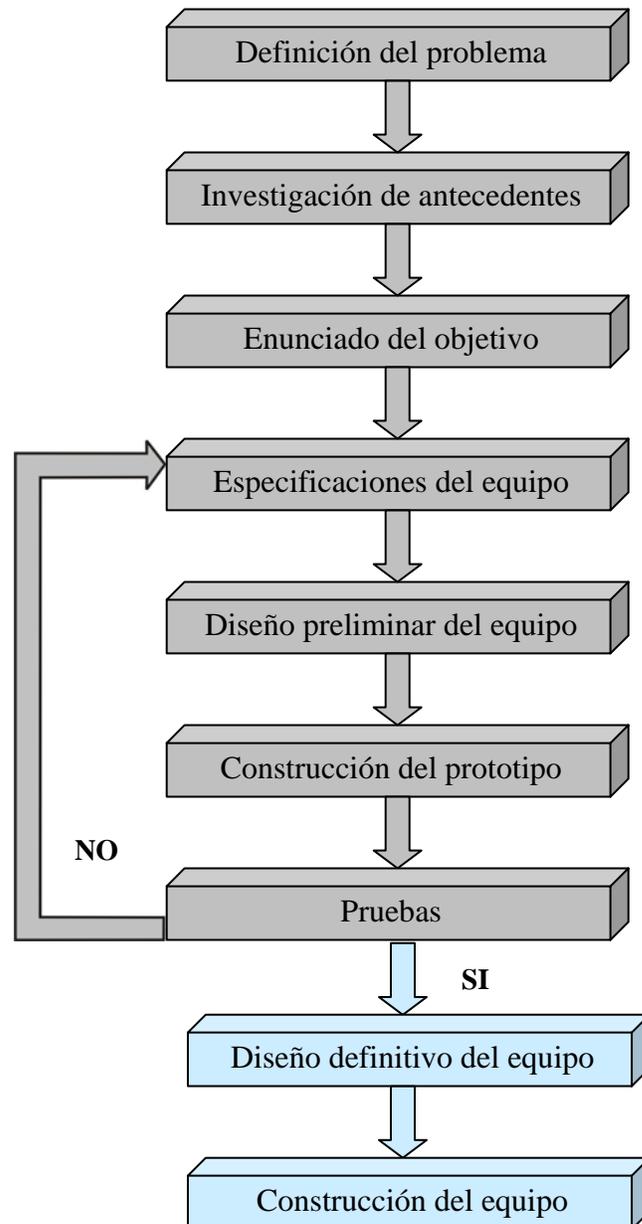


Fig. 6. Pasos que integran la metodología del diseño.

Definición del problema. Los biorreactores son equipos muy utilizados en la industria alimentaria, se utilizan para llevar a cabo fermentaciones (bebidas alcohólicas), producir biomasa (microorganismos productores de yogurt) o para tratar efluentes (aguas residuales de la industria láctea). Para que un equipo funcione en un proceso específico, es necesario que provea ciertas condiciones en el medio, como son un buen mezclado y una adecuada transferencia de oxígeno. Para lograr éstas exigencias se han planteado un gran número de diseños de biorreactores, sin embargo, no existe ninguno en el que puedan cubrirse amplios intervalos de tiempos de mezclado y coeficientes de transferencia de oxígeno y por tanto, pueda utilizarse en diversos procesos biotecnológicos. Por tal motivo, se propone diseñar un biorreactor multifuncional en el que puedan obtenerse las tres configuraciones más empleadas en procesos biotecnológicos (columna de burbujeo, *airlift* y RAM).

Investigación de antecedentes. Para el diseño del biorreactor propuesto se hizo una revisión bibliográfica de los distintos tipos de equipos existentes, utilidad, ventajas y desventajas. Dicha información se detalla en la sección 2 y se resume en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características principales de los RAM, columnas de burbujeo y biorreactores *airlift*.

Característica	RAM	Columna de burbujeo	<i>Airlift</i>
Relación altura/diámetro	Entre 3 y 5. No más de 2 para cultivo de células animales.	Entre 4 y 5.	Entre 4 y 7.
Agitación	Mecánica	Neumática	Neumática
Factores que influyen en el funcionamiento	Velocidades de aireación y agitación, tipo de agitador.	Velocidad de flujo de gas y propiedades del fluido.	Velocidades de inyección del gas y de circulación del líquido. Relación A_d/A_r .
Ventajas	Mayor capacidad de mezclado, transferencia de calor y masa.	Bajos costos de capital y operación, diseño simple y bajos requerimientos de energía.	Altamente eficientes en energía.
Desventajas	Altos requerimientos energéticos, generación de calor.	$k_L a$ relativamente bajos.	$k_L a$ relativamente bajos, aunque superiores a la columna de burbujeo.
Usos	Cultivo de células animales, producción de antibióticos.	En la industria química, cultivo de células vegetales, producción de vinagre y cerveza y tratamiento de aguas residuales.	Cultivo de células bacterianas y levaduras, fermentaciones con hongos, cultivo de células animales y vegetales, tratamiento de aguas residuales.

Enunciado del objetivo. El objetivo del trabajo fue planteado en la sección 4.

Especificaciones del equipo. Para el diseño del biorreactor multifuncional se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- El reactor debía permitir tres configuraciones: columna de burbujeo, biorreactor *airlift* y RAM. Para facilitar el cambio de una configuración a otra se propuso diseñarlo en tres partes: tapa, cuerpo y base.

- Tomando en cuenta que el equipo debía ser caracterizado hidrodinámicamente, se decidió construirlo de vidrio, ya que brinda superficies lisas, no es tóxico, es de fácil limpieza y transparente.
- Debido a que la columna de burbujeo es la configuración de diseño más sencillo, se tomó como punto de partida. Las dimensiones se determinaron tomando en cuenta que la relación altura/diámetro debía ser entre cuatro y seis (Chisti y Moo-Young, 2002), considerando un volumen de aproximadamente cinco litros.
- Pensando en trabajos futuros, se propuso que en la tapa se colocaran cinco entradas, dos con tapones de roscas que pueden servir para colocar electrodos medidores de oxígeno disuelto y pH; otros dos sin tapa en los que puedan introducirse termómetros o sirvan como entrada de líquidos y el último, localizado en el centro, para la introducción del agitador.
- Se decidió colocar cuatro llaves de entrada o salida en el cuerpo, para que se pueda trabajar con volúmenes distintos o con cultivos semicontinuos.
- Para el suministro de oxígeno se optó por utilizar un difusor de placa filtrante # 0153 y colocarlo en la base junto con una entrada de aire.
- Para obtener la configuración *airlift*, se propuso diseñar dos *baffles* de teflón (por ser un material rígido, relativamente económico e inocuo) y dos de acrílico (ya que por ser transparente ayuda en la caracterización), de dimensiones iguales y que pudieran ajustarse con unos tornillos y tuercas dentro del reactor para servir como separadores de las dos zonas: *riser* y *downcomer*. La posición de dichos *baffles* se determinó considerando que la relación A_d/A_r debe ser menor a uno (Galíndez y Ruíz, 1994). Así

mismo, se determinó sellar las partes laterales del difusor para que el aire entrara únicamente en el centro (*riser*) y se pudiera efectuar la caracterización.

- En la configuración RAM se eligió un agitador de paletas, por su diseño sencillo y útil para reactores a nivel laboratorio que no requieren mucha fuerza de agitación. Se determinaron las medidas del agitador considerando que la longitud total de un agitador de paletas es del 60 al 80 % del diámetro del reactor y la anchura de 1/6 a 1/10 de su longitud (Geankoplis, 1999) y que debe colocarse a una distancia del fondo que represente 1/3 del diámetro del reactor (Chisti y Moo-Young, 2002). El material elegido fue acero inoxidable por su inocuidad. Se planteó diseñar el agitador en dos partes: eje y paleta las cuales se unen por un tornillo, lo que permite el cambio por uno diferente. Así mismo, se propuso el diseño de un cuerpo más pequeño, de tal forma que pudieran utilizarse la misma tapa y base empleadas en las configuraciones *airlift* y columna de burbujeo.
- Para unir las tres partes del biorreactor, se optó por emplear cuatro bridas de acrílico, empaques de neopreno, tornillos y tuercas para ajustarlas. La brida que se encuentra en la parte superior de la tapa se diseñó como una sola pieza, de tal modo que ejerce una mayor presión entre ésta y el cuerpo de la base. Las otras tres fueron partidas por la mitad, ya que los bordes del biorreactor permiten sólo la entrada lateral en el cuerpo y la base.

Diseño preliminar del equipo. En las figuras 7-14 se muestran los esquemas de diseño del biorreactor con las dimensiones principales de las distintas partes y accesorios de las configuraciones propuestas. En el Apéndice B, se describe el procedimiento para el armado del biorreactor multifuncional.

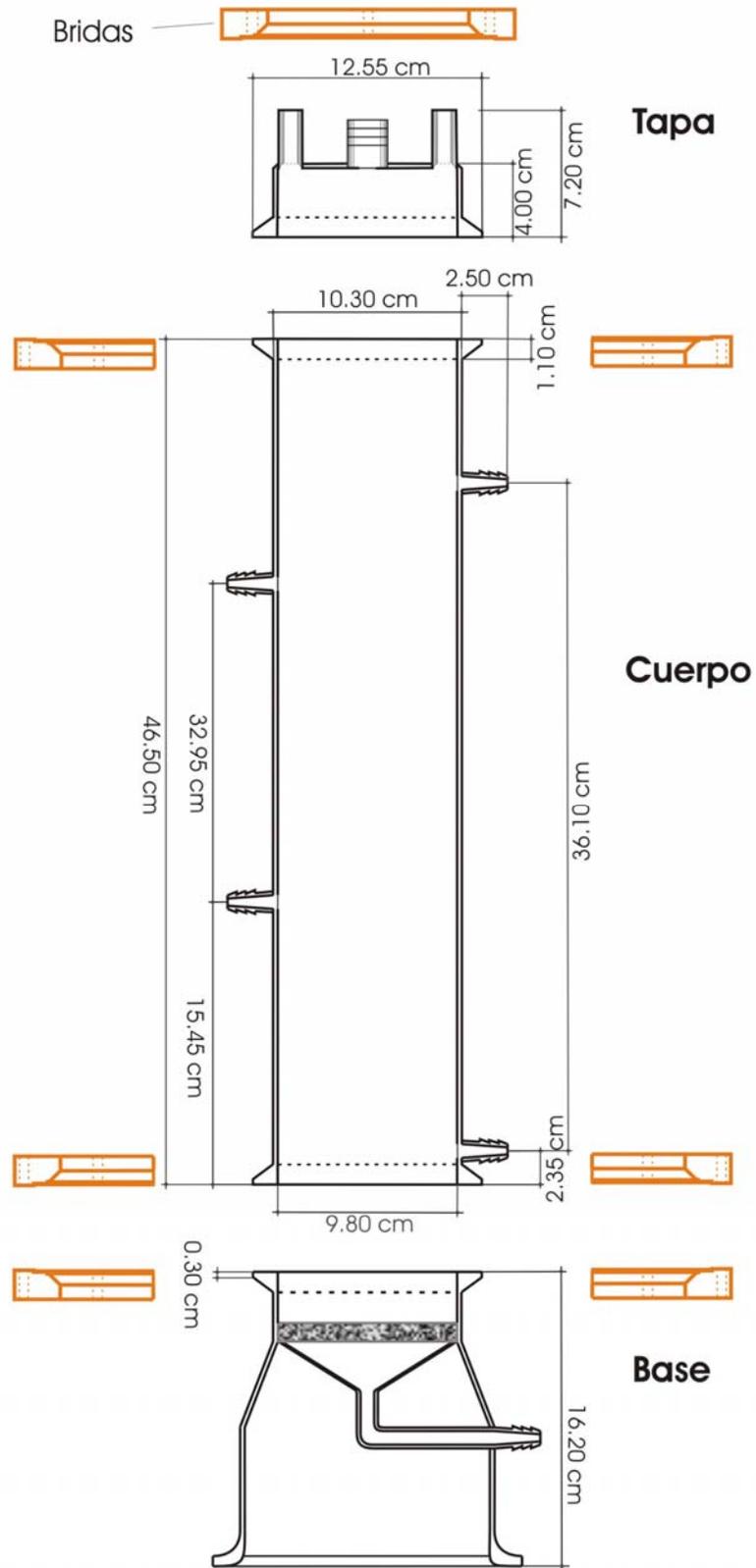
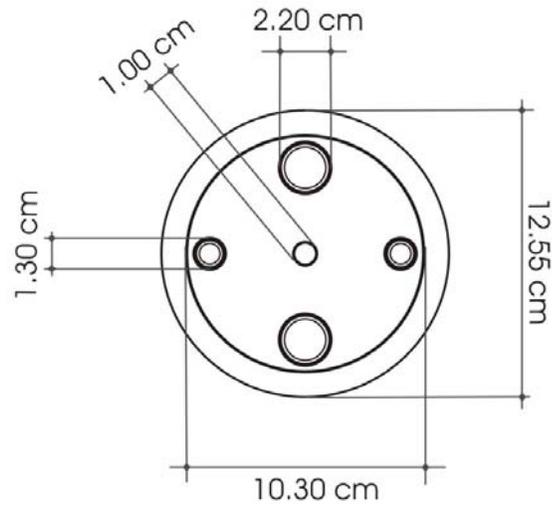


Fig. 7. Columna de burbujeo.

Vista superior de la tapa



Vista frontal de la tapa

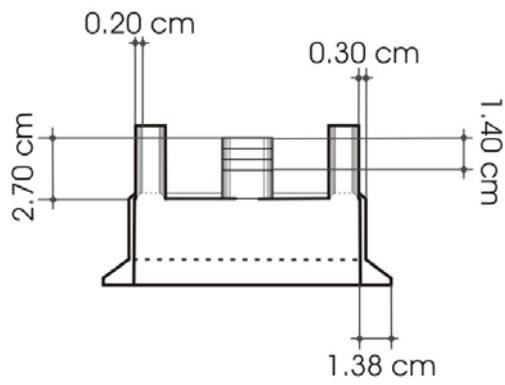


Fig. 8. Vistas frontal y superior de la tapa del biorreactor.

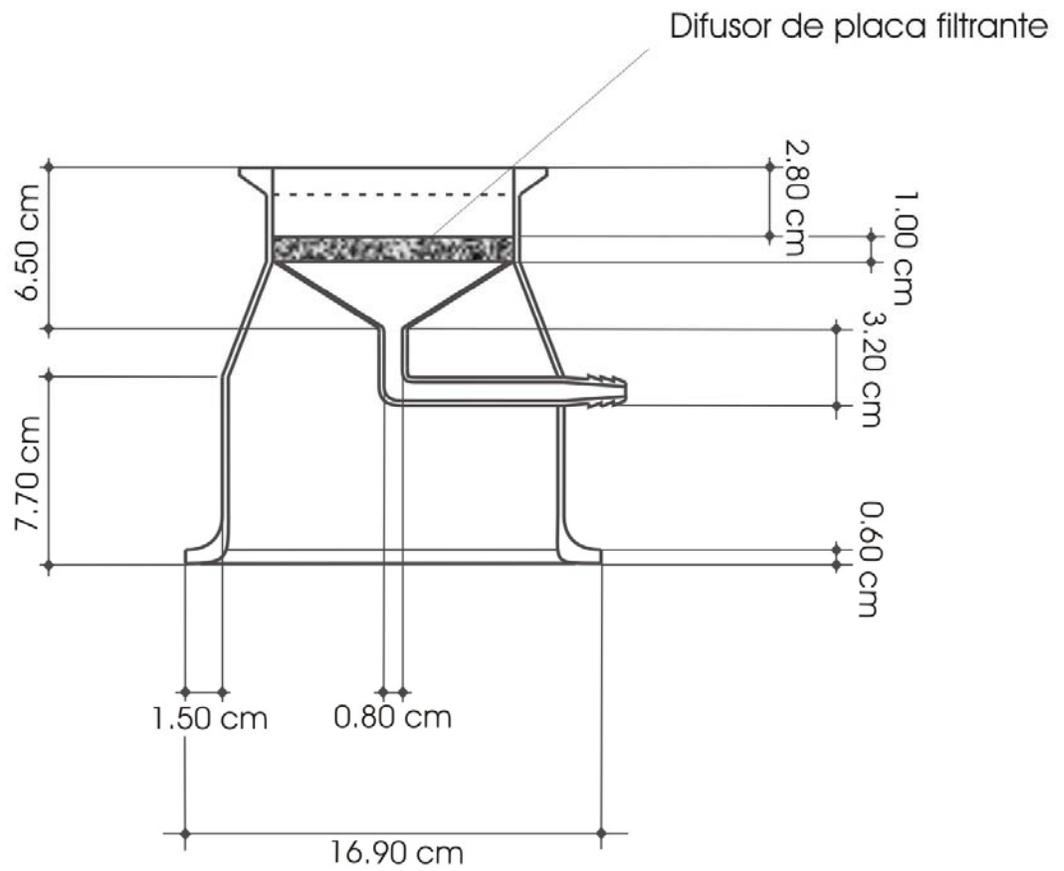


Fig. 9. Base del biorreactor con el difusor de placa filtrante.

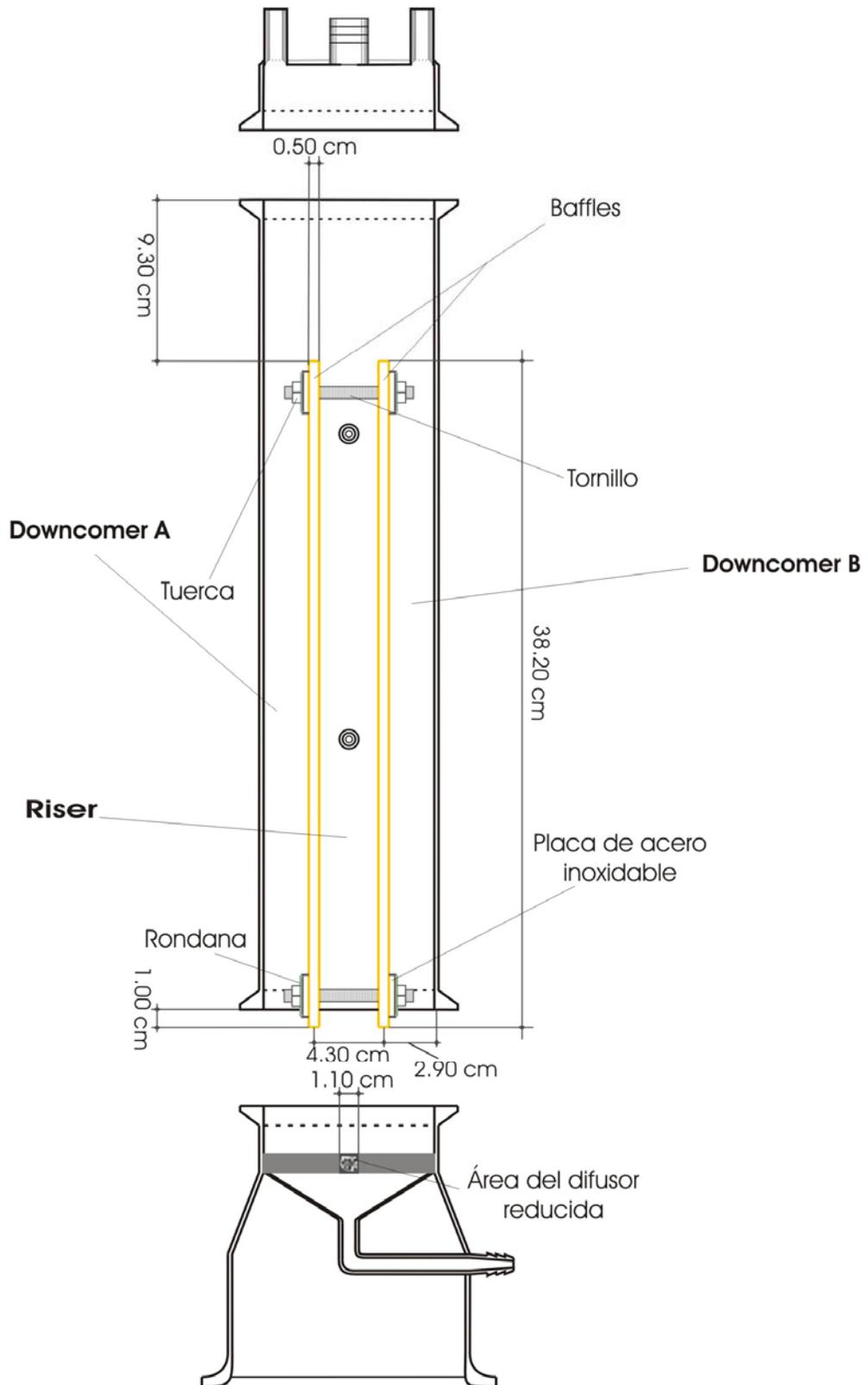


Fig. 10. Biorreactor en la configuración *airlift*.

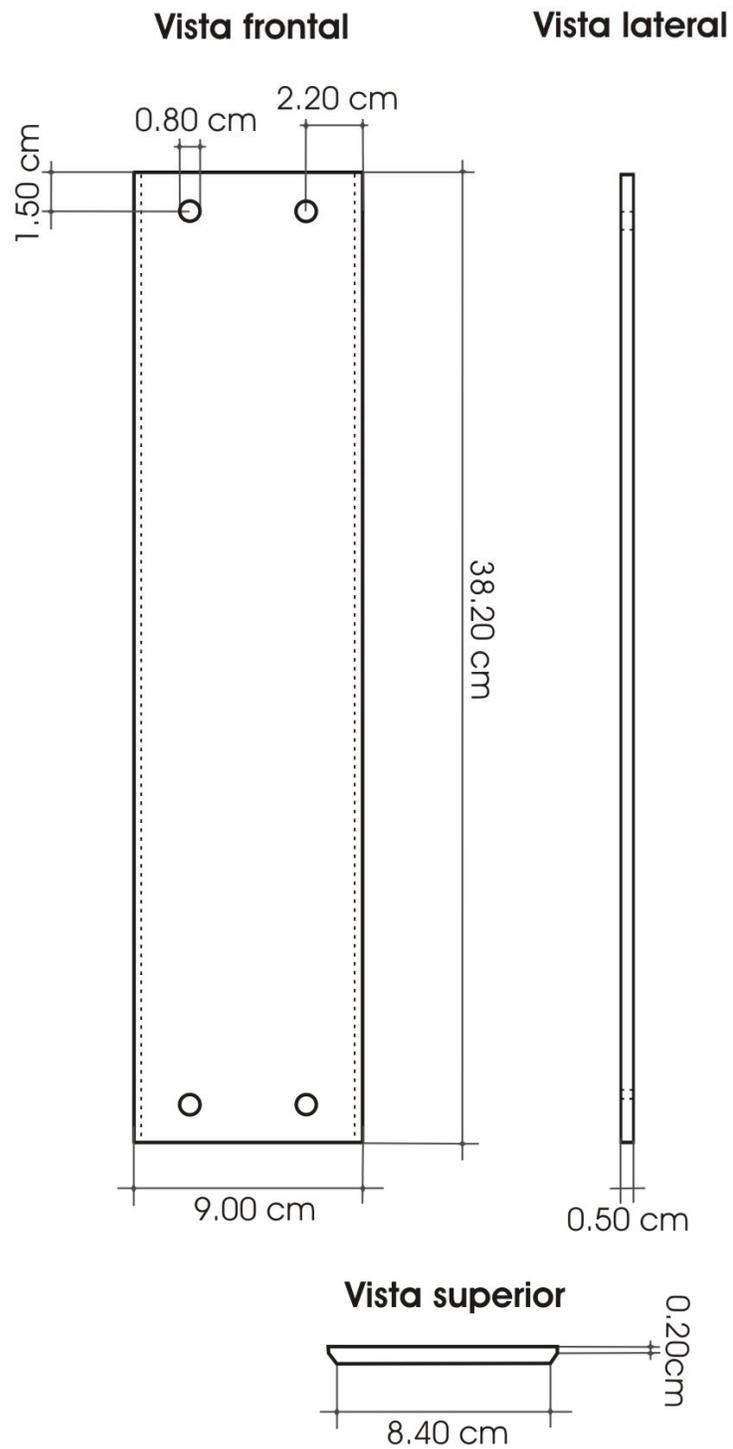


Fig. 11. Vistas frontal, lateral y superior de los *baffles* para la obtención de la configuración *airlift*.

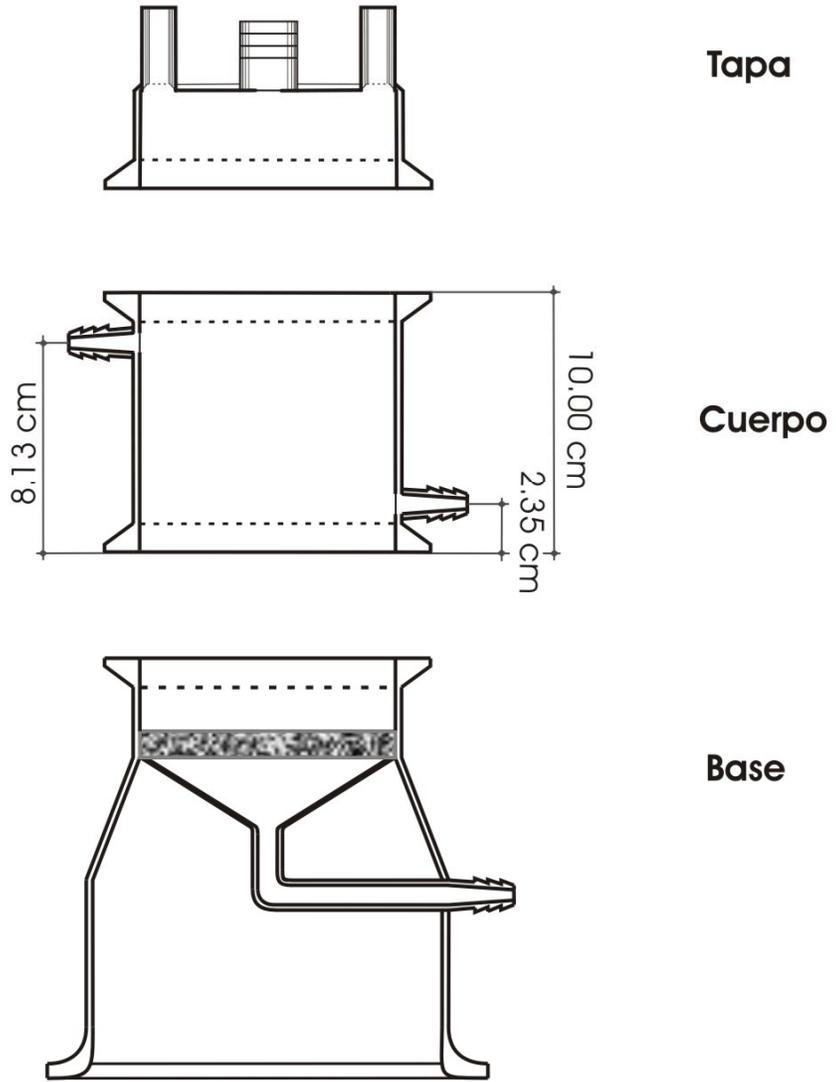


Fig. 12. Propuesta para el diseño del Reactor Agitado Mecánicamente.

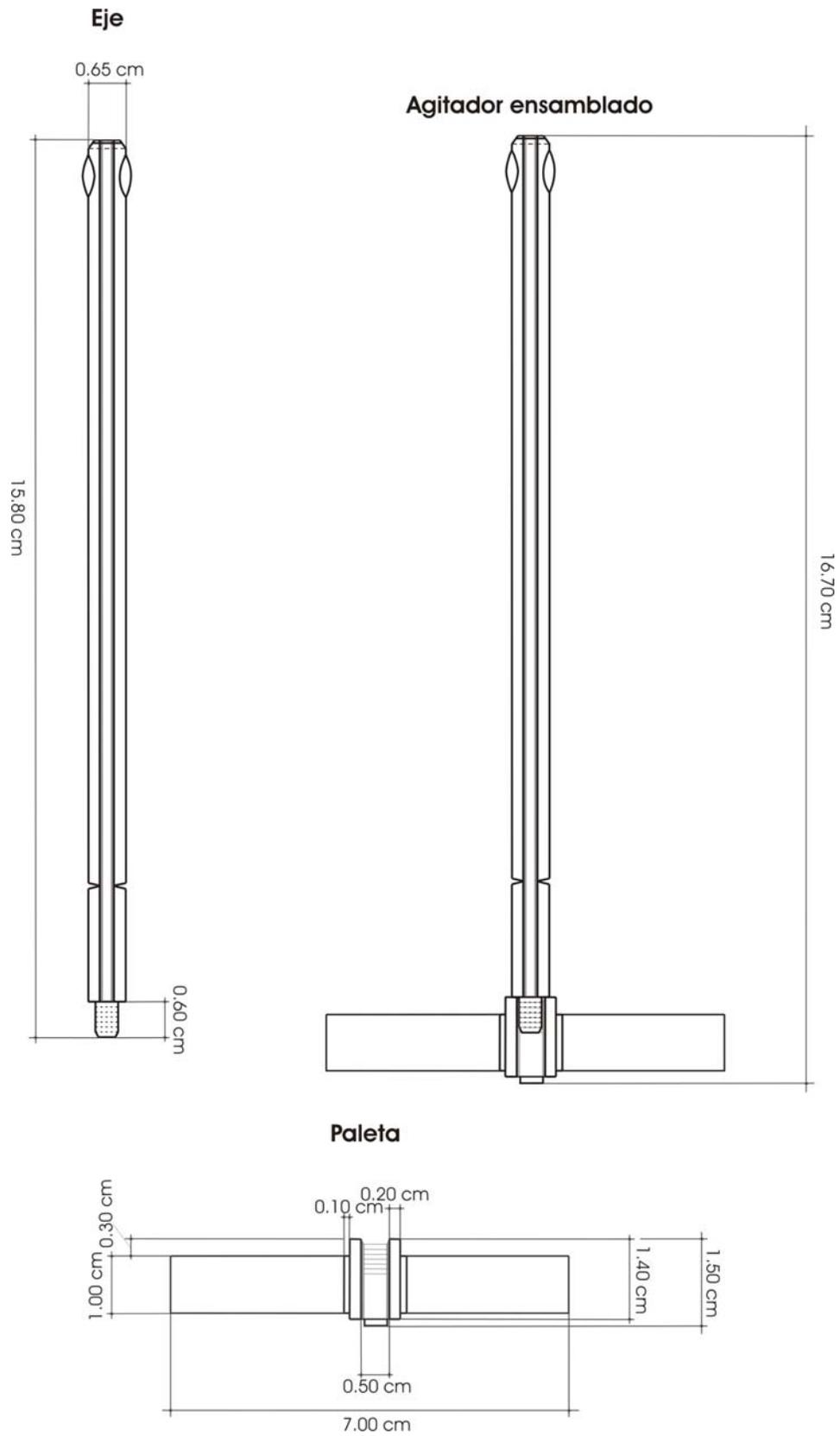


Fig. 13. Agitador de acero inoxidable para la configuración RAM.

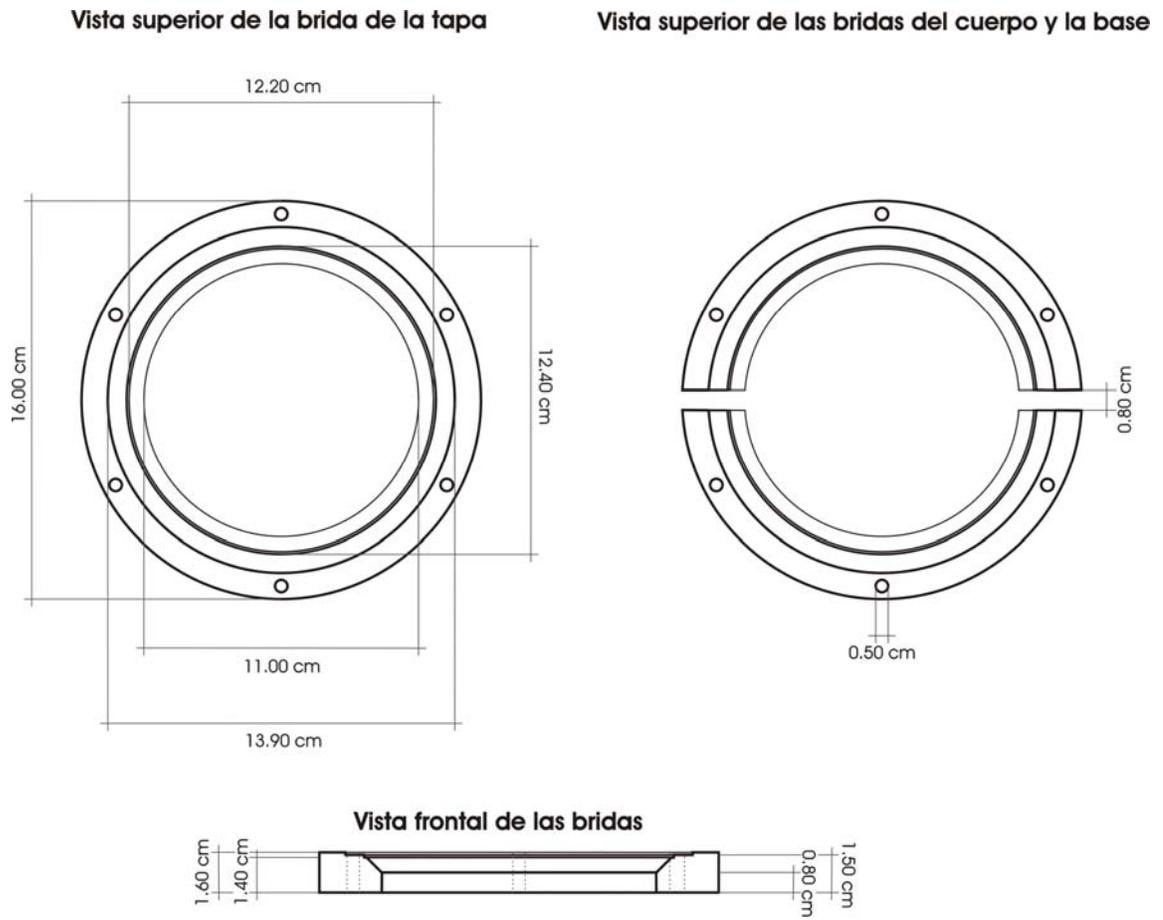


Fig. 14. Vistas superior y frontal de las bridas de unión para el biorreactor.

Construcción del prototipo. En las fotos 1-3 se muestra el biorreactor construido.



Foto 1. Columna de burbujeo armada con las bridas.



Foto 2. Biorreactor *airlift* con los *baffles* de teflón.



Foto 3. Agitador de paleta para la configuración RAM.

Pruebas. Se muestran en la parte de resultados, como caracterización hidrodinámica del biorreactor. De acuerdo a dichos resultados se proponen modificaciones al diseño final (pasos que se muestran en azul en la Fig. 5) en la sección de perspectivas.

5.2.2. Caracterización hidrodinámica.

La caracterización hidrodinámica se hizo para las tres configuraciones elegidas: columna de burbujeo, *airlift* y el reactor agitado mecánicamente (RAM). Comprende la determinación del tiempo terminal de mezclado (t_m) para las tres configuraciones; medición del coeficiente global de transferencia de oxígeno (k_La), coeficiente de retención de gas (E_g), diámetro de burbuja (d_b), área interfacial de contacto gas-líquido (a') para las dos primeras configuraciones y las velocidades de circulación del líquido en el reactor para la configuración *airlift*. Los métodos utilizados se detallan a continuación:

5.2.2.1. Determinación del tiempo terminal de mezclado (t_m).

El tiempo terminal de mezclado se define como el tiempo necesario para que una gota de azul de metileno que entra en un contenedor lleno de fluido sea completamente mezclada hasta niveles moleculares. Se determinó como sigue (López, 1997):

Medición visual del tiempo que tarda en homogeneizarse el color impartido por 1 mL de una solución de azul de metileno inyectado por la parte de alimentación del biorreactor.

Para el caso de la columna de burbujeo y el reactor *airlift*, la determinación se hizo a gastos de aire de 1 a 8 LPM en intervalos de 1 LPM. En la columna se trabajó con volúmenes de 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 y 3.5 L y en el

reactor *airlift* con un volumen de 2.9 L. Cada experimento se repitió cuatro veces.

Para el RAM se probaron dos motores de diferentes velocidades: a) 43 rpm y b) 307 rpm. Los experimentos se hicieron con un volumen de 1 L.

5.2.2.2. Determinación del coeficiente de retención de gas (E_g).

Es la fracción de gas retenida en la mezcla gas-líquido y se determinó como la relación del incremento entre los volúmenes del líquido cuando se airea, y la mezcla gas-líquido. La altura del líquido (H_l) corresponde al volumen de referencia en la columna (V_l) cuando no existe aireación alguna. La altura de la mezcla gas-líquido se conoce como H_{lg} . El valor del coeficiente de retención de gas se calcula con la siguiente relación (Nielsen, Villadsen y Lidén, 2003).

$$E_g = \frac{H_{lg} - H_l}{H_{lg}} \quad (3)$$

Los experimentos se hicieron por triplicado a los mismos volúmenes y gastos de aire que en la determinación del tiempo terminal de mezclado.

5.2.2.3. Determinación del diámetro de burbuja (d_{bms}).

Existe variación en el diámetro de burbuja como respuesta a la velocidad superficial de gas en el reactor, es por esto, que se determina el valor del diámetro estadístico o medio de Sauter de las burbujas en diversas condiciones de operación. Se utilizó la siguiente relación (López, 1997; Nielsen, Villadsen y Lidén, 2003)

$$d_{bms} = \frac{\sum n_i d_{bi}^3}{\sum n_i d_{bi}^2} \quad (4)$$

donde:

n_i = número de veces que se presenta un diámetro determinado.

d_{bi} = valor del diámetro de las burbujas (cm).

Para determinar los diámetros, el reactor se puso en operación con agua coloreada con azul de metileno a gastos de aire de 1 a 8 LPM y se tomaron fotografías digitales del reactor operando a dichas velocidades del gas. Estas fotografías fueron analizadas con el software Freehand 10, en donde, por medio de las reglas disponibles en el programa, se midió el diámetro de 50 burbujas en las zonas donde no se presentó coalescencia. El diámetro real de las burbujas fue calculado tomando en cuenta que el diámetro interno del reactor es de 9.80 cm. Las fotografías fueron tomadas únicamente en la columna de burbujeo, ya que el difusor para la configuración *airlift* es el mismo.

5.2.2.4. Determinación del área interfacial de contacto gas-líquido (a').

Ésta depende del coeficiente de retención y del diámetro medio de Sauter y se calculó mediante la expresión de Calderbank (López, 1997; Nielsen, Villadsen y Lidén, 2003):

$$a' = \frac{6E_g}{d_{bms}(1 - E_g)} \quad (5)$$

en donde E_g se expresa como fracción.

5.2.2.5. Velocidad de circulación del fluido.

Se determinó la velocidad lineal de circulación del líquido para la configuración *airlift* en las zonas de ascenso (*riser*) y descenso (*downcomer*), para lo cual se colocaron marcadores de circulación (fragmentos de papel de aproximadamente 5 mm de diámetro) que fueron arrastrados por el flujo del líquido y se consideró que la velocidad con que esto sucedió era igual a la del fluido circulante. Para determinar la velocidad lineal de circulación se tomó el tiempo que tardan en recorrer los marcadores una distancia conocida en el reactor (25 cm) a un determinado gasto de aire (Sánchez, 2000). Para cada gasto de aire evaluado se midió la velocidad 18 veces. Las dos zonas de descenso fueron evaluadas por separado.

5.2.2.6. Determinación teórica del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$).

a) Columna de burbujeo

Se determinó con las siguientes expresiones (Galíndez y Ruiz, 1994).

Akita y Yoshida 1,

$$k_L a = \left\{ (0.6D/Dr^2) Sc^{0.5} Bo^{0.62} Ga^{0.31} \right\} E_g^{1.1} \quad (6)$$

Akita y Yoshida 2,

$$k_L = (0.5D/d_b) Sc^{0.5} Bo^{0.25} Ga^{0.375} \quad (7)$$

Calderbank₁

$$k_L = 0.31Sc^{-0.66}(gv_c)^{0.33} \quad d_b < 2.5mm \quad (8)$$

y Bousinesq

$$k_L = 1.13(Dv_b)^{0.5} \quad (9)$$

donde:

$$v_b = U_{GR} / E_g \quad (10)$$

\mathcal{D} = Difusividad del oxígeno en agua (cm²/s)

D_r = Diámetro del reactor (cm)

g = Constante gravitacional (cm/s²)

μ = Viscosidad dinámica (g/cm s)

ν_c = Viscosidad cinemática = μ/ρ_l ; (cm²/s)

ρ_l = Densidad del líquido (g/cm³)

Sc = Número de Schmidt = ν_c/\mathcal{D} , (adim)

τ = Tensión superficial (g/s²)

v_b = Velocidad de ascenso de las burbujas (cm/s)

U_{GR} = Velocidad superficial del gas (cm/s)

E_g = Fracción de gas retenido en la mezcla (adim)

d_b = Diámetro de burbuja (cm).

Los números de Bond (Bo) y Galileo (Ga) son adimensionales y el cálculo depende de la ecuación empleada (Cuadro 1).

Cuadro 2. Fórmulas para el cálculo de los números de Bo y Ga.

Número	Ecuación	
	Akita y Yoshida 1	Akita y Yoshida 2
Bo	$g\rho_l D_r^2 / \tau$ (11)	$g\rho_l d_b^2 / \tau$ (13)
Ga	gD_r^3 / ν_c^2 (12)	gd_b^3 / ν_c^2 (14)

U_{GR} representa la velocidad del gas en los poros del difusor, y se obtiene dividiendo los flujos de aire utilizados (1-8 LPM), entre el área transversal del difusor (35.6788 cm²).

Se ocuparon los siguientes valores teóricos para el oxígeno, el equipo y el fluido, tomando en cuenta una temperatura de 20 °C.

\mathcal{D}	$2.10 * 10^{-5}$ (cm ² /s) (Geankoplis, 1999)
D_r	9.8 cm
g	980.665 cm/s ² (Geankoplis, 1999)
μ	0.01005 g/cm s (Geankoplis, 1999)
ρ_l	0.99823 g/cm ³ (Geankoplis, 1999)
τ	72.8 g/s ² (Franco, 2004)

b) Airlift.

Se determinó con las ecuaciones de Bello y col. (Galíndez y Ruíz, 1994).

$$k_L a = 0.76(1 + A_d / A_r)^{-2} U_{GR}^{0.8} \quad (15)$$

$$k_L a = 0.00055(1 + A_d / A_r)^{-1.2} (P_g / V)^{0.8} \quad (16)$$

donde:

$$P_g = Q_g \rho_g \left[RT \ln(1 - \alpha) + U_{GR}^2 / 2 \right] \quad (17)$$

$$\alpha = \left[\rho_l g H_l (1 - E_g) \right] / P_{top} \quad (18)$$

$$P_{top} = P_{atm} + P_{in} \quad (19)$$

P_g = Consumo de potencia (watts)

Q_g = Gasto volumétrico de aire (m^3/s)

ρ_g = Densidad del gas (kg/m^3)

R = Constante general de los gases ($J/kmol K$)

T = Temperatura absoluta (K)

U_{GR} = Velocidad superficial del gas (m/s)

A_d = Área seccional del *downcomer* (m^2)

A_r = Área seccional del *riser* (m^2)

α = Relación entre la cabeza hidrostática máxima y la presión en la parte superior del reactor (adim)

ρ_l = Densidad del líquido (Kg/m^3)

g = Constante gravitacional (m/s^2)

H_l = Altura del líquido (m)

P_{top} = Presión en la superficie del líquido (atm)

P_{atm} = Presión atmosférica (atm)

P_{in} = Presión interna (atm)

El área del difusor es de 7.15 cm^2 .

ρ_g	1,20679137 (kg/m ³) (Geankoplis, 1999)
R	8314 J/kmol K (Galíndez y Ruíz, 1994)
T	293.15 K
A_d	37,1227974 cm ²
A_r	38,3068422 cm ²

5.2.2.7. Determinación experimental del $k_L a$.

Se determinó con ayuda de un electrodo medidor de Oxígeno Disuelto (OD) OAKTON DO 100 Series. Dicho equipo se calibró considerando la presión atmosférica y la concentración de oxígeno disuelto en agua destilada (Apéndice A). Posteriormente, el equipo se puso en operación con agua destilada y se desplazó el oxígeno contenido en el líquido introduciendo nitrógeno gaseoso, hasta alcanzar una concentración cercana a cero. Por último se inyectó aire y se midió la concentración de OD a través del tiempo. Debido a que la transferencia de oxígeno de la fase gaseosa hacia la líquida está dada por la relación (UBA, 2004 y Metcalf y Eddy, Inc., 1991):

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (1 - C_L / C^*) \quad (20)$$

donde:

C_L es la concentración de oxígeno disuelto en el medio.

dC_L/dt es la variación de concentración de oxígeno en un período de tiempo t .

k_L es el coeficiente de transferencia de masa.

a es el área interfacial de contacto gas-líquido.

C^* es la concentración saturada de oxígeno disuelto en el medio.

y que al integrar la ecuación 20 se obtiene:

$$\ln(1 - C_L / C^*) = -k_L a t \quad (21)$$

Se graficó el $\ln(1-C_L/C^*)$ en función del tiempo. La pendiente resultante es el valor de $-k_L a$.

Se trabajó con volúmenes de operación de 1.0, 2.5 y 3.0 L y a gastos de aire de 1 a 6 LPM en la columna de burbujeo. El valor de C^* utilizado para la presión y temperatura del lugar de trabajo (UTM; 613.47 mm de Hg y 20°C), fue de 7.40 mg/L (Apéndice A).

5.2.2.8. Análisis estadístico de los resultados.

Los experimentos realizados en la columna de burbujeo consistieron en variar la velocidad del gas y el volumen de trabajo (tiempo de mezclado, coeficiente de retención de gas, área interfacial de contacto gas-líquido y coeficiente global de transferencia de oxígeno). Se realizó un análisis estadístico para diseños bifactoriales utilizando el software Design-Expert 6.0.10. En éste las variables de los experimentos (factores del análisis) fueron U_{GR} y V_I .

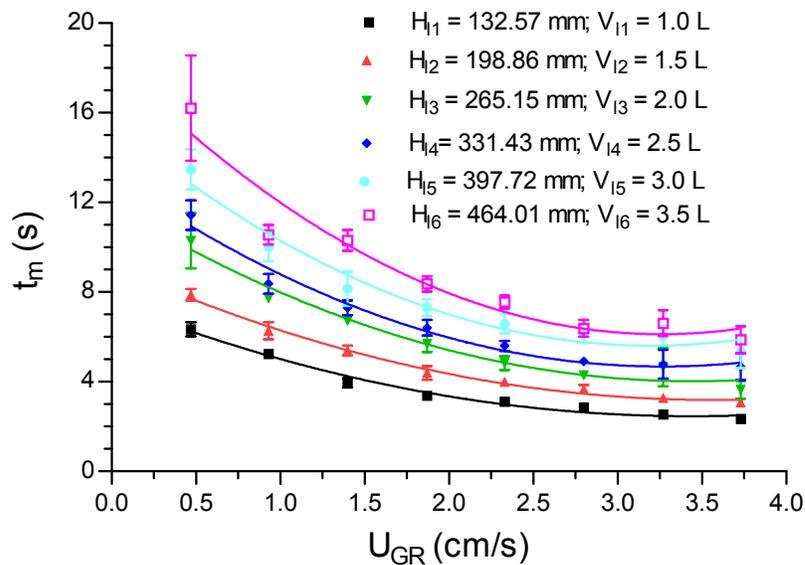
Los resultados de los experimentos realizados en el *airlift* (tiempo de mezclado, coeficiente de retención de gas y área interfacial de contacto gas-líquido), se compararon con los resultados obtenidos en la columna de burbujeo para el mismo experimento; posteriormente se llevó a cabo un diseño bifactorial, empleándose como factores, U_{GR} y configuración del reactor.

6. RESULTADOS.

6.1. Caracterización de la columna de burbujeo.

Para analizar los resultados de la caracterización de la columna de burbujeo, se realizaron gráficas representando la media y desviación estándar de las réplicas de cada uno de los experimentos. Dichos datos se graficaron contra U_{GR} .

6.1.1. Tiempo terminal de mezclado (t_m).



Gráfica 1. Tiempo de mezclado terminal (t_m) para la columna de burbujeo en función de la velocidad superficial del gas (U_{GR}) a distintos volúmenes de operación (V_i).

En la Gráfica 1 se puede observar que el tiempo de mezclado aumentó cuando se incrementó el volumen de trabajo como consecuencia del incremento de la masa de agua en la que tienen que disolverse los componentes; y disminuyó al incrementarse U_{GR} debido al aumento en la velocidad de entrada del aire.

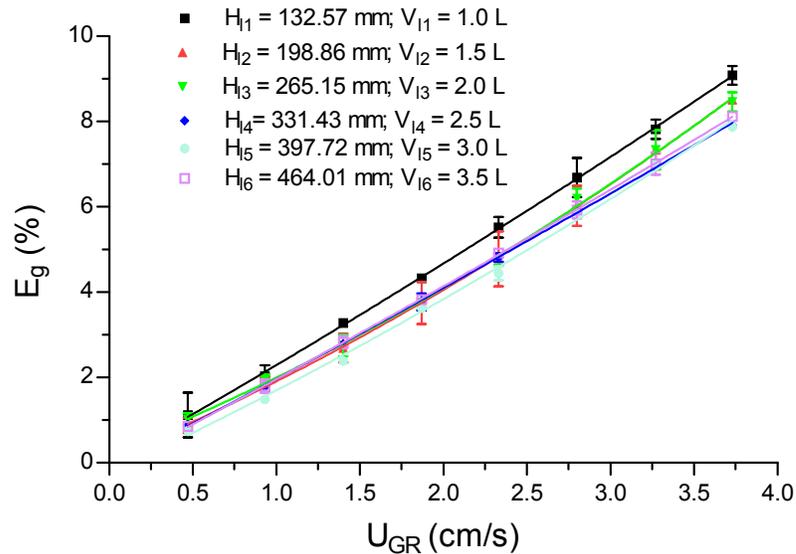
Al realizar el análisis estadístico se encontró que U_{GR} , el volumen de trabajo (V_i) y la interacción de ambos factores, tuvieron influencia sobre el tiempo

de mezclado. U_{GR} es el factor que ofreció mayor importancia en la determinación de éste parámetro, ya que de él dependió el 53.9% de la variación entre los datos.

Se puede observar que a valores superiores a 2.33 cm/s los t_m permanecieron prácticamente constantes, lo que pudo deberse al aumento de la coalescencia de las burbujas.

Del análisis estadístico, también se desprende que no existió diferencia significativa en el t_m cuando el reactor se opera con volúmenes de líquido de 2.0 y 2.5 L.

6.1.2. Coeficiente de retención de gas (E_g).



Gráfica 2. Coeficiente de retención de gas (E_g) para la columna de burbujeo en función de U_{GR} , a distintos valores de V_l .

La Gráfica 2 muestra que E_g aumentó con el incremento de la velocidad superficial del gas. Del análisis estadístico se dedujo que todos los valores de U_{GR} probados ofrecieron diferencia significativa en el valor de E_g , siendo éste, el

factor que más influyó en el resultado de dicha medición con el 98.3% de la variación.

Los valores más altos de E_g se obtuvieron con un volumen de trabajo de 1.0 L, siendo éste volumen el único que ofreció diferencia considerable con respecto a los demás. La interacción de U_{GR} y V_I no influye en el resultado de la determinación de E_g .

6.1.3. Diámetro de burbuja medio de Sauter (d_{bms}).

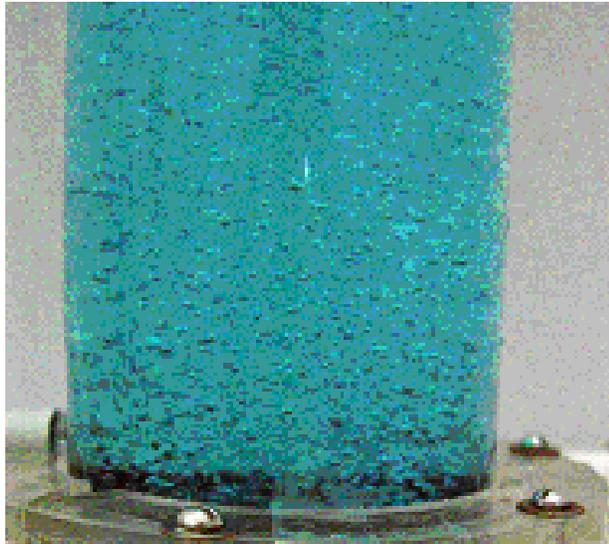
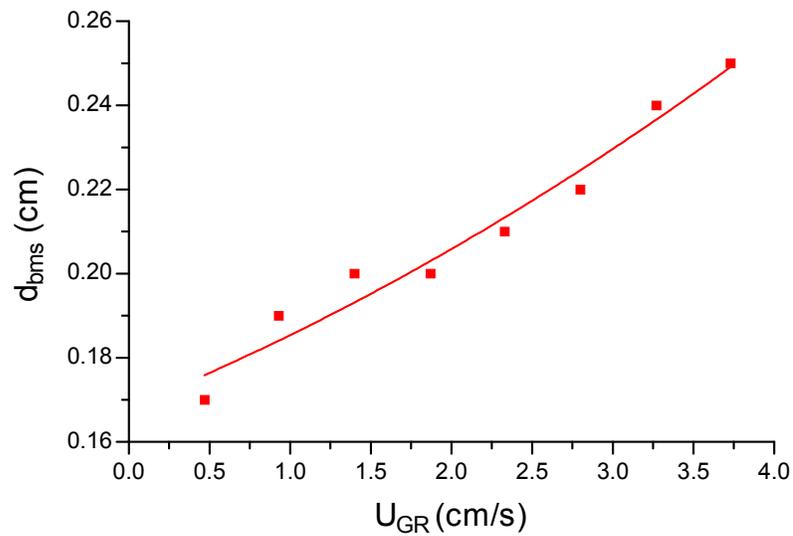


Foto 4. Diámetros de burbuja a 1 LPM de aire.

En la Foto 4 se muestra una imagen digital como ejemplo de las fotografías tomadas para la medición del diámetro de burbuja.

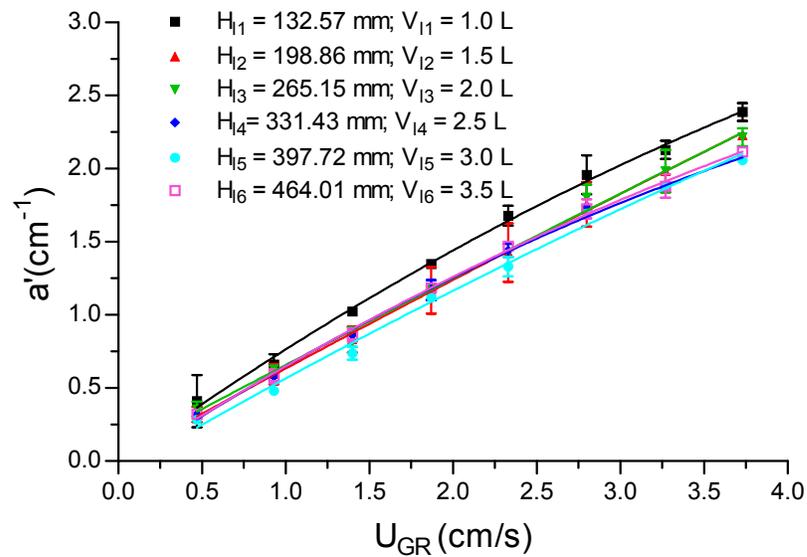


Gráfica 3. Diámetro de burbuja (d_{bms}) en la columna de burbujeo en función de U_{GR} .

En la Gráfica 3 se observa que el diámetro de burbuja aumentó al incrementarse la velocidad superficial del gas, lo que pudo deberse a que al aumentar los gastos de aire se propició la coalescencia de las burbujas. Así mismo, para valores de U_{GR} de 1.40 y 1.87 cm/s se obtuvo el mismo valor de d_{bms} .

En la bibliografía se han reportado d_{bms} comprendidos entre 2.00 y 3.30 mm en la caracterización de una columna de burbujeo operando con los mismos volúmenes de líquido para U_{GR} entre 0.50 y 1.50 cm/s. En la caracterización del biorreactor multifuncional se encontraron d_{bms} entre 1.72 y 2.47 mm, lo que indica que el difusor empleado ofreció un tamaño de poro aceptable.

6.1.4. Área interfacial de contacto gas-líquido (a').



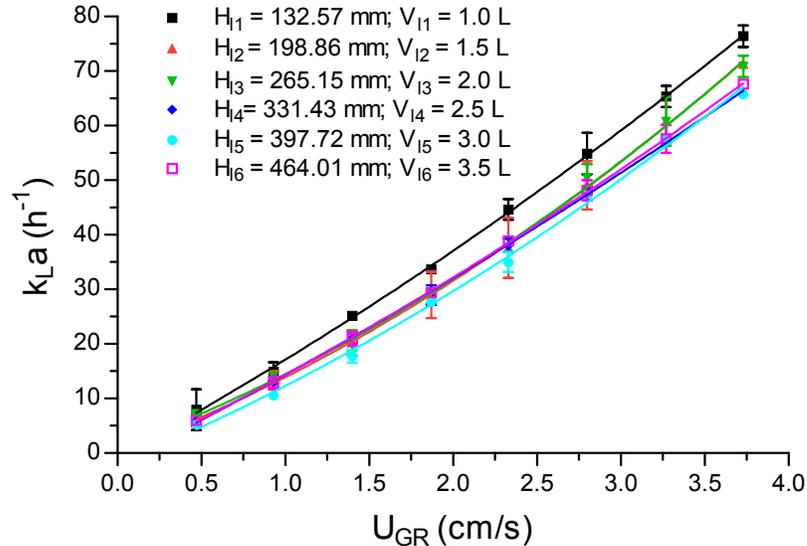
Gráfica 4. Área interfacial de contacto gas-líquido (a') en función de U_{GR} a distintos V_l para la columna de burbujeo.

En la Gráfica 4 se observa que el reactor ofreció un intervalo de a' de 0.24 a 2.40 cm⁻¹. Del análisis estadístico se concluye que U_{GR} es el factor que aportó mayor variación a la determinación (97.5%), aumentando el valor de a' conforme éste se incrementó y que a valores de 2.80 y 3.27 cm/s no se presentó diferencia significativa en el resultado.

Al ser a' proporcional a E_g , se pudo observar que el comportamiento en los resultados es similar, es decir, se obtuvieron valores superiores de a' con un volumen de trabajo de 1 L, siendo el único volumen que ofreció diferencia significativa respecto a los demás.

6.1.5. Determinación teórica del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_{L,a}$) para la columna de burbujeo.

Al aplicar las ecuaciones mencionadas en el procedimiento (sección 5.2.2.6) para el cálculo del $k_{L,a}$, se obtuvieron las gráficas siguientes:

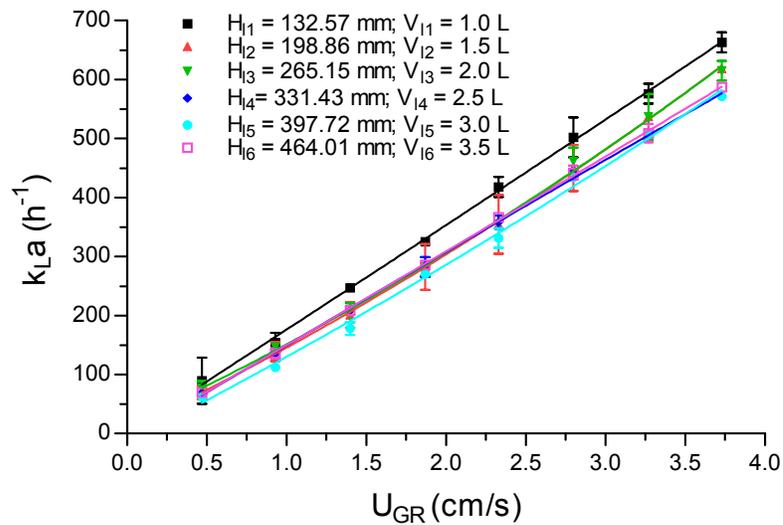


Gráfica 5. $k_{L,a}$ teórico para la columna de burbujeo en función de U_{GR} , utilizando la ecuación de Akita y Yoshida 1, sustituyendo E_g por los valores experimentales obtenidos.

En la Gráfica 5 se observa un incremento en los valores de $k_{L,a}$ a medida que aumentó U_{GR} . Los valores obtenidos se encontraron entre 4.57 y 76.87 h^{-1} .

Al realizar el análisis estadístico se obtuvo que U_{GR} representó el 98.2% de la variación en el $k_{L,a}$ y que la diferencia en los resultados fue significativa al comparar todas las velocidades superficiales del gas.

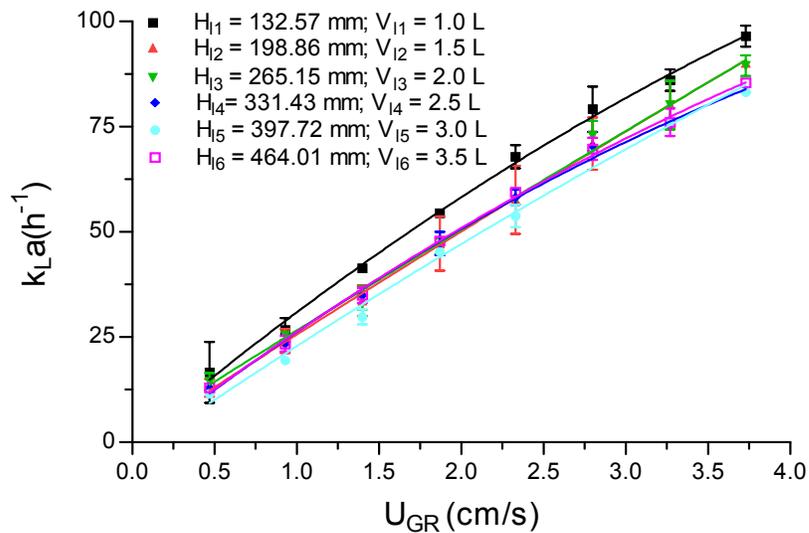
Con un volumen de 1 L se obtuvieron los valores más altos de $k_{L,a}$, además de ser el único volumen que aportó diferencia estadística con respecto a los demás. La interacción entre U_{GR} y H_i no influyó en los valores obtenidos en la determinación del $k_{L,a}$.



Gráfica 6. k_{La} teórico en función de U_{GR} utilizando la ecuación de Akita y Yoshida 2, sustituyendo a' y d_{bms} por los valores experimentales obtenidos para la columna de burbujeo.

En la Gráfica 6 se presentan los datos de k_{La} obtenidos con la ecuación de Akita y Yoshida 2, los cuales fueron mayores que los resultantes del cálculo con la ecuación de Akita y Yoshida 1 para un mismo valor de U_{GR} . Ésto pudo deberse a que con ésta ecuación se considera el d_{bms} y los valores de a' experimentales.

Del análisis estadístico se deriva que se presentó variación entre todas las U_{GR} probadas y el aporte de éste factor al resultado fue de 98.0%.

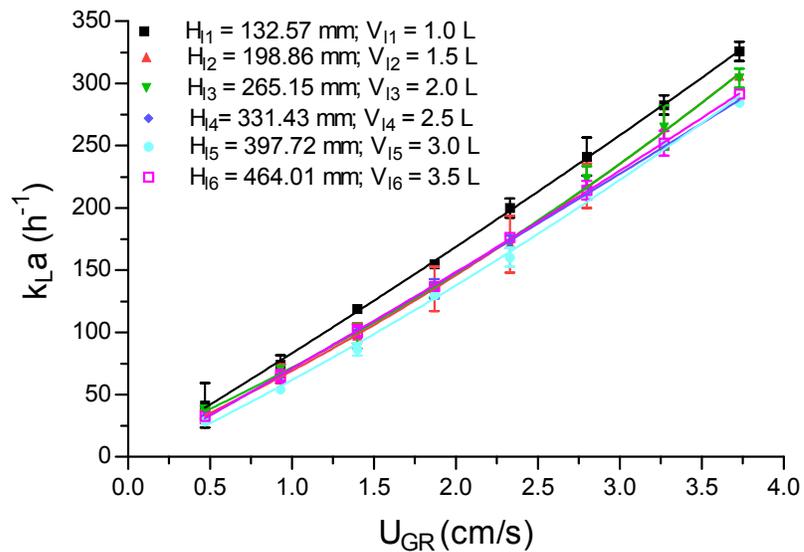


Gráfica 7. k_{La} teórico para la columna de burbujeo en función de U_{GR} utilizando la ecuación de Calderbank₁, sustituyendo a' por los valores experimentales obtenidos.

En la Gráfica 7 se presentan los valores de k_{La} obtenidos con la ecuación de Calderbank para $d_{bms} < 2.5$ mm.

Con el análisis estadístico se determinó que la mayor influencia sobre la variación siguió correspondiendo a U_{GR} (97.5%). Las velocidades de 2.80 y 3.27 cm/s representaron igualdad estadística para ésta ecuación.

En la Gráfica 8 se presentan los valores de k_{La} obtenidos con la ecuación de Bousinesq.



Gráfica 8. k_{La} teórico en función de U_{GR} utilizando la ecuación de Bousinesq, sustituyendo E_g y a' por los valores experimentales obtenidos para la columna de burbujeo.

Con el análisis estadístico se obtuvo que el aporte en la variación del k_{La} por U_{GR} fue de 98.3%. Todas las velocidades ofrecieron diferencias significativas en dicho coeficiente.

Cuadro 3. k_{La} teóricos para la columna de burbujeo con un volumen de 3.5 L.

U_{GR} (cm/s)	k_{La} (h ⁻¹)			
	Akita y Yoshida 1	Akita y Yoshida 2	Calderbank	Bousinesq
0.47	6.032566	69.907730	12.954870	32.400000
0.93	12.933285	135.340600	23.396220	64.800000
1.40	21.025175	208.639600	34.929430	100.800000
1.87	29.416930	286.086200	47.895180	135.800000
2.33	38.909080	366.402300	59.499000	176.400000
2.80	48.174720	442.122900	69.737650	214.200000
3.27	57.605330	509.142400	76.058155	252.000000
3.73	67.634590	587.106400	85.495420	291.600000

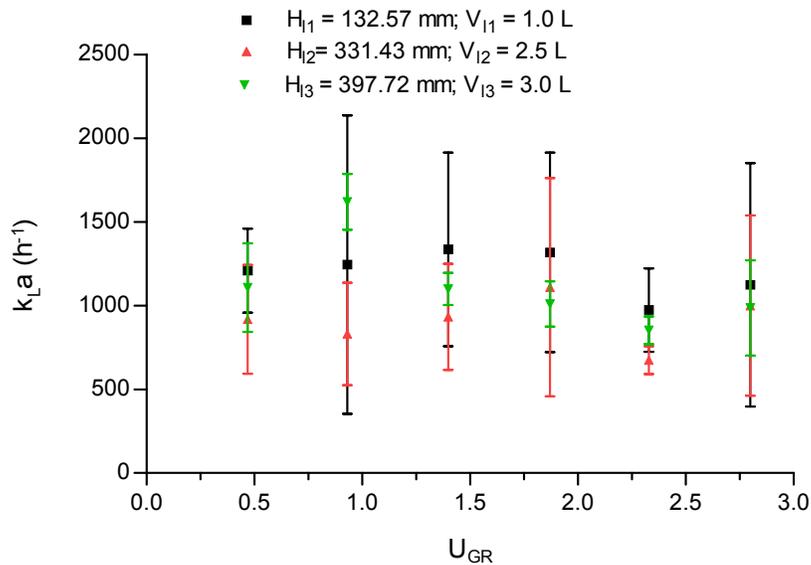
En el Cuadro 2, se muestran los valores de k_{La} obtenidos teóricamente para un volumen de 3.5 L, con las cuatro ecuaciones empleadas. Se puede

observar que con cada una de ellas se encuentran resultados diferentes, obteniéndose valores mayores con la ecuación de Akita y Yoshida 2 y menores con la de Akita y Yoshida 1. Dichas variaciones pudieron ser debidas a los factores que involucran las distintas ecuaciones para el cálculo del $k_L a$. En el caso de las ecuaciones de Akita y Yoshida 1 y 2 y Calderbank se incluyen ciertas propiedades del fluido como son la densidad, la viscosidad y la tensión superficial. En la ecuación de Akita y Yoshida 2 se utiliza, además, el valor experimental de a' . Así mismo, Bousinesq emplea la velocidad superficial del gas en dicha determinación.

Sin embargo, el comportamiento observado en las gráficas obtenidas con los resultados de las cuatro ecuaciones utilizadas fue similar, por provenir de los mismos datos experimentales (E_g y d_{bms}), consecuentemente en todas se observaron los valores mayores a un volumen de 1 L.

6.1.6. Determinación experimental del $k_L a$ en la columna de burbujeo.

En la Gráfica 9 se presentan los resultados del $k_L a$ obtenidos al medir la concentración de oxígeno disuelto (OD) con el electrodo, a distintos volúmenes de líquido y U_{GR} .



Gráfica 9. k_{La} experimental para la columna de burbujeo.

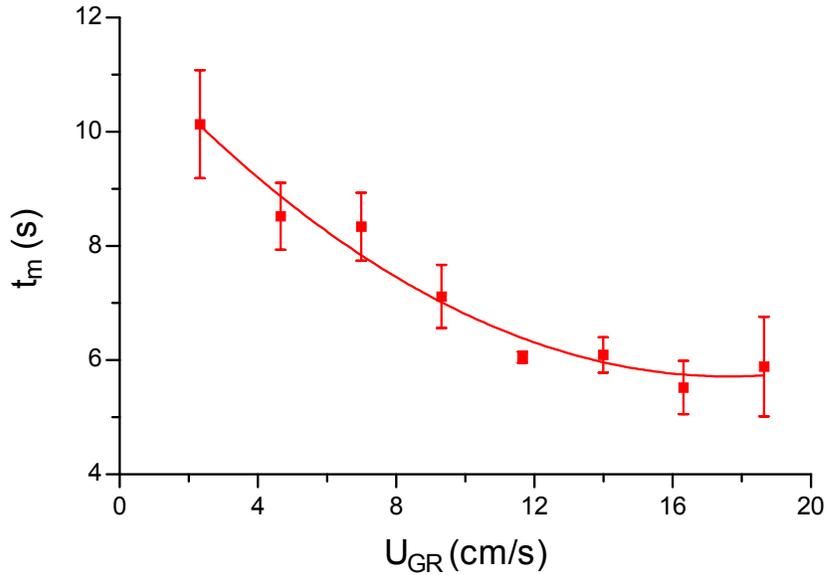
Se observó que los valores de k_{La} obtenidos experimentalmente presentaron una gran dispersión, lo cual no permitió establecer un patrón de comportamiento para dicha determinación, como el observado en los estudios realizados por Sánchez (2000) y Choi, Chisti y Moo-Young (1996) en los que se observó un incremento del k_{La} cuando se aumentó U_{GR} .

Con el análisis estadístico se comprobó que no hubo diferencia significativa entre la velocidad superficial del gas, los volúmenes de trabajo y la interacción de ambos factores. Es decir, en el caso del biorreactor multifuncional operando como columna de burbujeo, el volumen de trabajo y la velocidad superficial del gas, no tuvieron influencia sobre el valor de k_{La} debido al difusor empleado.

6.2. Caracterización del reactor *airlift*.

En las gráficas 10-16 se muestran los resultados promedios y desviaciones estándar obtenidos de la caracterización del reactor en la configuración *airlift*.

6.2.1. Tiempo terminal de mezclado (t_m).

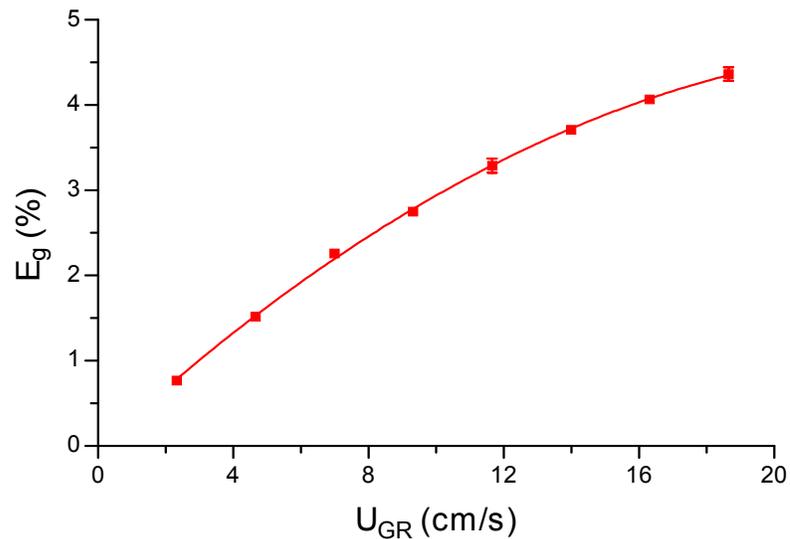


Gráfica 10. Tiempo terminal de mezclado (t_m) para la configuración *airlift* en función de la velocidad superficial del gas (U_{GR}).

En la Gráfica 10 se observa un decremento en el tiempo de mezclado al aumentar U_{GR} .

Con el análisis estadístico se observó que velocidades de 2.33 y 9.32 cm/s ofrecen diferencia significativa entre ellas y con las demás U_{GR} probadas. La velocidad superficial del gas fue el factor más importante en la determinación del tiempo terminal de mezclado, representando el 84.6% de la variación de los resultados. Así mismo, se observó que la configuración *airlift* dio resultados significativamente menores a los de la columna de burbujeo, lo cual nos indica que existió un mejor mezclado con la primera, posiblemente como consecuencia de la recirculación del fluido entre el *riser* y el *downcomer*.

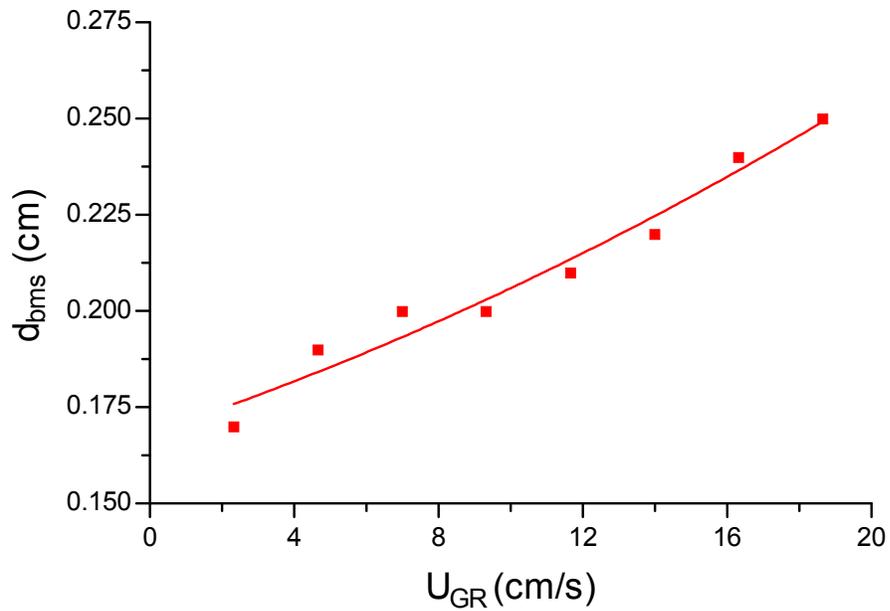
6.2.2. Coeficiente de retención de gas (E_g).



Gráfica 11. Coeficiente de retención de gas (E_g) en función de U_{GR} para la configuración *airlift*.

En la Gráfica 11 se observa un incremento en los valores de E_g cuando se aumentó U_{GR} . Con el análisis estadístico se obtuvo que este factor representa el 78.8% de la variación. Los valores obtenidos fueron significativamente menores a los encontrados en la columna de burbujeo para un volumen semejante, esto pudo deberse a la reducción del área del difusor, debido al sellado de éste en las partes que forman el *downcomer* y que fue necesario para la separación de las áreas o ductos de ascenso y descenso.

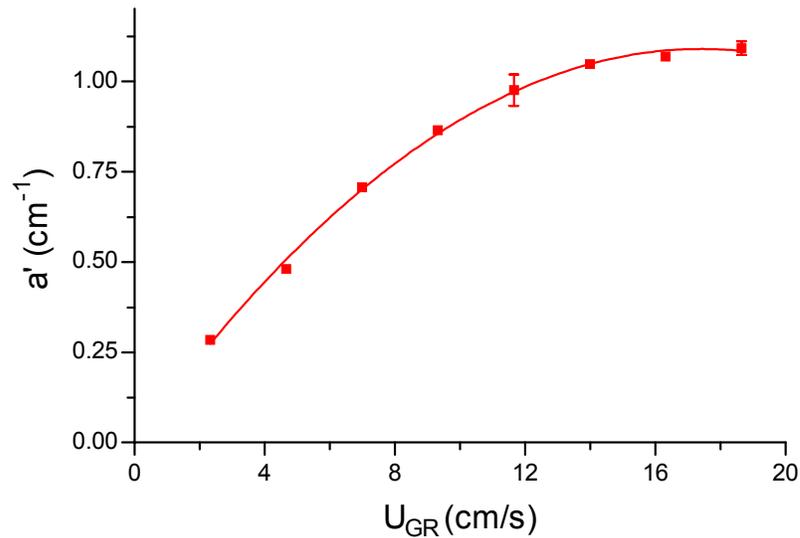
6.2.3. Diámetro de burbuja medio de Sauter (d_{bms}).



Gráfica 12. Diámetro de burbuja (d_{bms}) en función de U_{GR} para la configuración *airlift*.

En la Gráfica 12 se muestran los diámetros de burbuja estadísticos para el caso de la configuración *airlift*, los cuales fueron idénticos a los encontrados en la caracterización del biorreactor multifuncional operando como columna de burbujeo, debido a que en ambos casos se utilizó el mismo difusor.

6.2.4. Área interfacial de contacto gas-líquido (a').



Gráfica 13. Área interfacial de contacto gas-líquido (a') para el reactor *airlift* en función de U_{GR} .

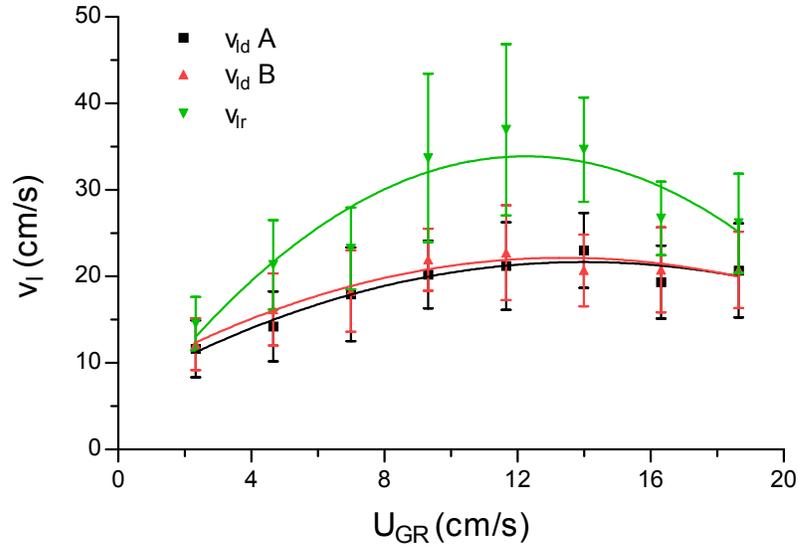
En la Gráfica 13 se observa que al aumentar U_{GR} se incrementó el valor de a' hasta alcanzar un valor máximo de 1.10 cm^{-1} , lo cual podría atribuirse a que al trabajar con U_{GR} elevadas, las burbujas tendieron a coalescer, lo que no permitió incrementar el área interfacial de contacto gas-líquido.

Los valores encontrados fueron menores a los obtenidos de la caracterización de la columna de burbujeo, debido a que la fracción de gas retenido (E_g), en esta configuración fue menor.

Del análisis estadístico se obtuvo que velocidades superficiales del aire de 13.99, 16.32 y 18.65 cm/s, no presentaron diferencia significativa en el valor determinado.

6.2.5. Velocidades de circulación del fluido.

A continuación se muestran las velocidades de circulación del líquido en el *riser* (ducto aireado o de ascenso) y en los *downcomers* (ductos de descenso o retorno) A y B (ver Fig. 10).

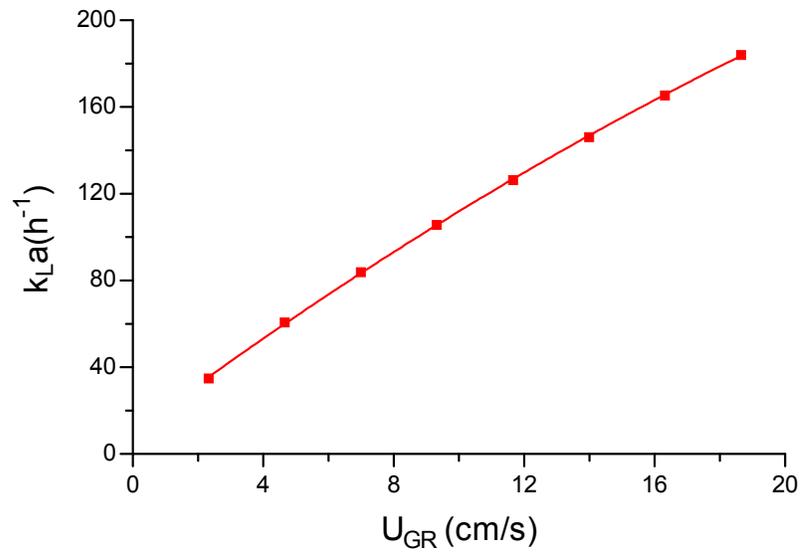


Gráfica14. Velocidad de circulación en el ducto aireado (v_{lr}) y en el ducto de retorno (v_{id}) en función de U_{GR} en la configuración *airlift*.

Del análisis estadístico se desprende que no existió diferencia significativa entre los ductos de descenso A y B. Sin embargo, si hubo diferencia con el *riser*, que aportó velocidades mayores de circulación del líquido. Se observó que a valores de U_{GR} de entre 2.33 y 11.66 cm/s, hubo un incremento de las velocidades de circulación del líquido en ambas regiones (v_{lr} y v_{id}) con el incremento de la velocidad superficial del gas. A valores mayores de U_{GR} , se presentó una disminución en las velocidades de circulación del líquido, que pudo ser consecuencia de la coalescencia de las burbujas y la generación de turbulencia en el fluido; lo que también pudo ocasionar que los resultados fueran muy dispersos.

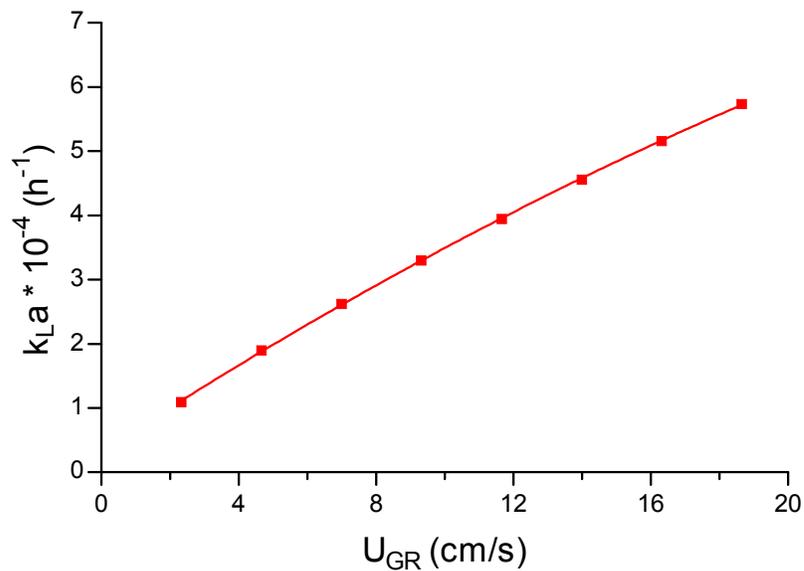
El valor de 2.33 cm/s en U_{GR} ofreció diferencia significativa respecto a todos los demás flujos de aire para las velocidades de circulación de líquido determinadas.

6.2.6. Determinación teórica del k_{La} para el reactor *airlift*.



Gráfica 15. k_{La} teórico en función de U_{GR} para la configuración *airlift*, utilizando la ecuación (15) de Bello y col.

En la Gráfica 15 se presentan los valores de k_{La} teóricos obtenidos al emplear la fórmula (15) de Bello y col. (Galíndez y Ruíz, 1994), se observó que el k_{La} aumentó al incrementarse U_{GR} comprendiendo valores entre 35.6 y 183.6 h^{-1} . Los valores obtenidos fueron mayores a los evaluados con las fórmulas de Akita y Yoshida 1 y Calderbank para el mismo reactor operando como columna de burbujeo, posiblemente como consecuencia de la recirculación del líquido. Sin embargo, fueron menores a los evaluados con las fórmulas de Akita y Yoshida 2 y Bousinesq que pudo deberse a que la fórmula de Bello y col. no considera el valor experimental de a' y propiedades del líquido, como densidad y viscosidad.



Gráfica 16. k_{La} teórico para la configuración *airlift* en función de U_{GR} , utilizando la ecuación (16) de Bello y col., que relaciona presiones, volumen y altura del líquido.

En la Gráfica 16 se presentan los resultados de la determinación teórica del k_{La} con la fórmula (16), también propuesta por Bello y col., en la que se toma en cuenta las presiones, altura y volumen del líquido. Estos valores fueron mayores a los obtenidos en la Gráfica 15, esto se debió a las consideraciones que se hicieron sobre las condiciones de trabajo (presiones, altura y volumen del líquido).

Los valores de k_{La} obtenidos empleando la fórmula (16) fueron mayores a los encontrados durante la determinación teórica en la caracterización del biorreactor multifuncional operando como columna de burbujeo, lo que resultó acorde a la teoría, que indica que el separar el reactor en dos zonas, que es el caso del *airlift*, se mejora la transferencia de oxígeno (Chisti y Moo-Young, 2002).

6.3. Caracterización hidrodinámica del reactor agitado mecánicamente.

6.3.1. Determinación del tiempo terminal de mezclado (t_m).

En el Cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos al determinar el tiempo de mezclado con dos diferentes motores (43 y 307 rpm). El experimento se hizo sin la introducción de aire para poder determinar solamente el tiempo de mezclado aportado por el motor.

Cuadro 4. Tiempo terminal de mezclado (s) para la configuración RAM.

Tiempo de mezclado (s)		
Repeticiones	43 rpm	307 rpm
1	27.44	3.13
2	48.16	3.65
3	35.84	4.41
4	36.69	3.31
5	44.97	3.38
6	49.12	3.00
Promedio	40.37	3.48

El tiempo de mezclado con el motor que gira a 43 rpm fue mayor que el de la columna para el mismo volumen a cualquier velocidad de aireación. En el caso del segundo motor, el resultado obtenido fue semejante al observado en la columna de burbujeo operando con el mismo volumen con un gasto de aire de 4 LPM.

El resultado obtenido con el primer motor sugiere que éste puede ser utilizado para el cultivo de microorganismos sensibles a las fuerzas de corte, como en el caso de hongos filamentosos.

Con el segundo motor (307 rpm) se logró un mejor tiempo de mezclado, sin embargo, se presentó la desventaja de formación de *vortex*, lo que puede

alterar el crecimiento de los microorganismos al someterlos a un mayor esfuerzo cortante, por lo que sería más recomendable su uso en la homogenización de medios de cultivo.

7. CONCLUSIONES.

- Se construyó un reactor que puede intercambiarse de una TCGL a una configuración RAM.
- Se obtuvieron tiempos de mezclado promedios entre 2.5 y 15.1 s para la columna de burbujeo; 5.7 y 10.1 s para la configuración *airlift*; 40.4 s para el RAM con el motor de 43 rpm y 3.5 s con el RAM de 307 rpm.
- En la determinación teórica del $k_L a$ se obtuvieron resultados promedio entre 62.1 y 662.8 h^{-1} para la columna de burbujeo y de 10,912.0 a 57,380.8 h^{-1} para la configuración *airlift*.
- En la determinación del $k_L a$ experimental en la columna de burbujeo no se observó una mejor transferencia de oxígeno con el aumento de la velocidad superficial del gas.
- El difusor proporcionó d_{bms} aceptables, sin embargo no brindó homogeneidad en la distribución de las burbujas, lo cual favoreció la coalescencia de las mismas.
- La recirculación que se presentó en la configuración *airlift* mejoró el tiempo de mezclado y la transferencia de oxígeno con respecto a la columna de burbujeo.
- La agitación mecánica mejoró el tiempo de mezclado, pero favoreció la formación de vortex a velocidades de agitación elevadas.

8. PERSPECTIVAS.

Al concluir este trabajo se pueden hacer ciertas recomendaciones para trabajos futuros.

- Debido a los problemas presentados con el difusor utilizado se propone probar otros como los de placas perforadas o de placa filtrante de distinta porosidad, con los que se pueda conseguir mayor uniformidad en la distribución de las burbujas.
- Construir el cuerpo para la configuración RAM y motores que ofrezcan velocidades de agitación variables, de manera que se permita trabajar con una mayor variedad de medios de cultivo y tipos de microorganismos.
- Probar distintos tipos de agitadores, como las turbinas Rushton, de paletas encorvadas y paletas inclinadas.
- Probar nuevas configuraciones en el biorreactor empleando al mismo tiempo agitación neumática y mecánica.
- Caracterizar el equipo con distintos medios de cultivo y evaluar la transferencia de oxígeno.
- Realizar cinéticas de fermentación empleando el biorreactor en sus diferentes configuraciones para determinar con cual de ellas se obtienen mejores resultados.

BIBLIOGRAFÍA.

Bailey James E. y David F. Ollis. 1996. *Biochemical Engineering Fundamentals*. Mc. Graw-Hill, U. S. A., 610-614.

Bertoline G., E. Wiebe, C. Millar y J. Moler. 1999. *Dibujo en Ingeniería y Comunicación Gráfica*, Mc. Graw-Hill, México, 14-55.

Castañón González José Humberto. 1999. *Construcción y Caracterización de una Torre de Contacto Gas-Líquido para Tratamiento de Residuos Fenólicos*, Instituto Politécnico Nacional, México, 15-18, 24-28.

Chisti M. Y. 1989. *Airlift Bioreactors*, Elsevier Applied Science, U.S.A., 1-14, 33-42.

Chisti Yusuf. y U. J. Jauregui-Haza. 2002. Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors. *Biochem. Eng. J.* Nueva Zelanda y Cuba, **10** (2002): 143-153.

Chisti Yusuf y Murray Moo-Young, 2002. Bioreactors, *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, Vol. 2 (On-line), Academic Press, 247-266.

Choi K. H., Y. Chisti y M. Moo. Young. 1996. Comparative evaluation of hydrodynamic and gas-liquid mass transfer characteristics in bubble column and airlift slurry reactors. *The Chemical Engineering Journal*, Canada, **62** (1996): 223-229

Crueger H y A. Crueger. 1989. *Biotechnology. A Textbook of Industrial Microbiology*, Sinauer Associates, Inc., U.S.A., 1-3, 74-81.

- Fieldson Gregory. 1988a. *Fermenter Agitation*. En <http://www.esb.ucp.pt/~bungah/ferment/fermentb.htm>. Accesada Octubre 02, 2002.
- Fieldson Gregory. 1988b. *Why baffles are hended*. En <http://www.esb.ucp.pt/~bungah/ferment/swirl.htm>. Accesada Octubre 02, 2002.
- Franco García Angel. 2004, Medida de la tensión superficial. Ley de Tate, *Física con Ordenador. Curso interactivo de Física en Internet*, En: <http://www.sc.ehu.es/sbweb/fisica/fluidos/tension/tate/tate.htm>. Accesada Octubre 11, 2004.
- Galíndez Mayer J. y N. Ruiz Ordaz. 1994. *Bioingeniería. Fundamentos biocinéticos para el diseño de procesos fermentativos*, Instituto Politécnico Nacional, México, 93.
- Geankoplis Christie J. 1999. *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias*, Compañía Editorial Continental, México, 162, 447, 940, 944, 955.
- López Perez Laurence. 1997. *Evaluación Hidrodinámica de un Biorreactor Airlift. Efecto del diámetro del difusor*, Instituto Politécnico Nacional, México, 4-6, 11-13, 21-34.
- Metcalf y Eddy, Inc., 1991. *Wastewater Engineering. Treatment, Disposal and Reuse*, Mc Graw-Hill, Singapore, 276-285.
- Munari Bruno. 1993. *¿Cómo nacen los objetos?*, G. Gili, México, 18-64.
- Nielsen Jens, John Villadsen y Lidén Gunnar. 2003. *Bioreaction Engineering Principles*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, U.S.A., 423-438.

- Ordaz C., Leobardo, M. T. Ponce, C. Orozco A., O. Morales G., M. González M., A. Hernández A. y B. Peña F. 2004. Producción de Astaxantina con *Phaffia rhodozyma*: estudios en cultivo en lote alimentado. En: *Memorias del XIV Congreso Nacional y III Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica* (CD-ROM), México, 6.11.17.
- Ruiz Ordaz Nora, Cleotilde Juárez Ramírez, Humberto Castañón González, Alvaro Lara Rodríguez, Eliseo Cristiani Urbina y Juvencio Galíndez Mayer. 2000. *Aerobic bioprocesses and bioreactors used for phenol degradation by free an immobilized yeast cells*, *Recent Res. Devel. Biotech. & Bioeng*, 3, 83-94.
- Sánchez Teja Omar. 2000. *Diseño, Construcción y Evaluación de un Prototipo de Reactor Airlift para Procesos de Volumen Variable*, Instituto Politécnico Nacional. México, 29-33, 43-84.
- Schügerl Kart. 1987. *Bioreaction Engineering*, Vol 1., Ed. John Wiley & Sons, Gran Bretaña, 1-10.
- Scragg Alan. 1997, *Biotecnología para Ingenieros. Sistemas biológicos en Procesos Tecnológicos*, LIMUSA, México, 287-311.
- Scriban Rene. 1985. *Biotecnología*, El Manual Moderno, México, 168-216, 233.
- Smith John E. 1996. *Biotechnology*, Cambridge, Gran Bretaña, 46-53.
- Stanbury P.F. y A. Whitaker. 1989. *Principles of Fermentation Technology*, Pergamon Press, Inglaterra, 120-144.

- UBA. 2004. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica, *Guía de Trabajos Prácticos. Biotecnología I, Transferencia de Oxígeno*. En: http://www.ffyb.uba.ar/micro_ind/biot1/TPS/GTP2004.doc. Accesada Octubre 11, 2004.
- UNAM. 2004. Universidad Nacional Autónoma de México. *Sensor de Oxígeno Disuelto*, En: <http://paidoteca.dgsca.unam.mx/neopaidoteca/acervos/area-exp/practicassensores/leac09html>. Accesada Octubre 19, 2004.
- Verlaan P., J.-C. Vos y K. van't Riet. 1988, *From Bubble Column to Airlift- Loop Reactor: Hydrodynamics and Axial Dispersion of the Transition Flow Regime*. En *2nd International Conference on Bioreactor Fluid Dynamics*, Ed. Elsevier Applied Science Publishers, Inglaterra, 259-261.

APÉNDICES

APÉNDICE A. CONCENTRACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUA DESTILADA SATURADA DE AIRE.

Cuadro A-1. Concentración de OD (mg/L) en agua destilada saturada de aire a distintos valores de temperatura (°C) y presión (mm de Hg).

P T	720	710	700	690	680	670	660	650
15	9.62	9.48	9.35	9.22	9.08	8.95	8.82	8.68
16	9.42	9.29	9.15	9.02	8.89	8.76	8.63	8.50
17	9.22	9.10	8.97	8.84	8.71	8.58	8.45	8.33
18	9.04	8.91	8.79	8.66	8.54	8.41	8.28	8.16
19	8.86	8.74	8.61	8.49	8.37	8.24	8.12	8.00
20	8.69	8.57	8.45	8.33	8.20	8.08	7.96	7.84
21	8.52	8.40	8.28	8.17	8.05	7.93	7.81	7.69
22	8.36	8.25	8.13	8.01	7.90	7.78	7.67	7.55
23	8.21	8.09	7.98	7.87	7.75	7.64	7.52	7.41
24	8.06	7.95	7.84	7.72	7.61	7.50	7.39	7.28
25	7.92	7.81	7.70	7.59	7.48	7.37	7.26	7.15

Tomado de UNAM (2004).

APÉNDICE B: MANUAL DE ARMADO DEL EQUIPO.

El Biorreactor Multifuncional está conformado en tres partes (base, cuerpo y tapa), las cuales son de vidrio. Se cuenta con bridas de acrílico, empaques de neopreno y tornillos con tuercas de mariposa para la unión de las tres partes.

En la base se encuentra un difusor de placa filtrante #0153. El cuerpo del reactor posee cuatro llaves, con lo que se permite trabajar distintos volúmenes y operar en forma continua, por lotes o semi-continua. La tapa tiene entradas para medidores de temperatura, pH y oxígeno disuelto. El equipo cuenta con *baffles* de teflón y acrílico que pueden ser colocados para funcionar como un reactor *airlift*.

Puede funcionar con agitación neumática o mecánica, ya que se cuenta con un agitador mecánico de acero inoxidable. El material con el que está construido y el hecho de ser desmontable permiten que sea esterilizado en autoclave.

Especificaciones:

Volumen total: 4.1 L

Volumen máximo de trabajo: 3.5 L

Dimensiones de la columna: 9.8 * 54.3 cm (d*h)

Velocidades de flujo de gas: 1-10 LPM.

Armado de equipo.

Para el armado del equipo se requieren los siguientes materiales:

Reactor (base, cuerpo y tapa)

Rotámetro de 1-10 LPM.

4 bridas de acrílico

12 tornillos

12 rondanas

12 tuercas de mariposa

4 empaques de neopreno

Grasa silicón o vaselina

1 soporte universal

1 pinzas para bureta

Mangueras

Pinzas para manguera

Para el ajuste de los *baffles*:

2 *Baffles*

4 tornillos de acero inoxidable

8 placas de acero inoxidable

16 tuercas de acero inoxidable

16 rondanas de acero inoxidable

Llave española



Foto 5. Partes principales en el armado del reactor.



Foto 6. Piezas para el armado de la configuración *airlift*.

El armado se efectúa como sigue:

1. Se colocan las mangueras a la entrada y salida del rotámetro.
2. El rotámetro se sujeta al soporte universal con ayuda de las pinzas para bureta.¹

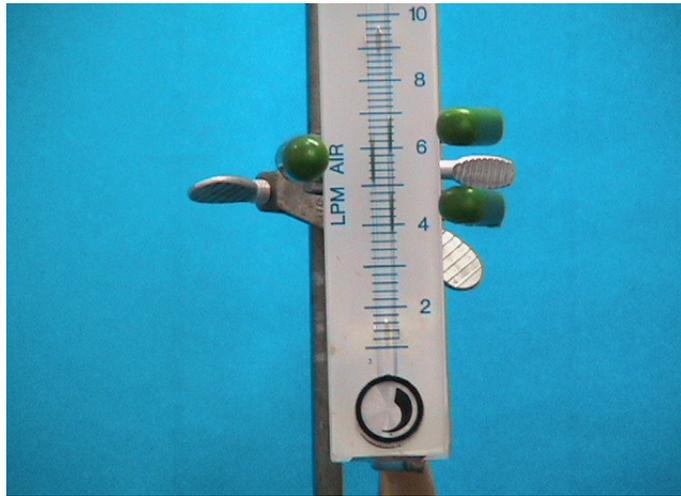


Foto 7. Rotámetro sujeto al soporte universal.

3. Untar vaselina o grasa silicón² en el borde superior de la base.

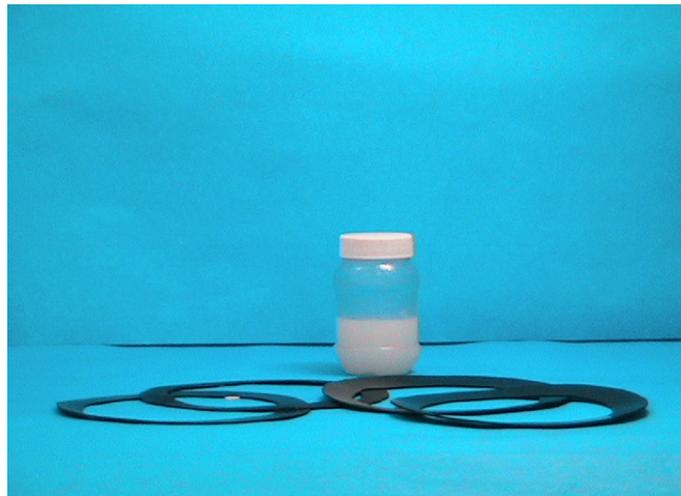


Foto 8. Empaques de neopreno y grasa silicón.

¹ Si se quiere trabajar el reactor como *airlift* seguir los pasos a) - i) que se muestran adelante.

² La grasa silicón, vaselina y los empaques de neopreno, no son aptos para utilizarse con alimentos.

- Colocar dos empaques de neopreno sobre el borde, uniendo ambos empaques con la misma grasa.



Foto 9. Empaques de neopreno unidos a la base del reactor.

- Untar grasa sobre el borde inferior del cuerpo y unir a la base.



Foto 10. Base unida al cuerpo.

- Unir las bridas D1 y D2 alrededor de la base, para mayor facilidad puede usarse cinta adhesiva.

- Unir las bridas C1 y C2 alrededor de la parte inferior del cuerpo cuidando que la ranura en la C1 quede bajo la llave de salida.

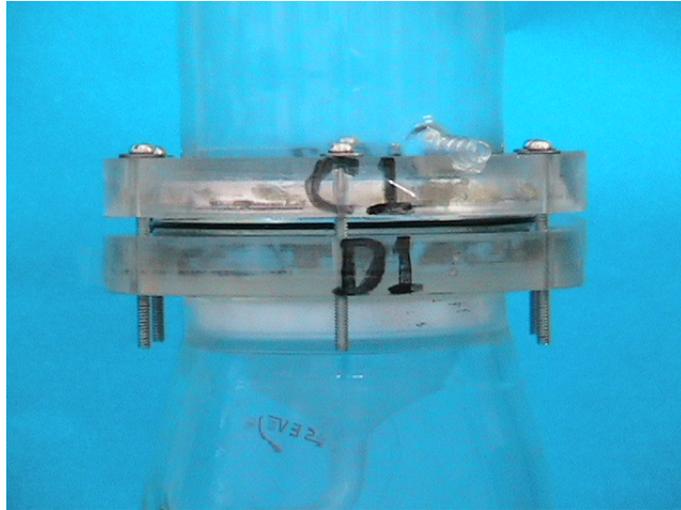


Foto 11. Bidas C y D unidas.

- Hacer coincidir los puntos perforados en las bridas C con los de las D.
- Introducir las rondanas en los tornillos y posteriormente colocarlos en las perforaciones de las bridas.
- Introducir las mariposas y apretarlas de dos en dos en forma encontrada.

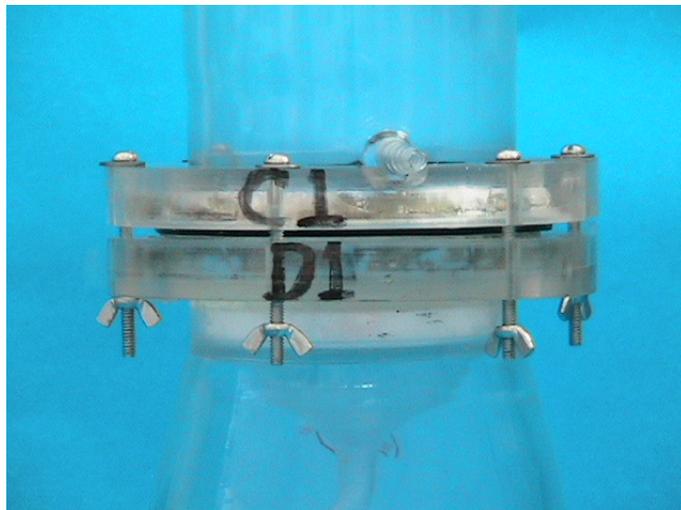


Foto 12. Ajuste de los tornillos para fijar la base al cuerpo.

- Colocar grasa sobre la parte superior del cuerpo del reactor.

12. Colocar dos empaques como en el paso 4.
13. Untar grasa en el borde de la tapa y unirla al cuerpo.



Foto 13. Tapa unida al cuerpo.

14. Colocar la brida A sobre la tapa y las bridas B1 y B2 alrededor de la parte superior del cuerpo.
15. Hacer coincidir las perforaciones de las bridas.
16. Introducir los tornillos y apretarlos como en los pasos 9 y 10.



Foto 14. Unión y ajuste de bridas A y B.

17. Introducir la manguera superior del rotámetro en la llave que se encuentra en la base.

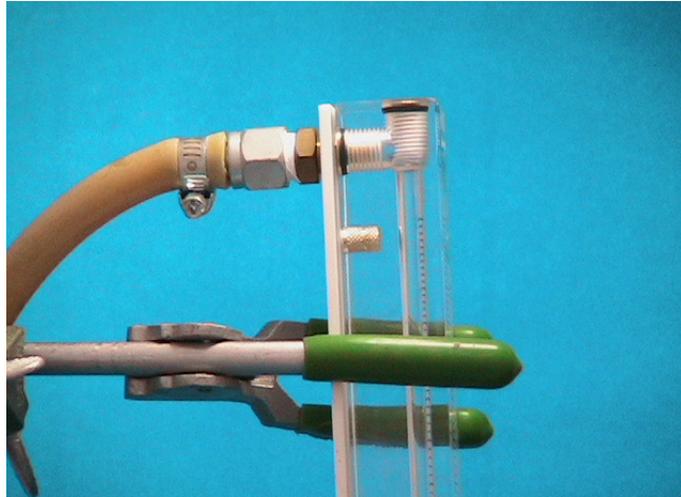


Foto 15. Manguera superior del rotámetro.



Foto 16. Introducción de la manguera de aire en el reactor.

18. Colocar la manguera inferior del rotámetro en la llave de suministro del aire.

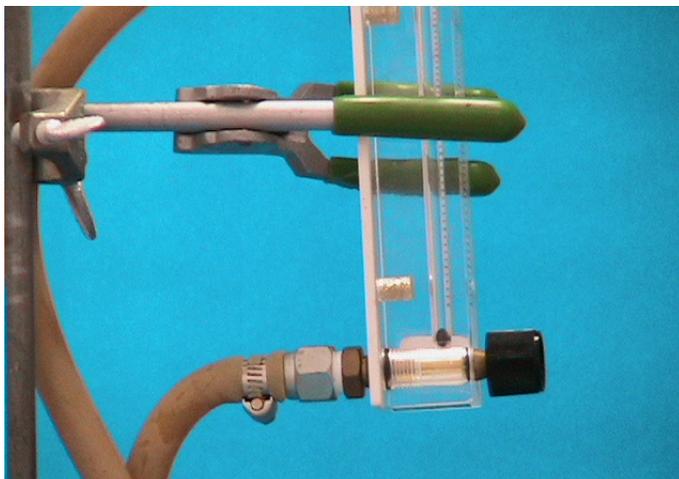


Foto 17. Manguera inferior del rotámetro.



Foto 18. Manguera inferior del rotámetro conectada a la toma de aire del laboratorio.

19. Colocar las mangueras de llenado y vaciado del reactor en las llaves que se requieran y bloquear las otras salidas con ayuda de trozos de manguera y pinzas de plástico.

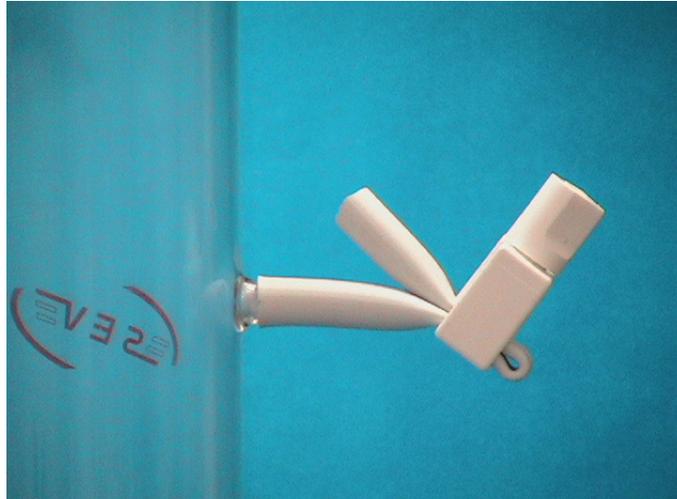


Foto 19. Uso de trozos de manguera y pinzas de plástico para bloquear las salidas del reactor sin uso.

20. Introducir los medidores de pH, temperatura y oxígeno disuelto en las perforaciones de la tapa si se requiere.



Foto 20. Reactor armado y unido al rotámetro.

21. Regular el flujo de aire con las llaves de las instalaciones, lo que se consigue al hacer que en el rotámetro el indicador quede sobre la línea que marca el flujo deseado.³

22. Llenar el reactor.

Pasos para el armado del reactor *airlift*.

a) Hacer coincidir los orificios de las placas de acero con uno de los extremos de cualquiera de los *baffles*.⁴



Foto 21. Placas sobre los *baffles*.

b) Atravesar los tornillos en las placas y *baffles* unidos, procurando que salgan aproximadamente 2 cm en el lado exterior del *baffle*.

c) Colocar una placa grande en el otro lado del *baffle*; introducir rondanas en ambos lados de los tornillos y ajustar con las tuercas.

³ Cuando se trabaja con agitación neumática (aire u otro gas) se debe verificar que quede una salida abierta en el reactor a fin de no ejercer presión dentro del mismo.

⁴ Las placas pequeñas van en el lado del *baffle* que tiene el canto, que es la parte exterior.

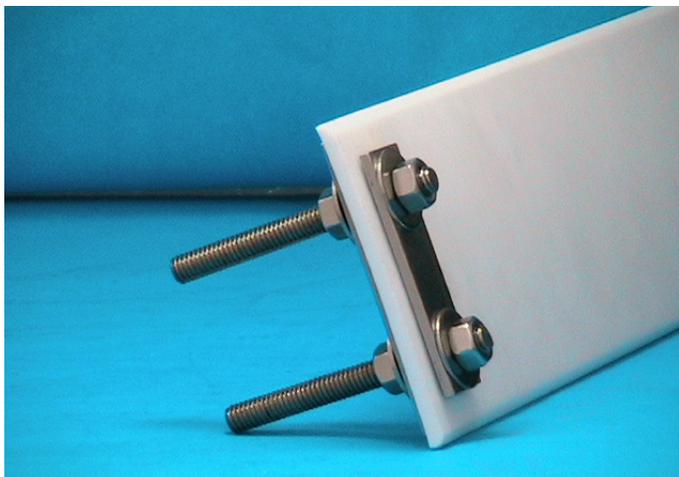


Foto 22. Introducción y ajuste de los tornillos en *baffles*.

d) Repetir los pasos anteriores en el otro extremo del *baffle*.

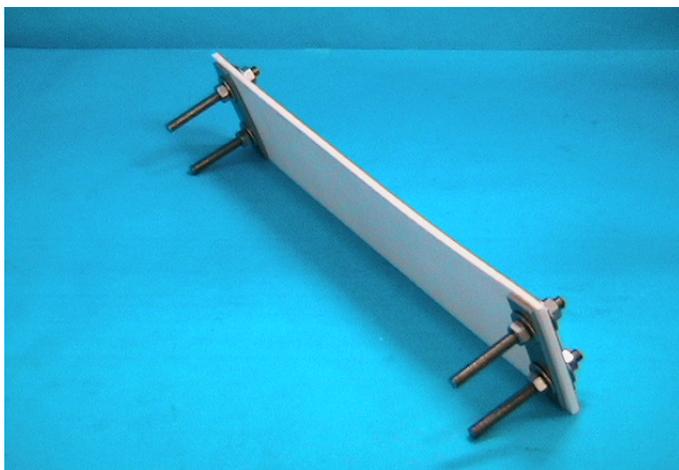


Foto 23. *Baffle* con placas y tornillos.

e) Colocar tuercas, rondanas y placas en el extremo libre de los tornillos.

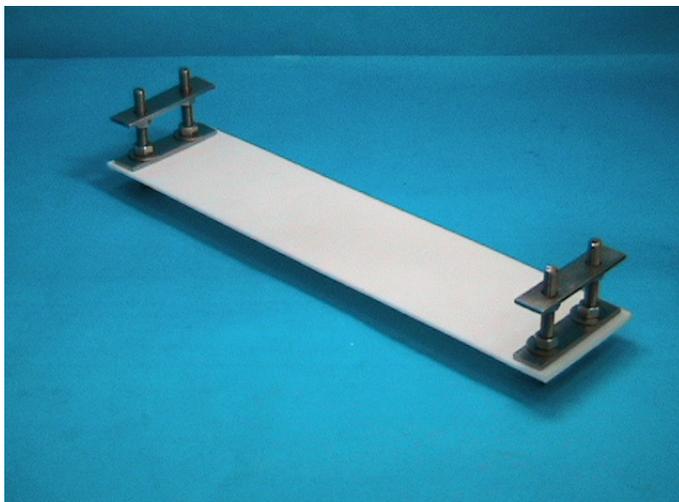


Foto 24. Introducción de las placas para unión del segundo *baffle*.

- f) Unir el *baffle* 2 y colocar la placa, rondanas y tuercas igual que en el otro *baffle*.



Foto 25. Unión y ajuste de los dos *baffles*.

- g) Introducir los *baffles* unidos en el cuerpo del reactor, procurando que salgan aproximadamente 1 cm de la parte inferior del cuerpo.



Foto 26. Saliente de los *baffles* en la parte inferior del reactor.

- h) Ajustar la abertura de los *baffles* en ambos extremos del cuerpo del reactor con ayuda de una llave española.



Foto 27. Ajuste de los *baffles* en el reactor.

Desarmado del equipo.

Una vez que el equipo se ha terminado de usar, proseguir como se indica a continuación.

1. Cerrar la entrada de aire.
2. Vaciar el contenido del reactor utilizando las mangueras de salida.
3. Retirar las mangueras y medidores de pH, temperatura y oxígeno disuelto.
4. Quitar los tornillos que sujetan las bridas A y B.
5. Quitar las bridas.
6. Separar la tapa del cuerpo y retirar los empaques.
7. Retirar los tornillos que sujetan las bridas C y D.
8. Separar el cuerpo de la base y retirar los empaques.
9. Aflojar los tornillos de los *baffles* y retirarlos.

Limpieza del biorreactor.

1. Limpiar la grasa de los empaques y las uniones de las partes con papel higiénico o algodón.
2. Lavar las partes del biorreactor, empaques, *baffles*, bridas, mangueras y piezas de acero inoxidable con agua y jabón.
3. Dejar secar.

Si durante el lavado el agua y jabón no son suficientes para eliminar residuos o manchas difíciles, pueden utilizarse ácidos, álcalis, sanitizantes o soluciones calientes.