

DISEÑO DE UN BIORREACTOR EMPACADO CON CÉLULAS INMOVILIZADAS

Raymundo Erazo E.

Departamento Académico de Procesos, Facultad de Química e Ingeniería Química,
UNMSM, Av. Venezuela s/n., Ciudad Universitaria, Lima - Perú.

Abstract: A packed-bed bioreactor was designed with immobilized cells on a ceramic inert support (Instalox seats). The design equations, considering an ideal plug-flow tubular bioreactor, were solved with appropriate algorithms installed in Mathcad 7P, obtaining a volume of 10 L for the appropriate design restrictions. It was determined that for small bioreactors it is not necessary to consider the pattern of axial dispersion and that the isothermic operation is possible for the high degree of retromixing of coolant in the jacket.

Key words: Design of a bioreactor, immobilized cells.

Resumen: Se diseñó un biorreactor de lecho empacado con células inmovilizadas con un soporte inerte cerámico (sillas de Instalox). Las ecuaciones de diseño, considerando flujo de tapón, se resolvieron con los algoritmos apropiados instalados en Mathcad 7P, obteniéndose un volumen de 10 L para las apropiadas restricciones de diseño. Se determinó que para biorreactores pequeños no es necesario considerar el modelo de dispersión axial y que la operación isotérmica es posible por el alto grado de retromezcla del refrigerante en la camisa.

Palabras claves: Diseño de un biorreactor, células inmovilizadas.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este trabajo es diseñar un biorreactor de lecho empacado usando células inmovilizadas sobre un material de soporte inerte tal como un cerámico (sillas de Instalox). Este sistema se caracteriza por la interacción célula soporte; por lo que estamos ante un biorreactor de biopelícula, en el cual el soporte ofrece la ventaja de prolongar la vida útil del biocatalizador, dado que el CO_2 producido no atenta de un modo drástico sobre la integridad de la película biocatalítica. Otra ventaja de usar un material cerámico es su relativa alta área específica, lo que permite asegurar operaciones hasta por varios meses sin recarga del biocatalizador [1].

Considerando que esta aproximación debe proyectarse hacia el diseño de un fermentador a escala comercial, formulamos un modelo que tome en cuenta efectos de dispersión axial.

DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La reacción de la glucosa para la producción de etanol se lleva a cabo en un biorreactor de lecho empacado con soporte de material cerámico (sillas de Instalox), en el cual serán soportados células de *Saccharomyces*

Cerevisiae. El procedimiento de arranque consiste en la esterilización previa del material de empaque y cubrimiento con una solución de gelatina al 25%, secado y mojado con una solución de glutaraldehído al 3%. Después del secado, el exceso de glutaraldehído es removido mediante lavado con agua destilada. El empaque es luego introducido dentro del biorreactor y esterilizado con óxido de etileno.

Un cultivo de cepas de *Saccharomyces Cerevisiae* (ATCC 24860) en la fase exponencial de crecimiento se introduce dentro de la columna y se dejar estar por espacio de ocho horas. Luego se deja ingresar alimentación fresca. Se plantea obtener una conversión entre el 80 y 95% en la salida. Las concentraciones de los productos y substratos así como el pH, deben ser monitoreados a lo largo del biorreactor. La temperatura de operación debe mantenerse a 30°C y el tiempo de retención de la columna se determinó drenando la misma bajo condiciones de pseudo estado estable.

Se tratará un flujo de alimentación de 1,33 L/h de glucosa al 20% p/p utilizando un biorreactor empacado y encamizado. Para este propósito, debemos calcular el volumen de dicho biorreactor para obtener una conversión de glucosa

del 95%, con un rendimiento de etanol aproximadamente igual a 47%. La cinética que gobierna esta reacción se discute ampliamente en la referencia [2].

ECUACIONES DE DISEÑO

La reacción de producción de etanol a partir de la glucosa es una reacción cuya estequiometría es conocida. Escribiendo el balance global de materia en forma adimensional tanto para sustrato y producto; la concentración de biomasa prácticamente es constante [2] y considerando el biorreactor como un PFB, se tiene:

$$\frac{dy_2}{d\xi} = -\beta Da \frac{Y_2}{a + Y_2} \text{Exp}(-K_m Y_3) \quad (1)$$

$$\frac{dy_3}{d\xi} = Da p \frac{Y_2}{ap + Y_2} \text{Exp}(-K_n Y_3) \quad (2)$$

Donde:

$$\begin{aligned} \xi &= z / L, & y_2 &= S / S_0, \\ y_3 &= P / S_0, & \beta &= 1 / (y_{x/s}) \end{aligned} \quad (3)$$

El balance de energía aplicado al PFB, considerando operación isotérmica, que la ley de velocidad está gobernado por la ecuación de Monod, es decir, el término

$[\text{Exp}(-K_n y_3)] \rightarrow 1$ y resolviendo para T_s , se tiene:

$$T_s = T + \frac{\mu_{\max} X S_0 (1 - X_s)}{Y_{x/s} [K_s + S_0 (1 - X_s)]} \left[\frac{\Delta H_R(T)}{UA} \right] \quad (4)$$

Dispersión axial

El análisis del efecto de dispersión axial lo realizamos considerando una sección del biorreactor de lecho empacado de radio r , espesor Δr y longitud Δz , tal como se muestra en la figura 1, a través del cual la mezcla de reacción fluye sistemáticamente en donde prima la dispersión axial del material sobre la dispersión radial.

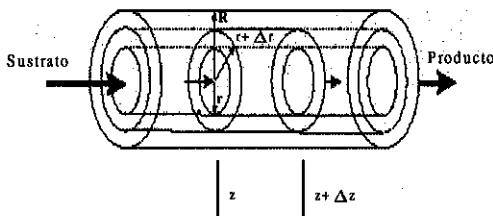


Figura 1. Mezclado parcial en la dirección radial y mezclado parcial en la dirección axial de un biorreactor tubular

Asumiendo que el biorreactor opera en estado estable, el balance de materia para el sustrato en la fase líquida es:

$$\epsilon D_e \frac{d^2 S}{dz^2} - v \frac{dS}{dz} - r_s = 0 \quad (5)$$

El cual se puede resolver con las usuales condiciones de frontera de Danckwerts [3]. Además, consideramos que la ley de velocidad dado por:

$$-r_s = \mu_{\max} X \frac{S}{K_s + S} \text{exp}(-K_m P) \quad (6)$$

puede ser expresado en su forma simple de Monod, como:

$$-r_s = \mu_{\max} X \frac{S}{K_s + S} \quad (7)$$

En estas condiciones, usando la forma adimensional de la Ec.(5) con las correspondientes condiciones de frontera y la Ec.(7) también adimensionalizada, obtenemos:

$$\frac{1}{Pe} \frac{d^2 y}{d\xi^2} - \frac{dy}{d\xi} - \beta Da \frac{1}{a + y} = 0 \quad (8)$$

con las condiciones de frontera

$$\text{para } \xi = 0, \quad y = 1 + \frac{1}{Pe} \frac{dy}{d\xi} \quad (9)$$

$$\text{para } \xi = 1, \quad \frac{dy}{d\xi} = 0 \quad (10)$$

Discretizando las Ecs. (8) a (10) mediante diferencias finitas se obtienen:

$$y_1 = (Pe \cdot \Delta \xi - 1) Y_0 + Pe \Delta \xi \quad (11)$$

$$y_{i+1} = (2 + Pe \Delta \xi) y_i - (1 + Pe \Delta \xi) y_{i+1} + \frac{\beta \cdot Da \cdot Pe \Delta \xi^2 y_i}{(a + y_i)} \quad (12)$$

$$y_N = y_{N+1} \quad (13)$$

Para resolver las Ecs. (11) a (13), previamente deben evaluarse las constantes y parámetros adimensionales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los cálculos se efectúan usando el algoritmo de Runge Kutta de cuarto orden y otros implementados en Mathcad 7P. Los datos cinéticos siguientes son tomados de la referencia [4]:

$$\begin{aligned} \mu_{\max} &= 0,102 \text{ h}^{-1}; & v_{\max} &= 1,4 \text{ h}^{-1}; \\ K_s &= 0,86 \text{ g/L}; & K_{SP} &= 0,67 K_s \text{ g/L}; \\ K_1 &= 0,016 \text{ L/g}; & K_2 &= 0,016 \text{ L/g}; \\ Y_{x/s} &= 0,035; & X &= 21,6 \text{ g/L}; \\ U &= 110 \text{ J/m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{K}; & dp &= 0,704 \text{ cm}; \\ v &= 3,021 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}. \end{aligned}$$

Para efectos del diseño, fijamos un diámetro de biorreactor igual a 8,0 cm, una concentración de glucosa en el alimento de 200 g/L y trataremos un caudal de 1330 mL/h.

Conforme a heurísticos de la ingeniería de las reacciones químicas [5,6,7,8], elegimos $\varepsilon = 0,4$ y el volumen del biorreactor se calcula estimando la longitud para el cual la conversión a producto alcance a un valor aproximado de 47%. Este valor es real, por cuanto el teórico es 51,1%, la diferencia se explica por pérdidas de etanol a la atmósfera por evaporación y absorción por las células y el empaque.

Balance de materia

Las ecuaciones (1) y (2) se resuelven usando R-K-IV con las condiciones iniciales siguientes, para $\xi = 0$, $y_2 = 1$, $y_3 = 0,0$. El vector de condiciones iniciales es:

$$y = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix}$$

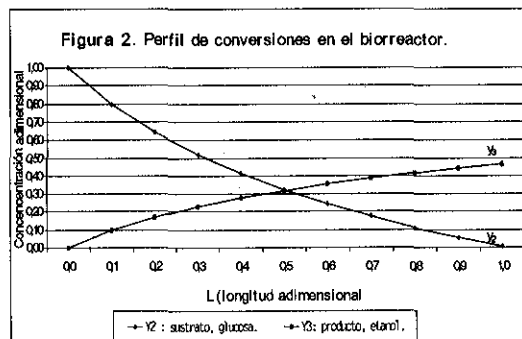
y, el vector de funciones adimensionales se escribe como:

$$D(x, y) = \begin{bmatrix} \frac{-\beta \cdot Da \cdot y_2 \cdot \exp(-Km \cdot y_3)}{(a + y_2)} \\ \frac{Dap \cdot y_2 \cdot \exp(-K_n \cdot y_3)}{(ap + y_2)} \end{bmatrix}$$

La solución es obtenida con la función $Z = \text{rKfixed}(y, 0, 1, 10, D)$ y los resultados se muestran en la figura 2.

De la figura 2 se observa que para obtener un rendimiento a etanol de 47%, la longitud del biorreactor debe ser 200 cm, lo que conduce a

un volumen igual a 10 L. Estos resultados confirman que en esta escala aparentemente no es necesario considerar el efecto de dispersión, por cuanto las Ecs. (1) y (2) obedecen el modelo de biorreactor ideal de flujo de tapón.



Balance de energía

La ecuación de balance de energía se resolvió para condición isotérmica obteniéndose la Ec. (4). Al reemplazar valores de los parámetros de diseño en esta ecuación, obtenemos una relación de T_s en función de X_s como sigue:

$$T_s = 303 + \frac{1,704 (1 - X_s)}{1 - 0,996 X_s} \quad (14)$$

Escribimos el vector de conversiones y el vector de temperatura dado por la ecuación (14) y resolviendo se obtienen los resultados dados en la tabla 1.

T_s, K	X_s
303,000	0,000
304,704	0,001
304,703	0,100
304,702	0,200
304,701	0,300
304,700	0,400
304,697	0,500
304,693	0,600
304,687	0,700
304,675	0,800
304,641	0,900

Tabla 1. Perfil de temperatura en la camisa del

Tal como habíamos proyectado, encontramos que la temperatura no se incrementa significativamente en la camisa para las condiciones de operación establecidas. Sin embargo, es destacable que a la entrada del biorreactor

existe un pequeño incremento de temperatura como resultado de una alta velocidad de reacción en esta sección, la misma que tiende a ser más atenuada a medida en que avanza a lo largo del biorreactor, en cuyas condiciones, tal como se observa de la tabla 1, es factible mantener una temperatura uniforme, el cual es favorecido por el efecto de retromezcla del agua de enfriamiento en la camisa.

Dispersión axial

Previo a los cálculos de dispersión, debemos evaluar los parámetros adimensionales Pe y Da. Así, el número de Peclet, Pe, será obtenido a partir del diagrama de Wen y Fan [9], el cual correlaciona Pe con el número de Reynolds, Re, para líquidos en lechos empacados. Para las condiciones del sistema $Re = 2,33$, $Pe = 56,8$ y $Da = 0,076$.

Asumiendo un valor inicial para $\Delta\xi = 1/64$, las Ecs. (11) a (13) se pueden escribir como:

$$y_1 = 0,8875 - 0,1125 y_0 \quad (15)$$

$$y_{i+1} = 2,8875 y_1 - 1,8875 y_{i-1} + 0,0301 \left(\frac{y_i}{0,0043 + y_i} \right) \quad (16)$$

$$y_{N+1} = y_N \quad (17)$$

Estas ecuaciones constituyen el algoritmo global usando el método explícito y son resueltas usando Mathcad 7P, obteniéndose para $i = 1, \dots, 10$; y_i : 0,794; 0,79; 0,695; 0,622; 0,515; 0,342; 0,045; -0,486; -1,460; -3,267. Estos resultados muestran que no es necesario aplicar el modelo de dispersión para la solución del problema de diseño en esta escala [10,11,12]. En efecto, esto se confirma si se cumple la condición siguiente:

$$Pe \geq (100 / \text{porcentaje}) Da^2$$

que al reemplazar valores considerando el 99% de aproximación entre la conversión obtenida por el modelo ideal de flujo de tapón y el modelo de dispersión $Pe \geq (100/99) \cdot (0,076)^2$, es decir, $56,8 > 0,0058$.

CONCLUSIONES

La solución de las ecuaciones de balance de materia para sustrato y producto considerando modelo de biorreactor ideal de flujo de tapón, conduce a resultados de diseño

satisfactorios para apropiadas restricciones a escala banco.

El perfil de temperatura en la camisa de enfriamiento, es poco probable que se cumpla en unidades pequeñas debido a que en éstos el efecto de retromezcla en la camisa se considera apreciable. Sin embargo, el método de cálculo es adecuado para estimar la necesidad de agua de enfriamiento para mantener la isothermalidad.

El resultado del análisis de dispersión axial nos conduce a señalar que la necesidad de usar o no usar este modelo debe partir de un análisis previo de reglas generales o analogías de proceso en la escala respectiva, para evitar complicaciones que puedan conducir a resultados inapropiados.

LISTA DE SÍMBOLOS

- $a = K_s/S_0$, constante.
- $a_p = K_{sp}/S_0$, constante.
- $A =$ área de transferencia de calor por unidad de volumen de biorreactor, m^2 .
- $\beta = 1/Y_{X/S}$, constante.
- $Da = \mu_{max} \cdot X \cdot \tau / S_0$, número adimensional de Damkohler para sustrato.
- $Dap = v_{max} \cdot X \cdot L / v \cdot S_0$, número adimensional de Damkohler para producto.
- $D_e =$ difusividad efectiva.
- $d_p =$ diámetro de partícula, cm.
- $\epsilon =$ factor de empaquetamiento.
- $\xi = z/L$, variable adimensional de longitud.
- $K_1 =$ parámetro cinético, L/g.
- $K_2 =$ parámetro cinético, L/g.
- $K_m = K_1 S_0$, constante.
- $K_n = K_2 S_0$, constante.
- $K_s =$ constante de saturación para sustrato, g/L.
- $K_{sp} =$ constante de saturación para producto, g/L.
- $L =$ longitud del biorreactor, cm.
- $P =$ concentración de etanol, mol/L.
- $Pe =$ número adimensional de Peclet.
- PFB= Biorreactor de flujo de tapón.
- $r_s =$ velocidad de reacción de consumo de sustrato, mol/L.s.

S_0 = concentración de sustrato en el alimento del biorreactor, molg/L.
 S = concentración de sustrato para un Z dado, molg/L.
 T = Temperatura en el biorreactor, K.
 T_s = Temperatura en la camisa del biorreactor, K.
 τ = tiempo espacial, h⁻¹.
 U = coeficiente global de transferencia de calor, J/m².s.K.
 v = velocidad de fluido en el biorreactor, cm/s.
 X = concentración de células, g/L.
 X_s = conversión fraccional para sustrato (glucosa).
 Y = variable operacional de concentración.
 Y_2 = S/S_0 , variable adimensional de concentración para sustrato (glucosa).
 Y_3 = P/S_0 , variable adimensional de concentración para producto (etanol).
 $Y_{x/s}$ = rendimiento celular en base a sustrato consumido.
 Z = variable operacional de longitud, cm.
 $\Delta H_R(T)$ = calor de reacción a la temperatura T del biorreactor para producción de etanol a partir de glucosa, J/mol.
 μ_{max} = velocidad específica máxima de crecimiento celular, h⁻¹.
 v_{max} = velocidad específica máxima de producción de etanol, h⁻¹.
 ν = viscosidad cinemática de fluido en bioreactor, cm²/s.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo Superior de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento de este trabajo de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Bailey, J.E. y D. F. Ollis, *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill Book Company, New York, (1986).
- [2] Erazo, E.R., Estudio de Simulación de un Fermentador Continuo Usando Células Inmovilizadas, *Tesis Maestría*, UNMSM (1999).
- [3] Danckwerts, P. V., Continuous Flow Systems Distribution of Residence Times, *Chem. Eng. Sci.*, **2**, 1 (1953).
- [4] Gencer, M. and Mutharasan, R., *Biotech. and Bioeng.*, pp. 2243 (1983).
- [5] Rieder, W. y Busby, H., *Introductory Engineering Modeling*, John Wiley & Sons, USA, 1986.
- [6] Holland, C. D., y Anthony, R. G., *Fundamentals of Chemical Reaction Engineering*, Ed. Prentice Hall INC. N.J. (USA) 1979.
- [7] Satterfield C. N., *Mass Transfer Heterogeneous Catalysis*. Ed. M.I.T. Press N.Y., 1989.
- [8] Butt J.B., *Reaction Kinetics and Reactor Design*, Ed. Prentice Hall INC. N.J. 1980.
- [9] Froment, G. F., y Bischoff, K. B., *Chemical Reactor Analysis and Design*. Ed. John Wiley & Sons. N.Y. 1990.
- [10] Doran, P. M., *Principios de Ingeniería de los Bioprocesos*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, 1998.
- [11] Nauman, E. B., *Chemical Reactor Design*, Ed. John Wiley & Sons. N.Y., 1987.
- [12] Fogler, H.S., *The Elements of Chemical Kinetics and Reactor Calculations*, Ed. Prentice Hall INC, N.J. 1974.