



Casa abierta al tiempo

**Universidad Autónoma Metropolitana**

*Unidad Iztapalapa*

---

**EVALUACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE TRANSFERENCIA DE  
MASA Y CINÉTICOS EN UN BIORREACTOR DE TRES FASES PARA  
LA DEGRADACIÓN DE HEXADECANO**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de  
**Maestro en Biotecnología**

**P R E S E N T A**

**I.B.I. Guillermo Quijano Govantes**

DIRECTOR:

**Dr. Mariano Gutiérrez Rojas**

ASESORES:

**Dr. Sergio Huerta Ochoa**

**Dr. Juvencio Galíndez Mayer**

Julio de 2006

“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana esta incluida en el Padrón Nacional de Posgrado del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el No. de Registro 0471-O”

Iztapalapa, D.F. a 19 de julio de 2006

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

**EVALUACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE TRANSFERENCIA DE MASA Y CINÉTICOS EN UN BIORREACTOR DE TRES FASES PARA LA DEGRADACIÓN DE HEXADECANO**

Que presentó

**I.B.I. Guillermo Quijano Govantes**

Director:

**Dr. Mariano Gutiérrez Rojas**

\_\_\_\_\_

Jurado:

**Dr. Sergio Revah Moiseev** (Presidente)

\_\_\_\_\_

**Dr. Sergio Huerta Ochoa** (Secretario)

\_\_\_\_\_

**Dr. Felipe López Isunza** (Vocal)

\_\_\_\_\_

**Dra. Josefina Barrera Cortés** (Vocal)

\_\_\_\_\_

*Todo lo gris es sólo teoría. Lo verde hace que  
florezca el árbol dorado de la vida.*

*Goethe*

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi familia y en particular a mi madre, Rosa María, quien siempre me ha apoyado, Gracias por todo. Ivonne, quiero agradecerte por compartir conmigo esta aventura y por la paciencia que me tienes. A ustedes les dedico esta tesis.

Deseo agradecer a los doctores Octavio Loera, Jorge Gómez, Flor Cuervo, Florina Ramírez, Felipe López Isunza, Sergio Huerta y Sergio Revah por su ayuda, consejos y sugerencias. Todos ustedes son excelentes personas.

Aurora Marcial, Manuel Lizardi y José Juan Durán, gracias por ser excelentes amigos, en verdad les aprecio.

Mariano, quiero agradecerte de manera muy especial por todo lo que me has enseñado, te considero una persona admirable, tu congruencia y generosidad son cualidades que espero algún día tener. Gracias por todo.

## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Microorganismos degradadores de hidrocarburos	1
1.2	Biosurfactantes	4
1.3	Biodegradación de alcanos en fases líquidas	6
1.4	<i>n</i> -Hexadecano (HXD) como alcano modelo	8
2.	REACTORES UTILIZADOS EN LA BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE HIDROCARBUROS	9
2.1	Reactor de columna burbujeada	9
2.2	Reactores de columna con hidrocarburos como fase líquida	11
3.	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	13
4.	OBJETIVOS	14
5.	HIPÓTESIS	14
6.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
6.1	Sistema modelo de biodegradación de hidrocarburos	15
6.2	Biorreactor de columna burbujeada	15
6.3	Determinación de parámetros hidrodinámicos	16
6.4	Determinación de los parámetros cinéticos del consorcio bacteriano	18
6.4.1	Experimentos en el reactor	18
6.4.2	Experimentos en matraces	19
6.4.3	Inactivación del consorcio bacteriano	19
6.5	Determinación de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa	20
6.5.1	Transferencia de oxígeno	20
6.5.2	Transferencia de HXD	20
6.6	Determinación de HXD en la fase acuosa	22
6.7	Determinación del diámetro de gota de HXD	22
6.7.1	Sistema abiótico	23
6.7.2	Sistema biótico	23
7.	DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO PARA LA BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE HXD EN UN BIORREACTOR DE COLUMNA BURBUJEADA	24
7.1	Balance de biomasa	25
7.2	Balance de oxígeno	25
7.3	Balance de HXD en la fase acuosa	26
7.4	Balance de HXD total	27
7.5	Supuestos del modelo	27

8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
8.1	Determinación de parámetros hidrodinámicos	28
8.1.1	Diámetro medio Sauter de las burbujas de gas	28
8.1.2	Velocidad de ascenso de las burbujas	29
8.1.3	Tiempo característico de difusión	31
8.1.4	Número de Reynolds de las burbujas	33
8.1.5	Elección del distribuidor de gas	34
8.2	Experimentos con el distribuidor de bastón perforado (DBP)	34
8.2.1	Distribución de diámetros de burbuja	35
8.2.2	Diámetro medio Sauter de las gotas de HXD: sistema abiótico	36
8.2.3	Diámetro medio Sauter de las gotas de HXD: sistema biótico	36
8.3	Coefficientes convectivos de transferencia de masa	37
8.3.1	Transferencia de oxígeno	37
8.3.2	Transferencia de HXD	39
8.4	Parámetros cinéticos del consorcio bacteriano	42
8.4.1	Experimentos en matraces	42
8.4.2	Experimentos en el biorreactor	44
9.	VALIDACIÓN DEL MODELO	49
9.1	Experimentos en matraces	50
9.2	Experimentos en el biorreactor	51
10.	DETERMINACIÓN DE LA ETAPA LIMITANTE	53
11.	SIMULACIÓN DEL PROCESO EN DIFERENTES ESCENARIOS	55
11.1	Simulaciones variando $\tilde{k}_L a_{HXD}$	55
11.2	Simulaciones variando $k_L a_{O_2}$	60
12.	CONCLUSIONES	65
13.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
14.	ANEXOS	70
I.	Determinación de $k_L a_{O_2}$ y $QO_2$ por el método de Fujio y colaboradores	70
II.	Determinación de $\tilde{k}_L a_{HXD}$	74
III.	Conversión de la agitación en un reactor de columna a un sistema agitado mecánicamente	76
IV.	Solución del modelo matemático por el método de Runge-Kutta-Fehlberg	77

## RESUMEN

Se generó un sistema modelo de biodegradación de hidrocarburos con hexadecano (HXD) como compuesto modelo y un consorcio bacteriano en un biorreactor de columna burbujeada, operado de manera secuencial. Los coeficientes volumétricos de transferencia de masa fueron obtenidos experimentalmente, mientras que los parámetros cinéticos fueron obtenidos tanto experimentalmente como por ajuste.

El valor promedio del coeficiente volumétrico aparente de transferencia de HXD,  $\tilde{k}_L a_{HXD}$ , fue de  $1.16 \text{ h}^{-1}$ , mientras que el valor promedio del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno,  $k_L a_{O_2}$ , fue de  $32.68 \text{ h}^{-1}$ . Los parámetros cinéticos del consorcio bacteriano fueron:  $\mu_{\max}=0.02 \text{ h}^{-1}$ ,  $K_{HXD}= 4.03 \text{ mgHXD L}^{-1}$ ,  $K_{O_2}= 0.17 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$  y  $m = 2.8 \text{ mgHXD gBiomasa}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

Con los parámetros obtenidos se evaluaron las tasas de transferencia y consumo tanto de HXD como de oxígeno, determinándose que la etapa limitante del proceso, bajo las condiciones de trabajo, fue la transferencia de HXD de la fase orgánica a la fase acuosa. Se desarrolló y validó un modelo matemático para describir el proceso de biodegradación de HXD, se realizaron simulaciones bajo diferentes escenarios en las que se observa que si el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  se duplica, la producción de biomasa se incrementa en un 75% y el consumo total del HXD tarda poco menos de 168 h, reduciéndose la duración de los ciclos experimentales en más de 72 h. Por otra parte, si el valor de  $k_L a_{O_2}$  se reduce a la mitad, se obtienen prácticamente los mismos resultados que los observados experimentalmente, esto debido a que la transferencia de oxígeno no es el proceso limitante.

## NOMENCLATURA

$C_{HXD_L}$	Concentración de HXD <i>soluble</i> o aparente	mg L <sup>-1</sup>
$C_{HXD}^*$	Concentración de saturación aparente de HXD	mg L <sup>-1</sup>
$C_{O_2_L}$	Concentración de oxígeno en la fase acuosa	mg L <sup>-1</sup>
$C_{O_2}^*$	Concentración de saturación de oxígeno	mg L <sup>-1</sup>
$D_c$	Diámetro de la columna	cm
$d_i$	Diámetro del impulsor	cm
$d_0$	Diámetro de los orificios del distribuidor	mm
$ds_g$	Diámetro medio <i>Sauter</i> de las burbujas	mm
$ds_o$	Diámetro medio <i>Sauter</i> de las gotas de HXD	mm
$H_C$	Altura de la columna	cm
$H_L$	Altura de líquido en la columna	cm
$K_{HXD}$	Constante de afinidad del consorcio bacteriano por HXD	mg L <sup>-1</sup>
$K_{O_2}$	Constante de afinidad del consorcio bacteriano por oxígeno	mg L <sup>-1</sup>
$k_L a_{O_2}$	Coefficiente volumétrico de transferencia de oxígeno	h <sup>-1</sup>
$\tilde{k}_L a_{HXD}$	Coefficiente volumétrico aparente de transferencia de HXD	h <sup>-1</sup>
$m$	Coefficiente de mantenimiento	gHXD gBiomasa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
$N$	Velocidad rotacional del impulsor	s <sup>-1</sup>
$QO_2$	Velocidad específica de consumo de oxígeno	gO <sub>2</sub> gBiomasa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
$Re_b$	Número de <i>Reynolds</i> para las burbujas de la fase gas	-
$Re_c$	Número de <i>Reynolds</i> para la columna	-
$r_{HXD}$	Tasa de transferencia de HXD	mgHXDL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
$r_{m.o.}$	Tasa de consumo de HXD de los microorganismos	gHXDL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
$r_{O_2}$	Tasa de transferencia de oxígeno	mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
$r_{O_2}^{cons}$	Tasa de consumo de oxígeno de los microorganismos	mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
$r_X$	Tasa de consumo de HXD para la formación de biomasa	gHXDL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
$t_D$	Tiempo característico de difusión	s
$t_r$	Tiempo de residencia de las burbujas	s
$U_b$	Velocidad de ascenso de las burbujas de gas	cm s <sup>-1</sup>
$U_G$	Velocidad superficial de la fase gas	cm s <sup>-1</sup>
$Y_{X/S}$	Rendimiento de biomasa con respecto al HXD consumido	gBiomasa gHXD <sup>-1</sup>
<i>Letras griegas</i>		
$\mu_{max}$	tasa específica de crecimiento máxima	h <sup>-1</sup>

## Definición de los parámetros hidrodinámicos estudiados

	Parámetro	Unidades
Velocidad superficial de gas	$U_G = \frac{Q_{aire}}{A}$ <p>Donde:  <math>Q_{aire}</math> = flujo de aire  <math>A</math> = área transversal de la columna</p>	$cm\ s^{-1}$
Diámetro medio Sauter de las burbujas de gas	$d_{sg} = \frac{\sum_{i=1}^{NC} d_i^3 H_i}{\sum_{i=1}^{NC} d_i^2 H_i}$ <p>Donde:  <math>d_i</math> = diámetro de la clase <math>i</math> de burbujas  <math>H_i</math> = número de burbujas de la clase <math>i</math></p>	$mm$
Diámetro medio Sauter de las gotas de HXD	$d_{so} = \frac{\sum_{i=1}^{NC} d_i^3 H_i}{\sum_{i=1}^{NC} d_i^2 H_i}$ <p>Donde:  <math>d_i</math> = diámetro de la clase <math>i</math> de gotas  <math>H_i</math> = número de gotas de la clase <math>i</math></p>	$mm$
Velocidad de ascenso de las burbujas de gas	$U_b = \frac{H_L}{t_r}$ <p>Donde:  <math>H_L</math> = altura del líquido en la columna  <math>t_r</math> = tiempo de residencia de las burbujas</p>	$cm\ s^{-1}$
Número de Reynolds de las burbujas de gas	$Re_b = \frac{U_b d_s \rho_L}{\mu_L}$ <p>Donde:  <math>\rho_L</math> = densidad del medio de cultivo  <math>\mu_L</math> = viscosidad del medio de cultivo</p>	-

## **1. INTRODUCCIÓN**

El deterioro de suelos y acuíferos ha llegado a ser evidente en años recientes, la explotación de pozos petroleros, derrames no controlados y procedimientos inadecuados de disposición final de hidrocarburos de petróleo, son algunas causas comunes de este deterioro. En particular, la contaminación con hidrocarburos es un tema intensamente investigado debido a su constante ocurrencia, impacto ambiental y la importancia económica de la industria petroquímica (Saval, 2000). Distintas tecnologías se han desarrollado para la recuperación de sitios contaminados con hidrocarburos, como la excavación y confinamiento, extracción con vapor, estabilización y solidificación, lavado de suelos, extracción crítica de fluidos, precipitación química, vitrificación, desorción térmica, incineración, entre otras (Skladany y Metting, 1993). Desafortunadamente, muchos de estos tratamientos fisicoquímicos no destruyen a los hidrocarburos sino que los transfieren de un lugar a otro, por otra parte, algunos de estos métodos suelen ser costosos ya que generan subproductos tóxicos que requieren tratamientos posteriores.

### **1.1 Microorganismos degradadores de hidrocarburos**

A diferencia de los procesos fisicoquímicos, el uso de sistemas biológicos en el tratamiento de sitios contaminados es una tecnología efectiva con la que se puede lograr la mineralización de los hidrocarburos, es decir, pueden oxidarlos hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Esto es posible ya que la mayoría de las moléculas presentes en el crudo de petróleo y productos refinados pueden ser biodegradados, la secuencia generalizada en orden decreciente de biodegradabilidad se presenta de la siguiente manera: *n*-alcanos, monoaromáticos, alcanos cíclicos y poliaromáticos, mientras que los asfaltenos son considerados como no biodegradables (Van Hamme y col., 2003).

Los microorganismos degradadores de hidrocarburos pueden ser aislados de muy diversos ecosistemas, aunque una estrategia lógica es aislarlos de sitios contaminados con petróleo o sus derivados (Korda y col., 1997). Las raíces de algunas plantas que crecen de manera natural en sitios contaminados con hidrocarburos es otra fuente de microorganismos ya que el microambiente que se desarrolla en la rizósfera de tales plantas promueve el crecimiento de poblaciones microbianas que han demostrado ser eficaces degradadores de hidrocarburos (Díaz-Ramírez y col., 2003).

La biodegradación de hidrocarburos es un proceso que usualmente requiere la cooperación de varias especies microbianas, esto es particularmente cierto cuando se pretende lograr la mineralización completa de los contaminantes ya que los microorganismos de manera individual sólo pueden metabolizar determinadas clases de hidrocarburos, por lo tanto, el uso de poblaciones mixtas con diferentes capacidades metabólicas, generalmente produce un aumento en la tasa de consumo de los hidrocarburos (Ghazali y col., 2004).

En la Tabla 1.1 se presenta una revisión de la diversidad microbiana capaz de degradar hidrocarburos (Salanitro, 2003), en la cual se muestran las diferentes clases de hidrocarburos y los procesos metabólicos involucrados en su degradación, se observa que *Pseudomonas* es un género versátil ya que es capaz de degradar a una amplia variedad de hidrocarburos, en donde las hidroxilasas y oxigenasas son las enzimas clave de los procesos de degradación.

Tabla 1.1. Microorganismos y procesos metabólicos involucrados en la degradación de diferentes clases de hidrocarburos.

Clase de hidrocarburo	Compuestos representativos	Microorganismos	Características metabólicas
Alcanos	C <sub>4</sub> ;C <sub>38</sub>	<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Nocardia</i> <i>Burkholderia</i>	Enzima principal: alcano hidroxilasa inducible, requiere O <sub>2</sub> y NADPH. Secuencia metabólica: alcano → alcohol → aldehído → ácido → β-oxidación (unidades de dos carbonos)
Alquenos	C <sub>2</sub> ;C <sub>16</sub>	<i>Methylococcus</i> <i>Methylosinus</i> Consortios	Enzima principal: monooxigenasa 1-alquenos de C <sub>3</sub> -C <sub>16</sub> , secuencia metabólica: Oxidación terminal o subterminal → 1-alcanoles o 2-alcanoles → α-hidroxiácido → β-oxidación (unidades de dos carbonos). 1-alquenos de C <sub>2</sub> y C <sub>4</sub> → epóxidos (por metanotrofos y propanotrofos)
Isoalcanos (alcanos ramificados)	Ramificados con mono y dimetilos	<i>Pseudomonas</i> <i>Brevibacterium</i> Consortios	Enzimas: alcano hidroxilasa, monooxigenasa, dioxigenasa Secuencia: oxidación a alcoholes, ácidos y diácidos
	Ramificados con múltiples metilos	<i>Pseudomonas</i> <i>Brevibacterium</i> Consortios	Hidrocarburos ternarios (t-butil, por ejemplo) y cuaternarios (2,2-dimetil alcanos, por ejemplo) son difíciles de degradar, por lo que se pueden acumular alcoholes o ácidos. Pristano, fitano y escualeno se oxidan a ácidos que pueden ser incorporados a lípidos celulares o seguir la β-oxidación (unidades de dos carbonos)
Cicloalcanos	n-alkil cicloalcanos	<i>Xanthobacter sp</i> Consortios	El ataque al anillo es usualmente oxidativo, en algunos casos se utiliza sólo como fuente de energía o carbono y el ácido adípico es un metabolito. El grupo alkilo es oxidado por β-oxidación.
Monoaromáticos	Benceno y alquilbencenos (BTEX)	<i>Pseudomonas sp</i> <i>Syntrophus</i> Consortios	Enzima principal: dioxigenasa. Secuencia metabólica: Benceno → catecol → β-ceto adipato. Tolueno → benzoato, <i>o-cresol</i> , <i>p-cresol</i> , <i>m-cresol</i> , 3-metil catecol.
Poliaromáticos	Naftaleno, fenantreno, antraceno, pireno	<i>Pseudomonas</i> <i>Rhodococcus</i> Consortios	Enzimas: monooxigenasa y dioxigenasa La oxidación es usualmente por metabolismo secuencial del anillo
Heterocíclicos	Tiofenos, dibenzotiofenos, ácidos naftenoicos, piridina	<i>Pseudomonas sp</i> <i>Syntrophus</i> <i>Bacterias sulfatoreductoras</i> <i>Bacterias desnitrificantes</i> Consortios	Mecanismo común al de fenol y cresol. Tiofenos son (cometabolizados) degradados a CO <sub>2</sub> o solamente desulfurados. Parcial o completa oxidación de compuestos nitroheterocíclicos (piridina y quinolina, por ejemplo)

La baja solubilidad en medios acuosos de una gran cantidad de hidrocarburos es uno de los principales retos a superar en los procesos de biodegradación ya que los hidrocarburos tienden a formar fases líquidas no acuosas que son prácticamente inaccesibles para el consumo microbiano; una de las principales estrategias que utilizan los microorganismos para incrementar la solubilidad de los hidrocarburos es la producción de biosurfactantes.

## 1.2 Biosurfactantes

Los biosurfactantes son emulsificantes naturales que tienen la capacidad de disminuir la tensión superficial, promoviendo la dispersión de los hidrocarburos que se encuentran asociados a matrices porosas o que están en forma de fases líquidas no acuosas (Noordman y col., 2002). Los biosurfactantes se pueden dividir en dos clases: los de alto peso molecular, que generalmente son glicolípidos y los de bajo peso molecular, que pueden ser polisacáridos, proteínas, lipoproteínas o lipopolisacáridos (Ron y Rosenberg, 2002).

En la Tabla 1.2 se resumen los principales tipos de biosurfactantes y los microorganismos que los producen (Van Hamme y col., 2003), se observa que existen pocos hongos productores de biosurfactantes, mientras que hay una amplia variedad de bacterias capaces de producirlos, donde *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter* y *Candida* son los géneros más versátiles en la producción de biosurfactantes. Se ha observado que la presencia de algunos hidrocarburos en medios acuosos es el resultado de la formación de micelas de biosurfactantes en las que se deposita el hidrocarburo, proceso conocido como solubilización, donde la concentración del hidrocarburo en la fase acuosa depende principalmente de la concentración de surfactante (Bai y col., 1997). Por lo anterior, se piensa que la producción de biosurfactantes es determinante en la degradación de hidrocarburos como los alcanos, cuya solubilidad en agua no excede los 60 mg L<sup>-1</sup> (Salanitro, 2001).

Tabla 1.2. Principales biosurfactantes y microorganismos productores.

Clase	Biosurfactante	Microorganismo
<b>Bajo peso molecular</b>	Rhamnolípidos Lípidos de trehalosa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Arthrobacter paraffineus</i> <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>Mycobacterium spp.</i>
	Lípidos de soforosa	<i>Candida lipolytica</i> <i>Torulopsis bombicola</i>
	Viscosin Surfactin Polimixinas Gramicidin S	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Bacillus brevis</i>
	Fosfolípidos	<i>Acinetobacter spp.</i> <i>Thiobacillus thiooxidans</i>
	Lipopéptidos	<i>Bacillus pumilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>
	Lípidos de polioles	<i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Rhodotorula graminis</i>
	Serrawettin Ácidos grasos	<i>Serratia marcescens</i> <i>Corynebacterium lepus</i> <i>Arthrobacter paraffineus</i> <i>Penicillium spiculisporum</i> <i>Talaromyces trachyspermus</i>
	Sulfonilípidos Diglicosil diglicéridos	<i>Capnocytophaga spp.</i> <i>Lactobacillus fermentii</i>
<b>Alto peso molecular</b>	Alasan Emulsan Biodispersan Liposan Lipoproteínas de manano Emulsificante de alimentos Acetil heteropolisacárido	<i>Acinetobacter radioresistens</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Candida lipolytica</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida utilis</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i>

### 1.3 Biodegradación de alcanos en fases líquidas

Los alcanos, como mayor componente del petróleo y de otros productos refinados, se han convertido en una importante fuente de contaminación debido a su extenso uso durante las últimas décadas (Pepi y col., 2005). Por lo general, los *n*-alcanos de bajo peso molecular son degradados con mayor rapidez que los alcanos de cadena larga o aquellos que presentan ramificaciones, esto se debe principalmente a que los *n*-alcanos son más susceptibles al ataque de enzimas oxidativas en comparación con alcanos ramificados o de cadena larga (Kim y col., 2002). Beal y Betts (2000), han reportado tres posibles mecanismos para el consumo de alcanos en fases líquidas:

- 1) *Consumo de alcanos disueltos en la fase acuosa.* El consumo por este mecanismo es naturalmente muy pequeño, debido a la baja solubilidad de los alcanos ( $10^{-7}$ – $10^{-2}$  mg L<sup>-1</sup> para alcanos de C<sub>9</sub> en adelante), sin embargo, se piensa que este mecanismo es eficiente para el consumo de alcanos de cadena corta.
- 2) *Contacto directo de células microbianas con gotas de alcano.* En este mecanismo, las células microbianas se adhieren a las gotas de hidrocarburo (que son mucho más grandes que las propias células) y la captación del sustrato se da por difusión o por transporte activo.
- 3) *Consumo de alcanos en forma solubilizada.* Este mecanismo fue propuesto a partir del descubrimiento de canales hidrofóbicos en la pared celular de varios microorganismos degradadores de alcanos. El transporte de alcanos está mediado por micelas o complejos alcano-surfactante, los cuales son captados y disociados en canales hidrofóbicos de la pared celular de los microorganismos, de tal manera que el alcano entra de manera forzada al citoplasma.

Aunque se ha demostrado que el sistema de canales hidrofóbicos es un proceso de transporte que requiere energía (Sikkema y col., 1995), se considera que el consumo de alcanos por solubilización es el mecanismo de consumo más importante ya que los surfactantes disminuyen drásticamente la adhesión de los microorganismos a la superficie de los hidrocarburos impidiendo el consumo directo (Stelmack y col., 1999), por otra parte, se han observado modificaciones en la membrana de los microorganismos tales como invaginaciones, aumento en los niveles de lipopolisacáridos, así como gotas de hidrocarburos en el citosol de casi todos los microorganismos degradadores de alcanos (Ratledge, 1992). En la Figura 1.1 se esquematiza el consumo de alcanos por solubilización (Sekelsky y Shreve, 1999), se observa que el primer paso es la interacción de los biosurfactantes con las gotas de alcano, posteriormente se forman micelas o complejos *alcano-surfactante* que son captados por los canales hidrofóbicos del microorganismo y finalmente el alcano es dirigido hacia el interior de la célula donde es metabolizado.

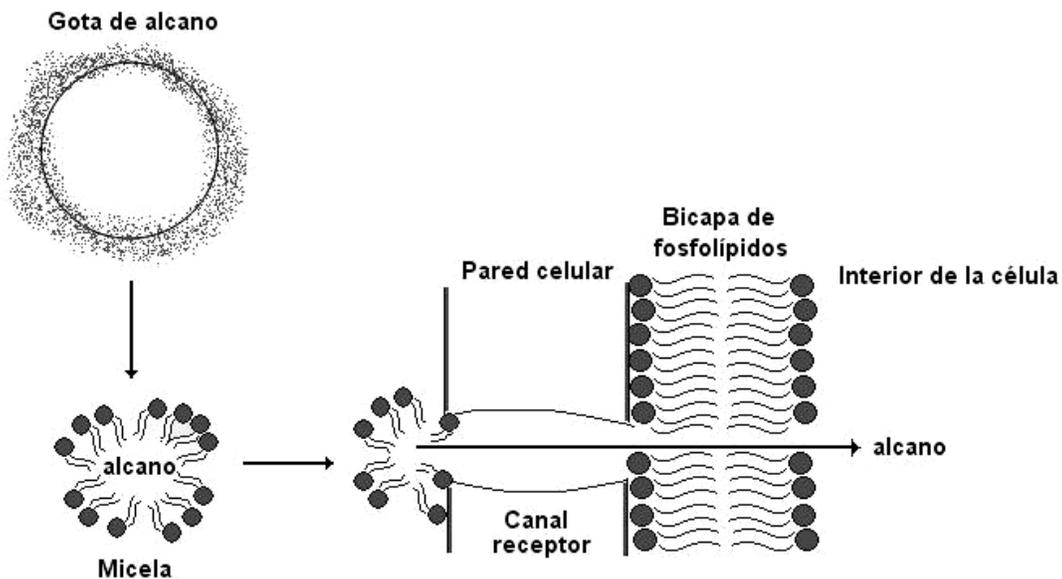


Figura 1.1. Consumo de alcanos por solubilización.

#### 1.4 *n*-Hexadecano como alcano modelo

El *n*-hexadecano (HXD) es un hidrocarburo ampliamente utilizado como modelo de estudio en la degradación de alcanos, se ha observado que promueve la síntesis de biosurfactantes en géneros bacterianos como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Rhodococcus* y *Corynebacterium* (Bouchez-Naïtali y col., 1999), también se ha observado que la tasa de consumo de HXD es hasta 6 veces mayor que la de naftaleno y 3 veces mayor que la de fenantreno, lo que permite una relativamente rápida producción de biomasa, por esta razón, la adición de HXD aumenta la tasa de biodegradación de mezclas de hidrocarburos poliaromáticos (Inakollu y col., 2004). Se sabe que el oxígeno es aproximadamente diez veces más soluble en HXD que en agua (Ju y Ho, 1989), por lo que ha sido utilizado como segunda fase líquida en la producción de penicilina para mejorar el suministro de oxígeno, observándose que no produce inhibición del metabolismo microbiano (Ho y col., 1990).

El efecto de los alcanos en la transferencia de oxígeno ha sido investigado desde hace más de tres décadas y se ha demostrado que la adición de *n*-heptano, *n*-decano, dodecano y HXD incrementa significativamente la transferencia de oxígeno en tanques agitados y reactores de columna (Kundu y col., 2003; Nielsen y col., 2003a; Dumont y Delmas, 2003; Chaumat y col., 2005); desafortunadamente, estos efectos benéficos tienen corta duración en los procesos de biodegradación de hidrocarburos ya que los alcanos son los primeros en ser metabolizados, por lo tanto, la tasa de transferencia del oxígeno a la fase acuosa es un parámetro que debe ser considerado en el diseño y operación de los biorreactores utilizados en estos procesos.

## **2. REACTORES UTILIZADOS EN LA BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE HIDROCARBUROS**

Los biorreactores utilizados para estudiar la degradación aerobia de hidrocarburos son sistemas multifásicos gas-líquido-líquido, con una fase gas que generalmente es aire y dos fases líquidas: una acuosa, donde se lleva a cabo la reacción, y una orgánica compuesta por el hidrocarburo o una mezcla de hidrocarburos. Si se considera que el consumo de hidrocarburos se lleva a cabo principalmente por solubilización, la biodegradación tiene tres etapas críticas, la primera es el transporte de los hidrocarburos de la fase orgánica a la fase acuosa, la segunda etapa es el transporte de oxígeno de la fase gas a la fase acuosa, la tercera etapa crítica es la tasa de consumo de los hidrocarburos por parte de los microorganismos que residen en la fase acuosa, por lo tanto, las tasas de transferencia de masa y de consumo son parámetros fundamentales en el diseño y operación del biorreactor que será utilizado en procesos aerobios de biodegradación de hidrocarburos (Seker y col., 1997; Cruickshank y col., 2000; Bouaifi y col., 2001).

### **2.1 Reactor de columna burbujeada**

Los reactores de columna burbujeada han sido utilizados en una amplia variedad de procesos ya que presentan una serie de ventajas sobre otros reactores, entre las que destacan que es un reactor de fácil diseño y operación (Sada y col., 1986), de los reactores agitados neumáticamente es el que tiene menor costo de operación y mantenimiento (Nielsen y col., 2003b; Ribeiro y Lage, 2004), lo cual ha favorecido en gran medida su uso a nivel industrial (Prakash y col., 2001).

Se ha demostrado que los reactores de columna son dispositivos eficientes en los procesos de transferencia de masa, Bouaifi y colaboradores (2001), establecen que para la misma potencia consumida, una columna con distribuidor de plato poroso genera un área específica de gas 30% mayor que el área generada en tanques agitados con impulsores de turbina de aspas inclinadas y de flujo axial. Kilonzo y Margaritis (2004), hacen una extensa revisión de los procesos de agitación y transferencia de masa en medios de cultivo no newtonianos, demostrando que las columnas burbujeadas pueden operar satisfactoriamente en tales condiciones.

Por otra parte, se ha reportado que la efectividad de dispersión de gas ( $\text{kg}_{\text{gas}}/\text{W}$ ) en medios viscosos (37.6 cp) es diez veces mayor en una columna con distribuidor de plato perforado ( $d_0=1.6$  mm), que en un tanque agitado con impulsor de turbina tipo Rushton (Vlaev y Fialova, 2003). Por lo anterior, las columnas burbujeadas son una opción atractiva para muchos procesos industriales donde la transferencia de masa y los costos de operación y mantenimiento son puntos críticos.

El reactor de columna burbujeada pertenece a la clase de reactores neumáticos ya que no posee dispositivos de agitación mecánica. En la Figura 2.1 se presenta un esquema del reactor de columna burbujeada, se observa que su diseño es relativamente sencillo, consiste de un recipiente cilíndrico con un distribuidor de gas en el fondo y la agitación es provista por el movimiento de las burbujas a través de la columna; debido a que la agitación en el reactor depende de las características de las burbujas, el sistema de distribución de gas se convierte en el parámetro de diseño más importante en los reactores de columna burbujeada (Kantarci y col., 2005).

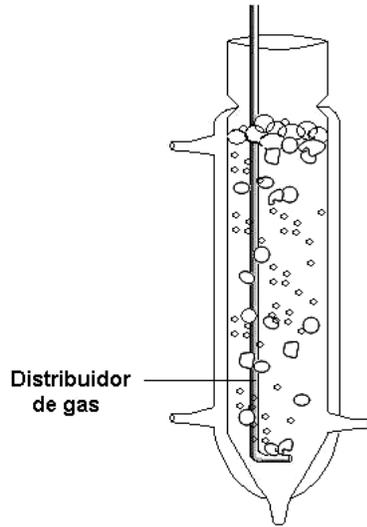


Figura 2.1. Biorreactor de columna burbujeada.

Uno de los parámetros de operación más importantes en los reactores de columna es la velocidad superficial de la fase gas ( $U_G$ ), ya que prácticamente todos los fenómenos de agitación y transferencia de oxígeno están relacionados con este parámetro. Por lo tanto, para determinar el desempeño del reactor es necesario determinar el diámetro de las burbujas de la fase gas ( $d_{s_g}$ ) y otros parámetros derivados como la velocidad de ascenso de las burbujas ( $U_b$ ), a partir de esta información, se pueden determinar las condiciones de agitación y la transferencia de oxígeno en el biorreactor (Krishna y van Baten, 2003).

## 2.2 Reactores de columna con hidrocarburos como fase líquida

El uso de hidrocarburos en columnas burbujeadas no es un tema nuevo ya que han sido utilizadas de manera exitosa en procesos en los que una de las fases está compuesta por hidrocarburos. Por ejemplo, es ampliamente aceptado que el reactor de columna burbujeada es el mejor sistema para los procesos de síntesis Fischer-Tropsch, en los que se generan parafinas de cadena larga y otros hidrocarburos (Vandu y col., 2004).

Otra aplicación que en poco tiempo ha ganado importancia es la utilización de columnas burbujeadas en el proceso de desulfuración biocatalítica del petróleo y sus derivados (Mehrnia y col., 2005). Recientemente se ha reportado el uso de un reactor de columna burbujeada para la biodegradación de crudo Maya y parafinas con excelentes resultados (Medina-Moreno y col., 2005), lo cual sugiere que las columnas burbujeadas son compatibles con los procesos de biodegradación de hidrocarburos y otros procesos que involucran hidrocarburos como fase líquida.

### **3. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA**

La biodegradación aerobia de hidrocarburos es un sistema por demás complejo ya que es el resultado de la interacción de procesos físicos y biológicos. La tasa de consumo de los hidrocarburos no depende solamente de la capacidad metabólica de los microorganismos sino que también depende de las tasas de transferencia de oxígeno y de los hidrocarburos a la fase acuosa.

Con la evaluación de los coeficientes de transferencia de masa y de los parámetros cinéticos se pueden determinar las tasas de transferencia de masa y de consumo, siendo la tasa menor la etapa limitante del proceso. La determinación de la etapa limitante es útil ya que indica hacia donde deben enfocarse los esfuerzos si se desea mejorar el proceso y a la vez, se obtiene información valiosa para el diseño y operación de los reactores utilizados en procesos de biodegradación de hidrocarburos.

En los últimos años se ha generado una gran cantidad de información acerca del efecto de los biosurfactantes en la biodegradación de hidrocarburos y se ha demostrado que desempeñan un papel fundamental, sin embargo, se tienen pocos estudios acerca de la determinación de los coeficientes de transferencia de masa en estos sistemas puesto que es difícil medirlos experimentalmente, por lo tanto, la parte central de este trabajo es el desarrollo de estrategias para la evaluación de los coeficientes de transferencia de masa y de los parámetros cinéticos de los microorganismos, esto con el fin de obtener la etapa limitante en un proceso de biodegradación de hidrocarburos.

## **4. OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar la etapa limitante en el proceso de biodegradación de HXD por un consorcio bacteriano en un biorreactor de columna burbujeada.

### **Objetivos particulares**

- Diseñar un sistema de degradación de hidrocarburos con HXD y un consorcio bacteriano en un biorreactor de columna burbujeada.
- Determinar las tasas de transferencia de masa y consumo en el sistema de degradación de HXD.
- Desarrollar un modelo matemático y validarlo con datos experimentales.
- Evaluar el efecto de la variación en algunos parámetros a partir de simulaciones con el modelo matemático.

## **5. HIPÓTESIS**

Debido a la baja solubilidad del HXD en medios acuosos, la tasa de transferencia de HXD de la fase orgánica a la fase acuosa es la etapa limitante en la biodegradación aerobia de HXD por un consorcio bacteriano en un biorreactor de columna burbujeada.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Sistema modelo de biodegradación de hidrocarburos

Se generó un sistema modelo de biodegradación de hidrocarburos con HXD, hidrocarburo de relativamente rápida degradación y fácil análisis. El consorcio microbiano utilizado en este sistema fue aislado de la rizósfera de *Cyperus laxus*, planta nativa que crece en suelos contaminados e intemperizados con hidrocarburos. El consorcio estuvo compuesto por cinco bacterias: *Achromobacter (Alcaligenes) xylosoxidans*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium luteum* y *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. La composición del medio de cultivo fue la siguiente ( $\text{g L}^{-1}$ ): 13, HXD; 6.75,  $\text{NaNO}_3$ ; 2.15,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 1.13,  $\text{KCl}$ ; 1.1,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , pH inicial 6.5 (Díaz-Ramírez y col., 2003). La viscosidad del medio de cultivo se determinó con un viscosímetro *Physica MCR 300* y se obtuvo un valor promedio de 2.022 cp. Se determinó la tensión superficial de un sistema biótico a diferentes tiempos y se obtuvo una tensión superficial promedio, la cual fue igualada en el medio de cultivo con la adición Tween 20 para la determinación de  $ds_g$ ,  $U_b$  y  $Re_b$ .

### 6.2 Biorreactor de columna burbujeada

Se utilizó una columna de vidrio enchaquetada con un volumen nominal de 1.25 L, 40 cm de altura y 6.2 cm de diámetro interno. En todos los experimentos se trabajó con aire como fase gas a  $1.7 \text{ kg cm}^{-2}$ ,  $25^\circ \text{ C}$  y un volumen de trabajo de 1L. En la Figura 6.1, se presenta un esquema del biorreactor con los sistemas de control y medición, se utilizó una válvula de precisión para evitar fluctuaciones en el flujo de aire. En los experimentos bióticos se trabajó con una velocidad superficial de gas de  $1.1 \text{ cm s}^{-1}$ .

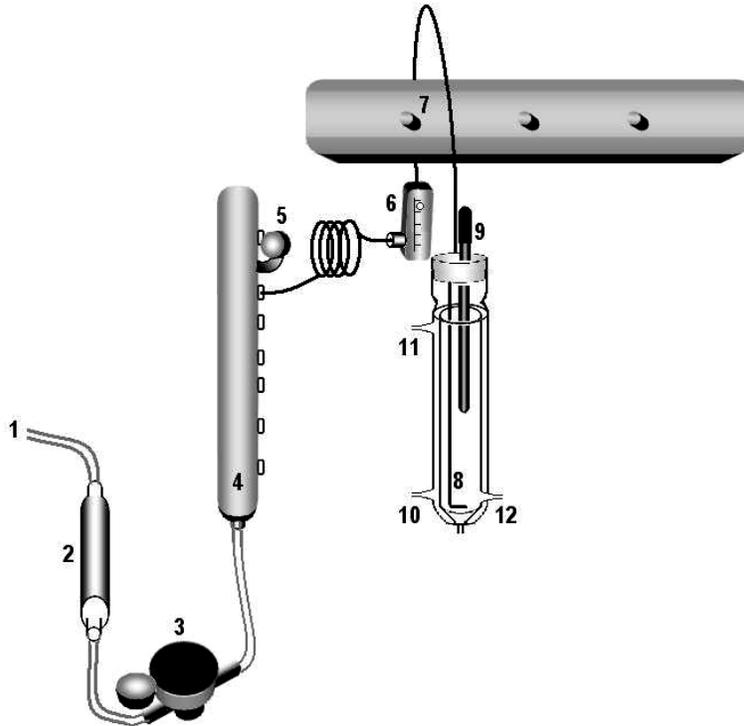


Figura 6.1. Reactor de columna burbujeadora. (1) línea general de aire, (2) filtro, (3) regulador de presión, (4) distribuidor de tomas de aire, (5) manómetro, (6) rotámetro calibrado, (7) válvula de precisión, (8) distribuidor de gas, (9) electrodo de oxígeno disuelto, (10-11) entrada y salida de la chaqueta, (12) salida para toma de muestra.

### 6.3 Determinación de parámetros hidrodinámicos

Con el objetivo de seleccionar un distribuidor de gas para los experimentos bióticos, se determinó el diámetro medio Sauter de las burbujas de gas ( $ds_g$ ), la velocidad de ascenso de las burbujas ( $U_b$ ) y el número de Reynolds de las burbujas ( $Re_b$ ) con tres distribuidores diferentes, en la Figura 6.2 se presentan las configuraciones estudiadas: distribuidor de vidrio sinterizado (DVS), anillo de acero inoxidable perforado (DAP) y bastón de acero inoxidable con orificios hacia abajo (DBP), tanto el DAP como el DBP tuvieron un diámetro de orificio ( $d_0$ ) de 1 mm.

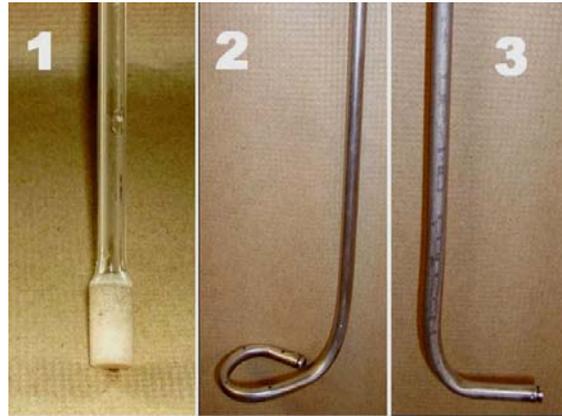


Figura 6.2. Distribuidores caracterizados: (1) DVS, (2) DAP, (3) DBP.

El  $ds_g$  se determinó mediante la metodología fotográfica de Ribeiro y Lage (2004). Se utilizó una cámara digital Pentax *Optio 50* de 5MP, se tomó una serie de fotografías del biorreactor sin aireación y con un sólido de referencia en diferentes partes de la columna, se determinó el diámetro del sólido con el software de análisis de imágenes *Image-Pro Plus 4.1* (Media Cybernetics, L.P. 1999) y se generó un factor de corrección, evitando de esta manera los errores de medición debidos a la curvatura de la columna y a la refracción de la luz por el agua de la chaqueta.

Realizada la calibración del método de análisis, se tomaron fotografías del reactor a diferentes velocidades superficiales y se determinó el diámetro de las burbujas de la fase gas. Para la determinación de la velocidad de ascenso de las burbujas se acondicionó un cronómetro a un lado del biorreactor, se tomaron videos a diferentes velocidades superficiales y se analizaron con el software *Quick Time 6.5.1*. En estos experimentos se utilizó agua destilada ya que en el medio de cultivo no fue posible observar la trayectoria de las burbujas.

## 6.4 Determinación de los parámetros cinéticos del consorcio bacteriano

Los parámetros cinéticos del consorcio bacteriano fueron determinados de manera experimental y por ajuste de datos experimentales obtenidos en sistemas independientes. La constante de afinidad de los microorganismos por HXD ( $K_{HXD}$ ) y el coeficiente de mantenimiento ( $m$ ) fueron determinados en matraces provistos de mamparas (sistema sin limitación de oxígeno), mientras que la velocidad específica de crecimiento máxima ( $\mu_{max}$ ) y la constante de afinidad del consorcio por oxígeno ( $K_{O_2}$ ) fueron determinadas en el biorreactor.

### 6.4.1 Experimentos en el reactor

El reactor fue operado de manera secuencial en ciclos de 240 h. Al inicio de cada ciclo el reactor contenía 16.8 mL de HXD (equivalentes a  $13 \text{ g L}^{-1}$ ) y medio de cultivo, alcanzándose un volumen de trabajo de 1 L. Al final de cada ciclo se drenaron aproximadamente 700 mL y se restablecieron las condiciones iniciales para iniciar un ciclo nuevo. Se tomaron muestras de 15 mL a diferentes tiempos y se determinó:

- Biomasa: mediante la técnica de peso seco
- Consumo de HXD: se realizó una extracción líquido-líquido de las muestras con hexano (proporción 1:1), posteriormente la fracción orgánica fue analizada en un cromatógrafo de gases Varian modelo 3900 con detector de ionización de flama y una columna capilar DB-Petro Narrow bore (J&W Scientific) de 0.25mm d.i. x 100 m. Se alcanzaron eficiencias de extracción del 95% aproximadamente.
- Tensión superficial: las muestras fueron centrifugadas a 10,000 rpm durante 25 minutos, a  $10^\circ \text{ C}$ . Se retiró el HXD (que a esa temperatura solidifica), se resuspendió la fase acuosa y la fase sólida y se analizó en un tensiómetro de anillo *Fisher* modelo 20.

#### 6.4.2 Experimentos en matraces

Se realizaron ensayos de degradación de 168 h en matraces con mamparas de 250 mL y con 25 mL de volumen de trabajo, 13 g L<sup>-1</sup> de HXD inicial, 150 rpm y 25° C. Se midió la concentración de biomasa a lo largo del ensayo y se determinó la concentración de hexadecano residual por cromatografía de gases. En los experimentos con matraces no se tuvo limitación de oxígeno, de acuerdo con la ecuación de Henzler y Schedel (Ecuación 6.1), desarrollada para estimar el valor de  $k_L a_{O_2}$  en matraces agitados, se obtuvo un valor de  $k_L a_{O_2}$  de 107 h<sup>-1</sup>.

$$k_L a_{O_2} \approx n \sqrt{D_F} \left( \frac{g^3}{\nu} \right)^{1/3} \left( \frac{d^3}{V_L} \right)^{8/9} \left( \frac{1}{\nu} \right)^{1/2} \left( \frac{2}{d^3 g} \right)^{8/27} \left( \frac{\sqrt{d_0 d}}{g} \right)^{1/2} \quad (6.1)$$

Donde:

$n$  = agitación (s<sup>-1</sup>)

$D_F$  = difusividad de oxígeno en agua (cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>)

$g$  = constante gravitacional (cm s<sup>-2</sup>)

$d$  = diámetro del fondo del matraz (cm)

$d_0$  = diámetro de agitación (cm)

$\nu$  = viscosidad cinemática de la fase líquida (cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>)

$V_L$  = volumen de líquido (cm<sup>3</sup>)

#### 6.4.3 Inactivación del consorcio bacteriano

Para determinar la concentración de cloranfenicol necesaria para inactivar al consorcio bacteriano, se realizaron experimentos en matraces de 250 mL a 150 rpm y bajo las mismas condiciones utilizadas en el reactor, se probaron las siguientes concentraciones: 17, 33, 49 y 67 mg de cloranfenicol por gramo de biomasa, obteniéndose que con 49 mg g<sup>-1</sup> se inhibió el crecimiento de los microorganismos. Para comprobar la inactivación de los microorganismos, se tomaron muestras de los ensayos en el reactor a las 240 h, se inactivaron con la concentración de cloranfenicol previamente obtenida y se realizaron cultivos en cajas Petri, en las cajas inoculadas con microorganismos inactivados no hubo crecimiento como se observa en la Figura 6.3.

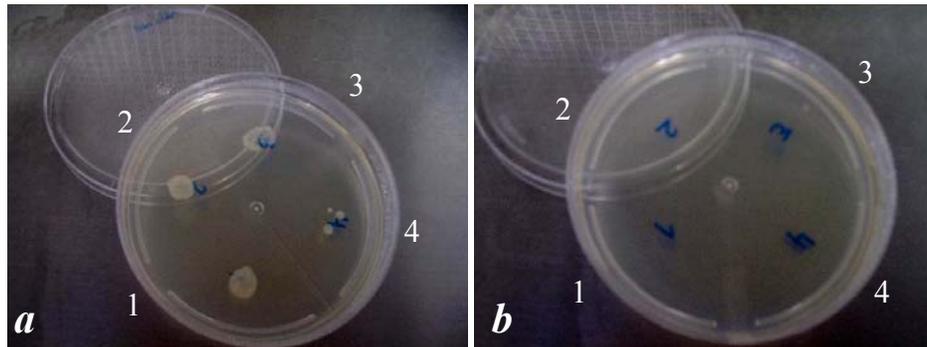


Figura 6.3. Pruebas de inactivación en cajas Petri, en cada cuadrante se realizó una dilución, donde: 1)  $10^{-1}$ , 2)  $10^{-2}$ , 3)  $10^{-3}$ , 4)  $10^{-4}$ . (a) caja inoculada con microorganismos no inactivados (b) caja con microorganismos inactivados con cloranfenicol. Las cajas fueron incubadas a  $25^{\circ}\text{C}$  durante 72 h.

## 6.5 Determinación de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa

### 6.5.1 Transferencia de oxígeno

Se determinó el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ( $k_{LAO_2}$ ) y la velocidad específica de consumo ( $QO_2$ ) de acuerdo con el método numérico de Fujio y colaboradores (1973), ver ANEXO I. Se utilizó un electrodo de oxígeno disuelto *Applikon* con membrana de teflón y un amplificador *New Brunswick Scientific D-40*. Se realizaron experimentos bióticos de 240 h y experimentos abióticos con agua destilada y medio de cultivo.

### 6.5.2 Transferencia de HXD

Al final de un ensayo en el reactor y hasta que el HXD fue consumido en su totalidad, se adicionó cloranfenicol para inactivar a los microorganismos y evitar el consumo de HXD, al reactor previamente inactivado se le adicionaron  $13\text{ g L}^{-1}$  de HXD, se iniciaron las condiciones normales de operación, se tomaron muestras a diferentes tiempos y se midió la concentración de HXD en la fase acuosa hasta obtener la concentración de saturación aparente ( $C_{HXD}^*$ ), con estos datos se obtuvo el coeficiente volumétrico aparente de

transferencia de HXD ( $\tilde{k}_L a_{HXD}$ ) a las 240 h. Otro reactor que terminó su ciclo y sin HXD, fue inactivado y se distribuyó en dos partes: primero se tomaron 300 mL para restablecer las condiciones iniciales de un ciclo normal, se midió la concentración de HXD en la fase acuosa a diferentes tiempos y se determinó  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  y  $C_{HXD}^*$  al tiempo  $t=0$  h; posteriormente se tomaron 357 mL para ajustar las condiciones que se tienen a las 96 h y se determinó la concentración de HXD en la fase acuosa a diferentes tiempos para obtener  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  y  $C_{HXD}^*$  al tiempo  $t=96$  h. En la Figura 6.4 se esquematiza la técnica experimental y la solución analítica de la ecuación de balance de HXD para la determinación de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  se detalla en el ANEXO II.

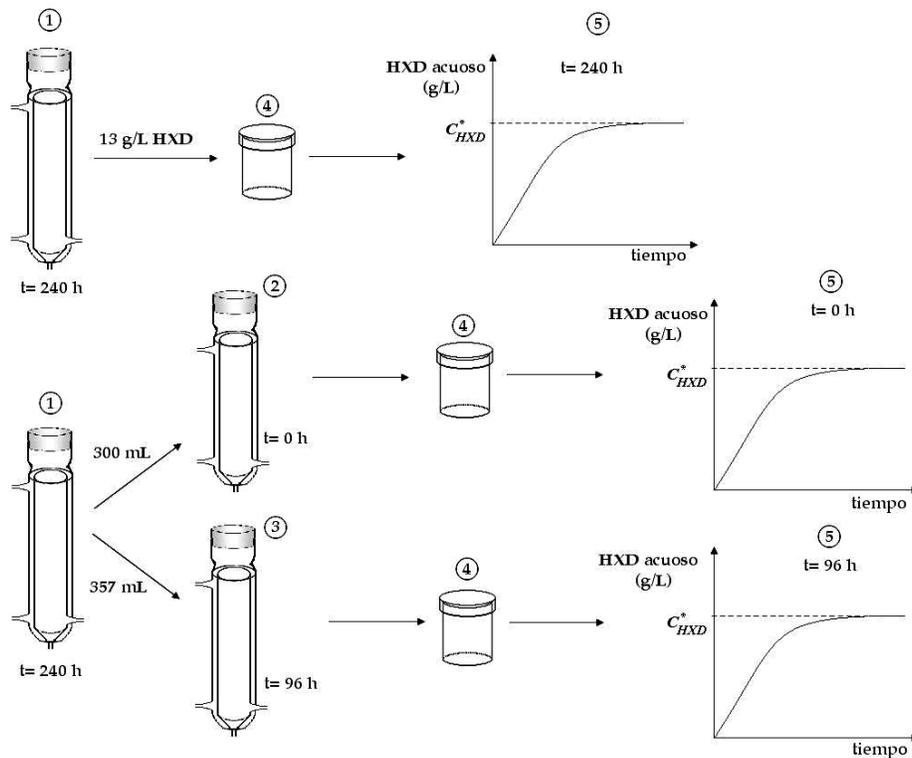


Figura 6.4. Técnica experimental para la determinación de los parámetros de transferencia de HXD, donde:  
 1) reactores que han terminado un ciclo, sin HXD e inactivados con cloranfenicol; 2) reactor con las condiciones iniciales; 3) reactor ajustado a las condiciones presentes en las 96 h; 4) toma de muestras a diferentes tiempos; 5) datos para la determinación de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  y  $C_{HXD}^*$

## 6.6 Determinación de HXD en la fase acuosa

La concentración de HXD en la fase acuosa de los biorreactores se determinó con la técnica modificada de Bodour y colaboradores (2004), la cual se describe a continuación: antes de la toma de muestra se suspendió la aireación por dos minutos para permitir la separación de fases, se tomó una muestra de la fase acuosa y se dejó reposar durante la noche, al día siguiente se tomó una muestra de la fase acuosa del frasco de muestreo y se determinó la concentración de HXD por cromatografía de gases, en la figura 6.5 se muestra la separación de fases en el biorreactor y en los frascos de muestreo, el HXD y la biomasa se ubican en la parte superior de ambos dispositivos separándose claramente de la fase acuosa.



Figura 6.5. Separación de fases en el reactor y en el frasco de muestreo.

## 6.7 Determinación del diámetro de gota de HXD

Con el fin de determinar el efecto de los biosurfactantes en el diámetro de las gotas de HXD, se determinó el diámetro medio Sauter de las gotas ( $d_{s_0}$ ) en un sistema abiótico y uno biótico.

### 6.7.1 Sistema abiótico

El valor de  $ds_o$  se determinó directamente en el reactor sin microorganismos y conteniendo únicamente medio de cultivo y se siguió la metodología fotográfica descrita en la sección 6.3.

### 6.7.2 Sistema biótico

Para determinar el diámetro de gota del HXD durante los experimentos en el reactor se diseñó un contenedor con agitación para la toma de muestras y se utilizó un equipo de medición de partículas por reflectancia óptica *Particle Scan 2008* (MTS, Düsseldorf, Germany), se determinó un mínimo de 2000 cuentas con las que se obtuvo una distribución de diámetros de gota, los cuales fueron procesados de manera análoga al  $ds_g$  para obtener el diámetro medio Sauter de las gotas de HXD ( $ds_o$ ). En la figura 6.6 se muestra el equipo utilizado para la determinación de  $ds_o$ , el sensor del equipo de medición se introdujo a una profundidad de 3.25 cm con respecto a la superficie del contenedor. El desarrollo matemático para determinar el nivel de agitación mecánica en el sistema de muestreo se presenta en el ANEXO III.

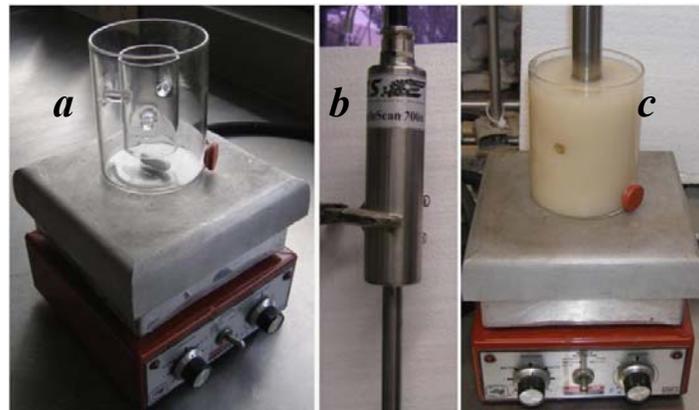


Figura 6.6. Equipo de medición para determinar el diámetro de gota de HXD. (a) contenedor agitación, (b) equipo de medición por reflectancia óptica, (c) análisis de una muestra.

## 7. DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO PARA LA BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE HXD EN UN BIORREACTOR DE COLUMNA BURBUJEADA

Para describir la biodegradación aerobia de HXD se desarrolló un modelo matemático que consiste de un sistema de ecuaciones diferenciales, obtenido a través de balances de masa para HXD, oxígeno y biomasa. En la figura 7.2 se representa esquemáticamente el proceso de biodegradación de HXD, donde se observa que la presencia de biosurfactantes es indispensable para que se lleve a cabo la solubilización y la eventual formación de micelas o complejos HXD-surfactante.

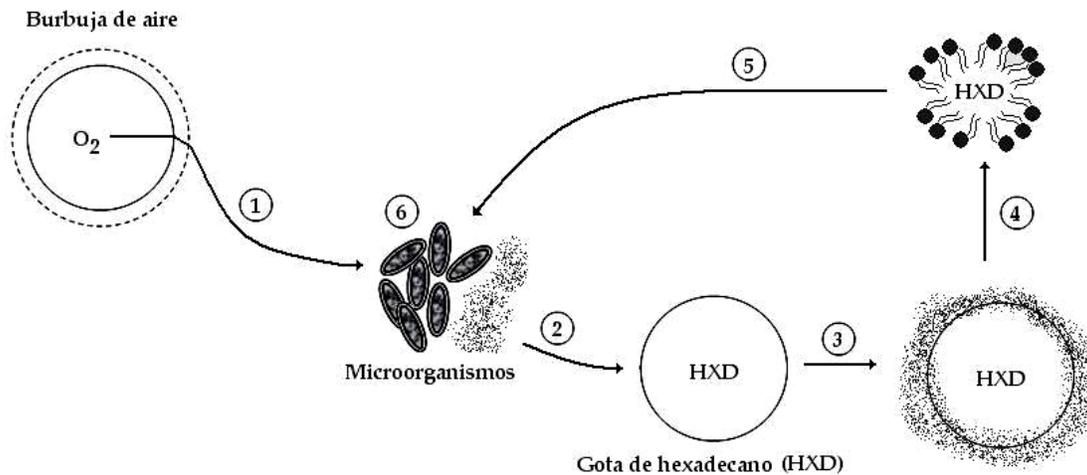


Figura 7.2. Esquematación de la biodegradación de HXD, donde: (1) transporte de oxígeno de la fase gas a la fase acuosa, (2) producción de surfactantes por parte de los microorganismos, (3) interacción HXD-surfactante, (4) formación de micelas (5) captación de la micela por los microorganismos, (6) consumo de ambos sustratos, generación de biomasa y reinicio del ciclo. Las figuras no están a escala real.

De acuerdo con lo anterior, la biodegradación aerobia de HXD se puede resumir que tres etapas: 1) transporte de oxígeno de la fase gas a la fase acuosa, 2) transporte de hexadecano de la fase orgánica a la fase acuosa y 3) consumo de ambos sustratos por los microorganismos. Por lo tanto, para determinar la velocidad a la que ocurre cada uno de

estos procesos, es necesario obtener los coeficientes de transferencia de masa y los parámetros cinéticos de la biodegradación. Una forma de determinar la transferencia de HXD a la fase acuosa es medir directamente la concentración de HXD solubilizado, agrupando los pasos representados por los números (2), (3) y (4) de la figura 7.2 en un coeficiente global de transporte, que incluye dos fenómenos: uno biológico, que tiene que ver con la habilidad de los microorganismos para producir surfactantes y otro físico, que tiene que ver con la agitación puesto que la interacción HXD-surfactante y la eventual formación de micelas dependen de las condiciones hidrodinámicas del sistema, de esta manera se obtiene un coeficiente volumétrico “aparente” de transferencia de HXD:

$$\tilde{k}_L a_{HXD}.$$

### 7.1 Balance de biomasa

Se propuso una cinética de crecimiento de doble Monod en la que se tiene como sustratos limitantes al oxígeno y al HXD; se sabe que una limitación de cualquiera de los dos sustratos en la *fase acuosa* puede provocar una disminución en la actividad metabólica, teniendo como consecuencia un decremento significativo en la tasa de degradación del hidrocarburo. Por lo tanto, el crecimiento de la biomasa es descrita por la ecuación 7.1.

$$\frac{dX}{dt} = X \left[ \mu_{\max} \left( \frac{C_{HXD_L}}{K_{HXD} + C_{HXD_L}} \right) \left( \frac{C_{O_2L}}{K_{O_2} + C_{O_2L}} \right) \right] \quad (7.1)$$

### 7.2 Balance de oxígeno

La tasa de transferencia de oxígeno de la fase gas a la fase acuosa es proporcional al producto del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno,  $k_L a_{O_2}$ , y el gradiente de concentraciones establecido por la concentración de saturación y la concentración de oxígeno disuelto al tiempo  $t$ . La tasa de consumo de oxígeno es proporcional al producto

de la tasa específica de consumo de los microorganismos y la concentración de biomasa, de tal manera que la concentración de oxígeno en la fase acuosa es descrita por la ecuación 7.2.

$$\frac{dC_{O_2L}}{dt} = k_L a_{O_2} (C_{O_2}^* - C_{O_2L}) - QO_2 X \quad (7.2)$$

### 7.3 Balance de HXD en la fase acuosa

Se realizó un balance para la concentración de HXD en la fase acuosa ( $C_{HXDL}$ ), que es la fracción de HXD que los microorganismos pueden consumir. La tasa de transferencia de la fase orgánica a la fase acuosa (proceso de solubilización) es proporcional al producto del coeficiente volumétrico aparente de transferencia y el gradiente de concentraciones establecido por la concentración de saturación aparente de HXD y la concentración aparente al tiempo  $t$ . La velocidad de consumo de HXD está determinada por la tasa de consumo de los microorganismos representada por el término  $r_{m.o.}$ , se propone que el HXD consumido tiene dos destinos, una fracción se destina a la formación de biomasa, representada por el término  $r_x$ , mientras que otra fracción se destina al mantenimiento, representada por el término  $mX$ , que es el sustrato consumido para producir energía con el fin de mantener los sistemas de captación de HXD y otras funciones celulares importantes (Pirt, 1975). Por lo tanto, la concentración de HXD en la fase acuosa está dada por la ecuación 7.3.

$$\frac{dC_{HXDL}}{dt} = \tilde{k}_L a_{HXD} (C_{HXD}^* - C_{HXDL}) - r_{m.o.} \quad (7.3)$$

Donde:

$$r_{m.o.} = r_X + mX \quad (7.4)$$

y

$$r_X = \frac{\mu_{\max} X}{Y_{x/s}} \left( \frac{C_{HXD_L}}{K_{HXD} + C_{HXD_L}} \right) \left( \frac{C_{O_2L}}{K_{O_2} + C_{O_2L}} \right) \quad (7.5)$$

#### 7.4 Balance de HXD total

Se realizó un balance para la concentración total de HXD, que es la suma de la fracción acuosa y la fracción insoluble. El cambio en la concentración total de HXD se debe únicamente al consumo por parte de los microorganismos ( $r_{m.o.}$ ). Por lo tanto, la concentración de HXD total es descrita por la ecuación 7.6.

$$\frac{dC_{HXDt}}{dt} = -r_{m.o.} \quad (7.6)$$

#### 7.5 Supuestos del modelo

- 1) La biodegradación aerobia de HXD por un consorcio bacteriano es descrito por las ecuaciones 7.1, 7.2, 7.3 y 7.6.
- 2) El sustrato limitante es el HXD o el oxígeno ya que el resto de los sustratos que consume el consorcio microbiano están en exceso
- 3) No existe pérdida abiótica de HXD
- 4) El principal mecanismo de consumo de HXD es por solubilización, el consumo por otros mecanismos es despreciable.
- 5) Todas las reacciones se llevan a cabo en la fase acuosa
- 6) El consorcio bacteriano se comporta como una sola unidad y no se presenta inhibición por sustrato para ninguna de las bacterias que lo componen.

## **8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **8.1. Determinación de parámetros hidrodinámicos**

Con el fin de elegir un distribuidor de gas adecuado para los experimentos bióticos en el reactor, se determinó el valor de  $ds_g$ ,  $U_b$  y  $Re_b$  con tres sistemas: distribuidor de vidrio sinterizado (DVS), distribuidor de anillo perforado (DAP) y distribuidor de bastón perforado (DBP). A continuación se presentan los resultados obtenidos para los tres distribuidores.

#### **8.1.1 Diámetro medio Sauter de las burbujas de gas ( $ds_g$ )**

Debido a que la transferencia de oxígeno y las condiciones hidrodinámicas dependen en gran medida de tamaño de las burbujas de la fase gas, el diámetro medio Sauter ( $ds_g$ ) es uno de los parámetros más importantes para evaluar el desempeño del biorreactor. En la Figura 8.1, se presenta el valor de  $ds_g$  para los tres distribuidores, se observa que el DVS generó las burbujas más pequeñas, con un diámetro hasta siete veces menor que el DAP y 4 veces menor que el DBP. El DAP generó el diámetro de burbuja más grande, particularmente con el valor de  $U_G$  más alto, obteniéndose diámetros de hasta 11 mm, lo cual sugiere que la transferencia de oxígeno sería limitada en comparación con los otros distribuidores.

Ribeiro y colaboradores (2004), utilizando una columna burbujeada para la cual  $U_G$  fue de  $2.2 \text{ cm s}^{-1}$ , obtuvieron un valor de  $ds_g$  de 5.2 mm con un distribuidor de plato perforado ( $d_0=0.5 \text{ mm}$ ) y un valor de 4.1 mm con un distribuidor de acero inoxidable poroso; se observa que el DAP genera burbujas más grandes que el distribuidor de plato perforado, aún cuando el valor de  $U_G$  utilizado en el presente trabajo es la mitad del valor

utilizado por Ribeiro y colaboradores, sin embargo, el  $ds_g$  obtenido con el DBP es similar al valor obtenido con el plato perforado. Por otra parte, con el distribuidor de acero inoxidable poroso se obtuvo un valor de  $ds_g$  casi tres veces mayor que con el DVS, lo cual sugiere que la transferencia de oxígeno con el DVS sería incluso mejor que con el distribuidor de acero poroso.

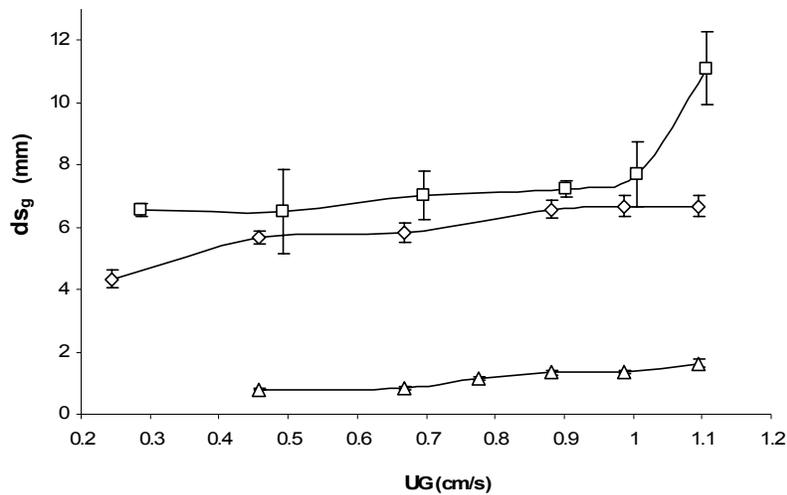


Figura 8.1. Diámetro medio Sauter ( $ds_g$ ) a diferentes valores de  $U_G$ , donde: ( $\square$ ) DAP, ( $\diamond$ ) DBP, ( $\Delta$ ) DVS.

### 8.1.2 Velocidad de ascenso de las burbujas ( $U_b$ )

Una de las ventajas de evaluar  $U_b$  es que puede determinarse el tiempo de residencia de las burbujas ( $t_r$ ), que es el tiempo que permanecen las burbujas de gas en el reactor y se obtiene dividiendo la altura del líquido en la columna ( $H_L$ ) entre  $U_b$  (Ecuación 8.1).

$$t_r = \frac{H_L}{U_b} \quad (8.1)$$

Valores altos de  $U_b$  implican que las burbujas son grandes y que escapan rápido del reactor, teniendo un tiempo de residencia pequeño, en estos sistemas se anticipa que la transferencia de oxígeno será limitada, mientras que valores pequeños de  $U_b$  implican que las burbujas son pequeñas y que tienen un mayor tiempo de residencia, lo cual es indispensable para una buena transferencia de oxígeno. Los valores de  $U_b$  para los tres distribuidores fueron estimados con el modelo modificado de Fukuma y colaboradores (1987), denominado *Fukuma-RS* (Ecuación 8.2). De acuerdo con lo esperado, en la Figura 8.2 se observa que con el DAP se obtienen los mayores valores de  $U_b$ , ya que genera las burbujas más grandes; con el DVS se obtienen los menores valores de  $U_b$  puesto que genera las burbujas más pequeñas, mientras que en término medio se encuentra el DBP.

$$U_b = 1.3\sqrt{g \cdot ds_g} \cdot \ln(3.2 + U_G) \quad (8.2)$$

Donde:

$g$  = constante gravitacional ( $\text{cm s}^{-2}$ )

$ds_g$  = diámetro medio Sauter de las burbujas de gas (cm)

$U_G$  = velocidad superficial del gas ( $\text{cm s}^{-1}$ )

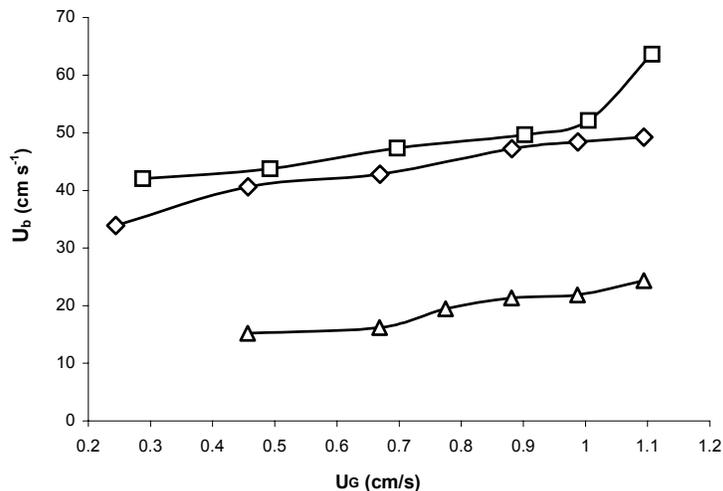


Figura 8.2. Velocidad de las burbujas en medio de cultivo, obtenidas con el modelo de *Fukuma-RS*. Donde: (□) DAP, (◇) DBP, (△) DVS.

Es interesante notar que a pesar de las diferencias en el valor de  $d_{sg}$ , los tres distribuidores presentan valores de  $U_b$  del mismo orden de magnitud. No debe perderse de vista que las burbujas pequeñas, aunque ideales para la transferencia de oxígeno, ofrecen una agitación limitada, ya que la agitación mejora conforme aumenta el diámetro de las burbujas, dado que el proceso de solubilización del HXD depende de las condiciones hidrodinámicas, debe mantenerse un equilibrio entre la transferencia de masa y la agitación. Por lo tanto, una comparación cuantitativa de las condiciones que prevalecen con cada distribuidor de gas permitirá realizar una adecuada selección del sistema a utilizar en los experimentos bióticos.

### 8.1.3 Tiempo característico de difusión ( $t_D$ )

Con el fin de evaluar la transferencia de oxígeno con los tres distribuidores de gas, se determinó el tiempo característico de difusión ( $t_D$ ) y se comparó con el tiempo de residencia de las burbujas. El tiempo característico de difusión indica cuánto tiempo tarda el oxígeno en difundirse del centro de la burbuja de aire a la interfase gas-líquido y se define de la siguiente manera:

$$t_D = \frac{d_{sg}^2}{4D_{O_2,aire}} \quad (8.3)$$

Donde  $D_{O_2,aire}$  es la difusividad de oxígeno en aire. Si se divide  $t_r$  entre  $t_D$  puede saberse si la transferencia de oxígeno estará limitada o no, es decir, valores de  $t_r/t_D \geq 1$  indican que el oxígeno alcanza a difundirse hasta la interfase antes de que la burbuja de aire salga del reactor, entre mayor sea el cociente, la transferencia de oxígeno será mejor. Por el contrario, valores de  $t_r/t_D < 1$  indican que la burbuja sale del reactor antes de que el oxígeno se difunda del centro de la burbuja a la interfase. El cociente  $t_r/t_D$  es un criterio

que puede ser utilizado para seleccionar el distribuidor de gas adecuado para los experimentos bióticos, en función del diámetro de burbuja que se obtiene con cada distribuidor de gas, ya que permite comparar la transferencia de oxígeno obtenida con las tres configuraciones estudiadas. En la tabla 8.1, se presenta el valor del cociente  $t_r/t_D$  para los tres distribuidores de gas a una velocidad superficial de  $1.1 \text{ cm s}^{-1}$ , velocidad utilizada en los experimentos bióticos.

Tabla 8.1. Comparación del tiempo característico de difusividad y el tiempo de residencia de las burbujas.  $U_G=1.1 \text{ cm s}^{-1}$

Distribuidor	$t_r/t_D$
DBP	1.0188
DAP	0.4245
DVS	34.6066

De acuerdo con la tabla 8.1, el distribuidor que favorece la transferencia de oxígeno es el DVS puesto que el cociente  $t_r/t_D$  con ese distribuidor es 34 veces mayor que el obtenido con el DBP y 81 veces mayor que el obtenido con el DAP, un valor de  $t_r/t_D$  de 34.6 indica que el tiempo que permanecen las burbujas de aire en el reactor es mucho mayor que el tiempo que tarda en difundirse el oxígeno a la interfase gas-líquido. El cociente  $t_r/t_D$  obtenido con el DBP es apenas mayor que 1, lo cual indica que el oxígeno tiene suficiente tiempo para difundirse hasta la interfase antes de que las burbujas salgan del reactor, mientras que con el DAP se obtiene un cociente  $t_r/t_D$  menor que 1, esto indica que las burbujas salen del reactor antes que el oxígeno se difunda a la interfase, por lo tanto, el DAP es el distribuidor más limitado en cuanto a transferencia de oxígeno.

### 8.1.4 Número de Reynolds de las burbujas ( $Re_b$ )

Para evaluar las condiciones de agitación que genera cada distribuidor, se determinó el número de *Reynolds* de las burbujas, que es una medida de las condiciones de agitación que prevalecen en el reactor. En la Figura 8.3 se presenta el número de Reynolds que se obtiene con cada uno de los distribuidores de gas, se observa que con el DVS el reactor prácticamente no tenía agitación.

Es claro que el distribuidor que genera mayores diámetros de burbuja (DAP), genera también las mejores condiciones de agitación, aunque es importante notar que los valores de  $Re_b$  que se obtienen con el DBP están en el mismo orden de magnitud que los obtenidos con el DAP. En el caso de la agitación, el DAP resultó ser el mejor dispositivo ya que presenta los mayores valores de  $Re_b$ .

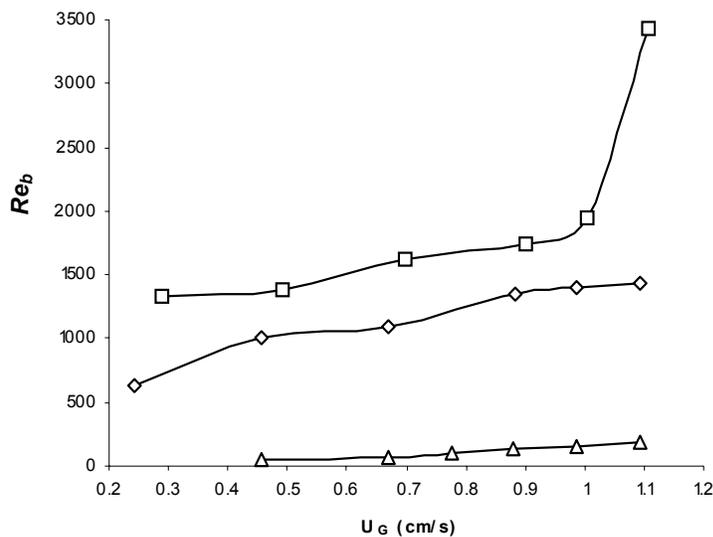


Figura 8.3. Número de Reynolds de las burbujas ( $Re_b$ ) para los tres distribuidores de gas, donde: ( $\square$ ) DAP, ( $\diamond$ ) DBP, ( $\Delta$ ) DVS.

### **8.1.5 Elección del distribuidor de gas**

El sistema de distribución de gas más adecuado para el proceso de biodegradación de hidrocarburos es aquel que mantiene un equilibrio entre la transferencia de oxígeno y la agitación. El DAP ofrece la mejor agitación en comparación con los otros distribuidores, sin embargo, la relación  $t_r/t_D$  muestra que las burbujas son tan grandes que escapan del reactor antes de que el oxígeno se difunda a la interfase gas-líquido, lo cual indica que tendrá una limitada transferencia de oxígeno.

El caso inverso es el DVS, el cual presenta la mejor relación  $t_r/t_D$ , pero prácticamente no agita al reactor, lo cual redundaría en una pobre transferencia de HXD a la fase acuosa. El DBP es el punto medio de los distribuidores anteriores ya que las burbujas generadas por este sistema son lo suficientemente grandes como para mantener bien agitado al sistema, lo cual se demuestra al obtenerse valores de  $Re_b$  del mismo orden de magnitud que el DAP, y a su vez, se obtiene una relación  $t_r/t_D > 1$ , lo cual indica que el tiempo que permanecen las burbujas dentro del reactor es apenas suficiente para que el oxígeno se difunda hasta la interfase gas-líquido. Por lo anterior, el DBP fue elegido para realizar los experimentos bióticos.

### **8.2 Experimentos con el DBP**

Una vez seleccionado el distribuidor de gas a utilizar durante el resto de los experimentos, se determinó la distribución de diámetros de burbujas y se midió el diámetro de gota del HXD con el fin de hacer comparaciones con el diámetro de gota obtenido en el sistema con biosurfactantes.

### 8.2.1 Distribución de diámetros de burbuja: sistema abiótico

En la Figura 8.4 se presenta la frecuencia relativa de los diámetros de burbuja que se generan con el DBP a diferentes valores de  $U_G$ , se observa que conforme aumenta  $U_G$ , la distribución de diámetros se va haciendo más heterogénea. A la menor velocidad de gas utilizada, se observa una distribución bimodal, con diámetros predominantes de 2 y 4 mm. Al aumentar  $U_G$  ya aparecen burbujas de 7 mm y los picos que se veían en anteriormente se han recorrido, es decir, se producen burbujas más grandes. Con el valor más alto de  $U_G$  se observa la presencia de burbujas de hasta 10 mm, aunque también aparecen burbujas de 1 mm, esta heterogeneidad de diámetros indica que los procesos de coalescencia y rompimiento de burbujas se intensifican conforme se intensifica la agitación en el sistema, la cual es claramente función de  $U_G$ .

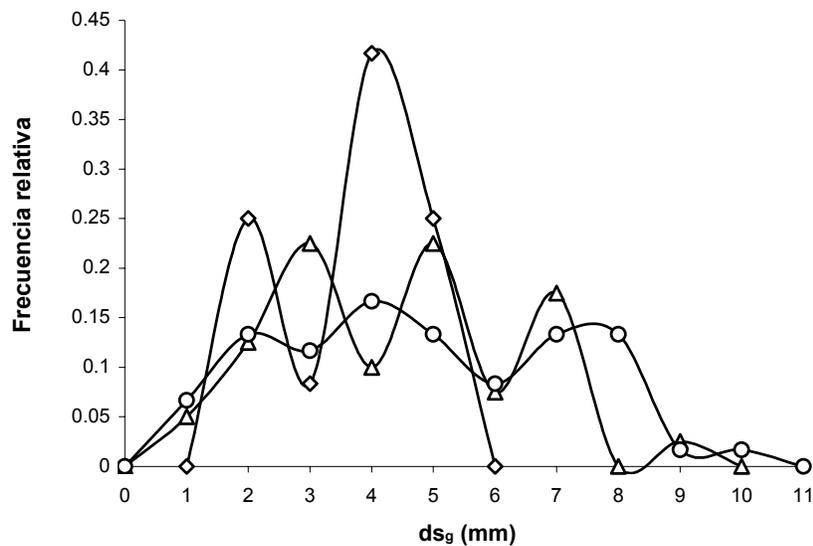


Figura 8.4. Diámetros de burbuja generados con el DBP a diferentes velocidades superficiales, donde: ( $\diamond$ )  $U_G=0.2442$  cm s $^{-1}$ , ( $\Delta$ )  $U_G=0.6691$  cm s $^{-1}$ , ( $\circ$ )  $U_G=1.1$  cm s $^{-1}$ .

### 8.2.2 Diámetro medio Sauter de las gotas de HXD: sistema abiótico

Se determinó el diámetro medio Sauter de las gotas de HXD ( $d_{s_o}$ ) en el medio de cultivo sin Tween 20, en la Figura 8.5 se muestra el valor de  $d_{s_o}$  a diferentes valores de  $U_G$  y se observa que el diámetro de las gotas disminuye conforme aumenta la velocidad superficial del gas ya que el  $Re_b$  aumenta conforme aumenta  $U_G$  como se observa en la figura 8.3, por lo cual, la agitación en el reactor mejora conforme aumenta la velocidad superficial del gas. Al comparar estos resultados con los valores de  $d_{s_o}$  que se obtienen en los experimentos bióticos se puede determinar el efecto de los biosurfactantes en el diámetro de las gotas de HXD; se espera que a medida que se produzcan los biosurfactantes se presente una disminución importante en los valores de  $d_{s_o}$ .

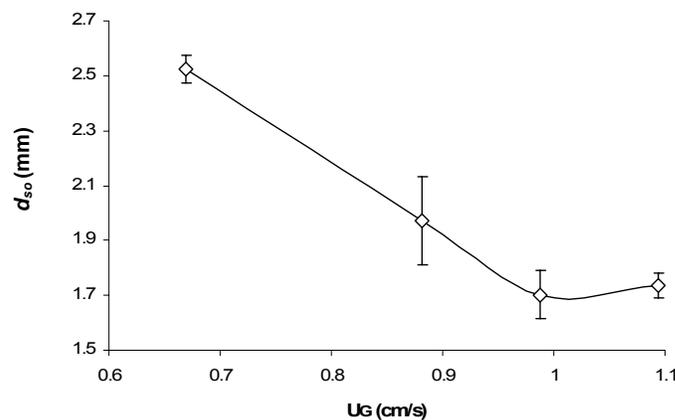


Figura 8.5. Diámetros de gota de HXD obtenidos con el DBP en el sistema abiótico.

### 8.2.3 Diámetro medio Sauter de las gotas de HXD: sistema biótico

Se determinó el diámetro medio Sauter de las gotas de HXD ( $d_{s_o}$ ) durante los ensayos bióticos en el reactor con un valor de  $U_G$  de  $1.1 \text{ cm s}^{-1}$ , en la tabla 8.2 se presenta una comparación del diámetro obtenido en el sistema abiótico y los diámetros obtenidos durante los experimentos.

Tabla 8.2. Efecto de los surfactantes en el diámetro de gota del HXD,  $U_G=1.1\text{cm s}^{-1}$

	Sin biosurfactantes	Con biosurfactantes	Factor de decremento
$ds_o$ (mm)	1.73	0.0474 (0 h)	36.5
		0.0359 (48 h)	48.2
		0.0340 (96 h)	50.9
		0.0244 (168 h)	70.8
		0.0229 (240 h)	75.5

Se observa que los biosurfactantes tuvieron un efecto importante en la el tamaño de gota del HXD ya que produjeron una disminución de  $ds_o$  hasta de 75 veces con respecto al sistema que no tiene biosurfactantes, lo cual mejora de manera significativa el área específica de transferencia de masa de la fase orgánica, facilitando la interacción del HXD con los surfactantes y la formación de micelas.

### 8.3. COEFICIENTES CONVECTIVOS DE TRANSFERENCIA DE MASA

#### 8.3.1 Transferencia de oxígeno

Para determinar el efecto del HXD sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ( $k_L a_{O_2}$ ) y sobre la concentración de saturación ( $C_{O_2}^*$ ), ambos parámetros fueron determinados en agua destilada y en el medio de cultivo. En la tabla 8.3 se observa que el aumento en la solubilidad de oxígeno en el medio de cultivo por la presencia del HXD es despreciable en el presente sistema ya que la fracción volumétrica de HXD fue muy reducida (1.7%), mientras que un incremento significativo en  $C_{O_2}^*$  se observaría a partir de una fracción del 10% (Nielsen y col., 2003a). El valor de  $k_L a_{O_2}$  fue determinado a diferentes tiempos durante los ensayos bióticos; en la Figura 8.6 se muestran los valores de  $k_L a_{O_2}$ , se observa que los valores fueron mayores de  $25\text{ h}^{-1}$  durante todo los ensayos bióticos, obteniéndose un valor promedio de  $33\text{ h}^{-1}$ .

Tabla 8.3. Valores de  $k_La_{O_2}$  y  $C_{O_2}^*$  en agua destilada y en medio de cultivo

Sistema	$k_La_{O_2}$ ( $h^{-1}$ )	$C_{O_2}^*$ ( $mgO_2 L^{-1}$ )
Agua destilada	43.2	6.5
Medio de cultivo	42.12	6.62

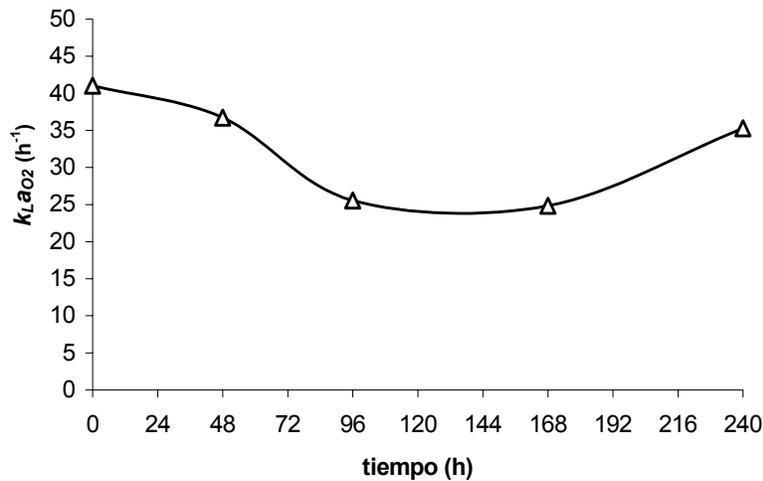


Figura 8.6. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno durante los ensayos bióticos en el reactor.

Vandu y colaboradores (2004), utilizando una columna burbujeada con un distribuidor de plato perforado ( $d_0=0.5$  mm) y con  $U_G$  de  $2 \text{ cm s}^{-1}$ , obtuvieron un valor de  $k_La_{O_2}$  de  $72 \text{ h}^{-1}$ ; esta diferencia puede deberse a dos factores: en primer lugar el valor de  $U_G$  es el doble del utilizado en el presente trabajo y se sabe que  $k_La_{O_2}$  aumenta conforme  $U_G$  aumenta (Shah y col., 1982); por otra parte el diámetro de los orificios del DBP es el doble del utilizado por Vandu y colaboradores (2004), lo cual promueve la generación de burbujas pequeñas. Oliveira y Ni (2004), utilizando una columna burbujeada con un distribuidor de un solo orificio ( $d_0=1$  mm) y con  $U_G$  de  $1 \text{ cm s}^{-1}$ , obtuvieron un valor de  $k_La_{O_2}$  de  $11 \text{ h}^{-1}$ ; estos resultados están de acuerdo con lo reportado en la literatura ya que el valor de  $k_La_{O_2}$  está fuertemente relacionado con las características del distribuidor de gas, principalmente a valores bajos de  $U_G$  (Kantarci y col., 2005).

En la figura 8.7 se muestra la concentración de oxígeno disuelto durante los ensayos bióticos, se observa que, con los valores de  $k_L a_{O_2}$  obtenidos la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo entre 6 y 4  $\text{mg L}^{-1}$  durante todo el experimento, valor que está por encima de la concentración crítica de oxígeno de la mayoría de los microorganismos, que es de 1  $\text{mg L}^{-1}$  aproximadamente (Bailey y Ollis, 1986). Estos resultados sugieren que la transferencia de oxígeno no es el paso limitante en el proceso de biodegradación de HXD ya que de ser así, la concentración de oxígeno disuelto sería menor.

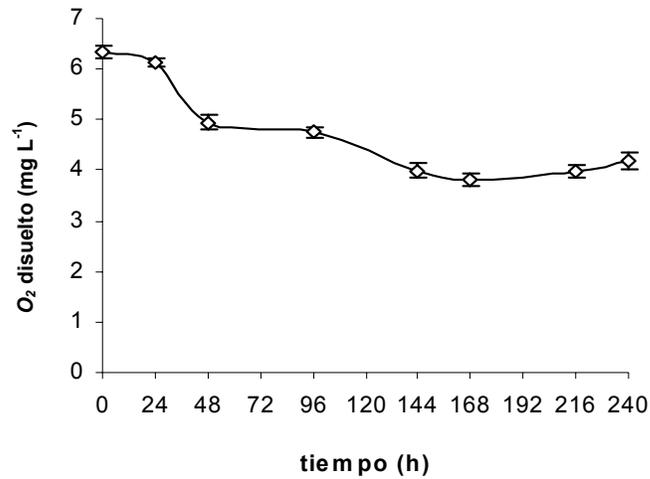


Figura 8.7. Evolución de la concentración de oxígeno disuelto con respecto al tiempo.

### 8.3.2 Transferencia de HXD

Para evaluar la tasa de transferencia del HXD a la fase acuosa se inactivó al consorcio bacteriano con cloranfenicol y se determinó la concentración de saturación aparente ( $C_{HXD}^*$ ) y el coeficiente volumétrico aparente de transferencia de HXD ( $\tilde{k}_L a_{HXD}$ ). Ambos parámetros fueron determinados en tres tiempos: al inicio, cerca de la mitad (96 h) y al final (240 h) de los ensayos bióticos.

Con el fin de observar el efecto de la producción de biosurfactantes en los parámetros de transferencia de HXD se midió la tensión superficial, que es una forma cualitativa de seguir la producción de los biosurfactantes (Bodour y col., 2004).

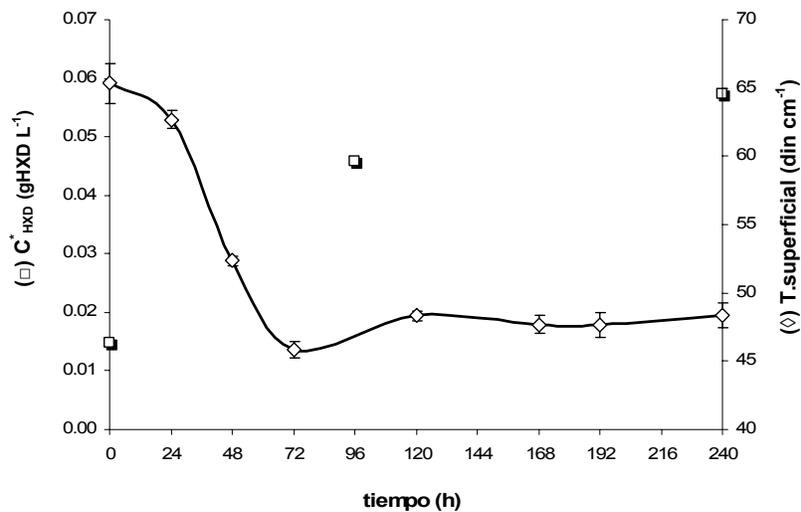


Figura 8.8. Evolución de la concentración de saturación de HXD y la tensión superficial con respecto al tiempo.

En la Figura 8.8 se presentan los valores de  $C_{HXD}^*$  y su relación con la tensión superficial. Se observa que el valor de  $C_{HXD}^*$  es de aproximadamente 15 mg L<sup>-1</sup> al inicio de los ensayos bióticos, mientras que la solubilidad reportada para HXD en un medio de cultivo a 25° C es de 1.84x10<sup>-3</sup> mg L<sup>-1</sup> (Beal y Betts, 2000), lo cual representa un aumento de cuatro ordenes de magnitud en la concentración de HXD en la fase acuosa, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Bai y colaboradores (1997), quienes reportan que los biosurfactantes producidos por *Pseudomonas aeruginosa* pueden incrementar la solubilidad del HXD a valores de hasta 50 mg L<sup>-1</sup>.

El drástico aumento en la concentración de HXD desde el inicio de los experimentos se debe a la forma en que éstos fueron preparados, ya que el reactor trabajó en forma secuencial, esto quiere decir que se inició un nuevo ciclo a partir de uno que había concluido; por lo tanto, poco menos de una tercera parte de los surfactantes acumulados hasta las 240 h del ciclo anterior son transferidos al siguiente, esto permite que el proceso de emulsificación del HXD ocurra desde el inicio y no hasta que se produzcan nuevos surfactantes. A medida que aumenta la producción de surfactantes (o disminuye la tensión superficial), la concentración de HXD en la saturación se incrementa y su valor llega a ser hasta diez veces mayor que la concentración de saturación de oxígeno.

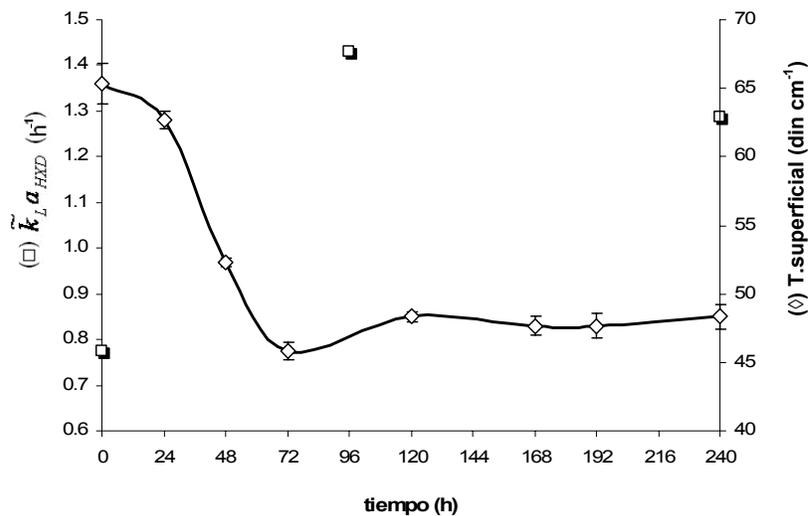


Figura 8.9. Variación del coeficiente volumétrico de transferencia de HXD y la tensión superficial con respecto al tiempo.

En la Figura 8.9 se presentan los valores de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  y su relación con la tensión superficial, se observa que al disminuir la tensión superficial (o al aumentar la producción de biosurfactantes), el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  aumenta, sin embargo, al final del ensayo se observa una ligera disminución.

Estos valores pueden deberse a que  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  es el resultado de la velocidad a la que ocurren dos procesos: la producción de biosurfactantes y la formación de micelas; el primer proceso depende de la velocidad de producción de biosurfactantes de los microorganismos, mientras que la velocidad de formación de micelas depende las condiciones hidrodinámicas y es bien sabido que la agitación provista por burbujas es suave en comparación con sistemas de agitación mecánicos (Merchuk y col., 1994); por otra parte, los alcanos de alto peso molecular están entre los hidrocarburos con menor solubilidad en medios acuosos (Salanitro, 2001), por lo que no es extraño que se obtengan valores bajos de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$ .

## 8.4 PARÁMETROS CINÉTICOS DEL CONSORCIO BACTERIANO

### 8.4.1 Experimentos en matraces

Para determinar  $K_{HXD}$  y  $m$  se realizaron ensayos de biodegradación de 168 h (por triplicado) en matraces con 150 rpm y 25° C, la concentración inicial de HXD fue de 13 g L<sup>-1</sup> y la final fue de 5.9 g L<sup>-1</sup> de HXD. El valor de  $k_L a_{O_2}$  se estimó con la ecuación de Henzler y Schedel (Maier y Büchs, 2001) y se obtuvo un valor de 107 h<sup>-1</sup>, por esta razón los matraces fueron considerados como sistemas sin limitación de oxígeno y en estos experimentos no fue considerado como sustrato limitante, de tal manera que solamente  $K_{HXD}$  y  $m$  fueron los parámetros de ajuste en el modelo. En la Figura 8.10 se muestra la producción de biomasa a lo largo de los ensayos; se observa que hay una producción importante de biomasa a partir de las 48 h, que es el periodo del ensayo en el que se producen los biosurfactantes, de acuerdo con los resultados previamente obtenidos en el biorreactor (Figura 8.9).

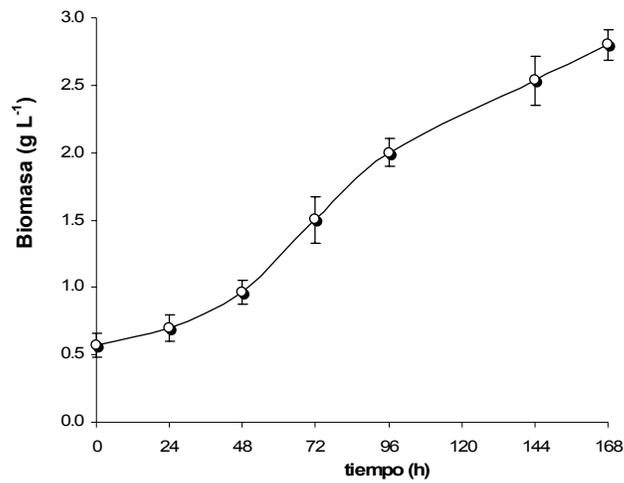


Figura 8.10. Producción de biomasa durante los ensayos en matraces.

En la tabla 8.4 se presenta el valor de los parámetros cinéticos obtenidos. Se obtuvo un valor de  $Y_{x/s}$  bajo en comparación con otros procesos aerobios en los que es común encontrar valores de 0.5 o mayores (Bailey y Ollis, 1986). Sin embargo, si se considera la baja concentración de hexadecano en la fase acuosa, el porcentaje de sustrato que se destina a la formación de biomasa es alto.

Tabla 8.4. Parámetros obtenidos en los matraces

$Y_{x/s}$	0.3177 gBiomasa gHXD <sup>-1</sup>
$K_{HXD}$	4.03 mgHXD L <sup>-1</sup>
$m$	2.8 mgHXD gBiomasa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>

Sekelsky y Shreve (1999), reportan un valor de  $K_{HXD}$  de 0.56 mg L<sup>-1</sup> para un sistema de degradación de hexadecano con *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que Medina-Moreno (2006), para un sistema de degradación de crudo Maya y parafinas, reporta un valor de  $K_{HXD}$  de 0.823 mg L<sup>-1</sup>; el valor obtenido en el presente trabajo es cerca de diez veces mayor que los dos reportes antes mencionados, esto puede deberse a que hay diferencias significativas entre los sistemas; Sekelsky y Shreve (1999) utilizaron un sólo

microorganismo y el valor de  $K_{HXD}$  que encontraron fue para *Pseudomonas aeruginosa* exclusivamente y a una temperatura de 33° C; por otra parte, Medina-Moreno (2006) además de utilizar una mezcla compleja de parafinas también utilizó crudo Maya en su sistema, por lo que el sustrato fue sustancialmente diferente al utilizado en el presente trabajo.

#### 8.4.2 Experimentos en el biorreactor

Para determinar el valor de  $\mu_{max}$  y  $K_{O_2}$  se realizaron ensayos de biodegradación en el reactor, en la Figura 8.11 se presenta la formación de biomasa y el consumo de HXD durante los experimentos. Para determinar el valor de  $\mu_{max}$  se ajustó un polinomio a los datos de biomasa y se obtuvo la pendiente máxima con el criterio de la primera derivada, esto con el fin de tener a  $K_{O_2}$  como único parámetro de ajuste en el modelo matemático.

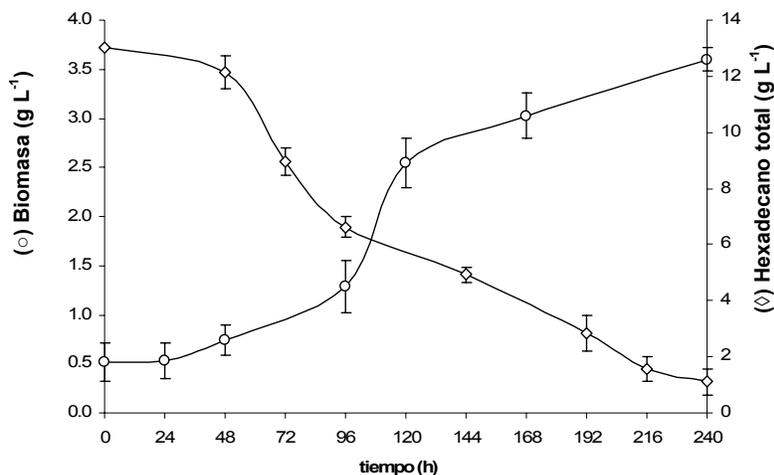


Figura 8.11. Producción de biomasa y consumo de HXD durante los experimentos en el reactor.

Se puede apreciar que durante las primeras 24 horas prácticamente no hay formación de biomasa ni consumo de HXD, sin embargo, después de las 48 h se observa un rápido consumo de HXD, hacia el final del ensayo, el consumo de HXD y la producción de

biomasa disminuyen. Para tener un panorama más completo del proceso observado en la Figura 8.11, se relacionó el consumo de HXD y la formación de biomasa con la producción de biosurfactantes (seguida a través de la tensión superficial).

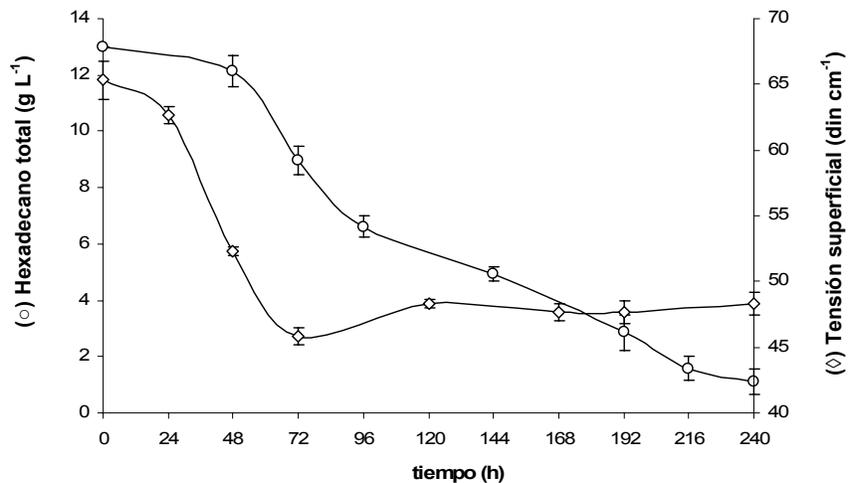


Figura 8.12. Consumo de hexadecano y evolución de la tensión superficial (producción de biosurfactantes).

En la Figura 8.12 se presenta el consumo de HXD y su relación con la producción de biosurfactantes, se observa que durante las primeras 24 h casi no hubo consumo de HXD y durante ese periodo del experimento no se observó una producción importante de biosurfactantes, sin embargo, el consumo de HXD aumenta drásticamente a partir de las 48 h, que es cuando la producción de biosurfactantes se intensifica, lo cual se ve reflejado en un descenso pronunciado de la tensión superficial. A las 96 h ya se había consumido la mitad del HXD inicial y a partir de las 120 h la tensión superficial se estabilizó alrededor de 48 din cm<sup>-1</sup> y el HXD se consumió de forma casi constante.

En la Figura 8.13 se presenta la relación entre la formación de biomasa y la producción de biosurfactantes, se observa que durante las primeras 48 h prácticamente no se produce biomasa, mientras que la tensión superficial había disminuido de manera importante (de 65 a 52  $\text{din cm}^{-1}$ ), lo cual indica que hubo producción de biosurfactantes antes de la formación de biomasa. Se ha demostrado que bastan concentraciones del orden de miligramos para que estos emulsificantes naturales disminuyan la tensión superficial de 68 a 13  $\text{din cm}^{-1}$  (Inakollu y col., 2004). Estos resultados sugieren que el bajo consumo de HXD registrado durante en las primeras 48 h tiene como destino la formación de surfactantes, los cuales son indispensables para llevar a cabo la solubilización del HXD.

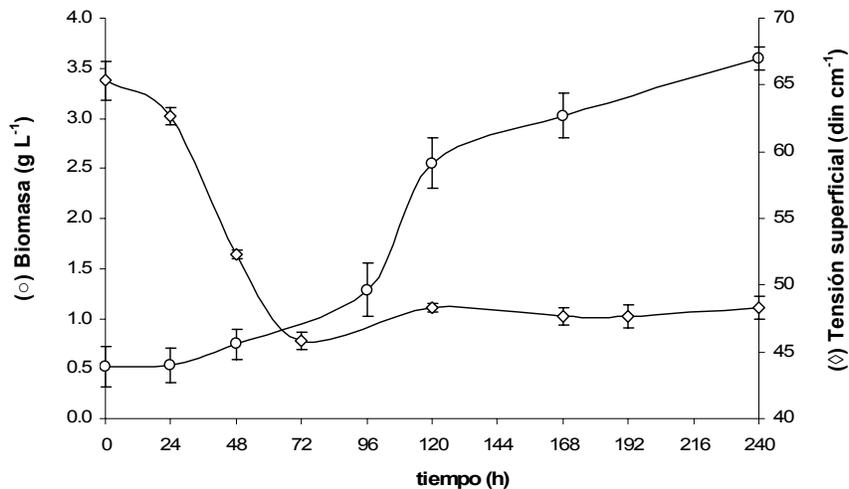


Figura 8.13. Producción de biomasa y evolución de la tensión superficial (producción de biosurfactantes).

De acuerdo con los resultados obtenidos, la tasa de consumo de HXD y la tasa de formación de biomasa presentaron cambios durante el ensayo, por esta razón el consumo de oxígeno también podía variar durante los ensayos, sin embargo, la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo entre 6 y 4  $\text{mg L}^{-1}$  por lo que se anticipó un bajo consumo

por parte de los microorganismos. En la Figura 8.14 se presenta la tasa específica de consumo de oxígeno ( $QO_2$ ) y su relación con la producción de biomasa, se observa que la demanda de oxígeno a las 48 h alcanza un máximo y va disminuyendo conforme avanza el experimento, obteniéndose el máximo valor de  $QO_2$  ( $0.051 \text{ gO}_2 \text{ gbiomasa}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) es alrededor de cinco a seis veces menor que el reportado para otros microorganismos como *Bacillus thuringiensis* cuyo valor oscila entre los  $0.25$  y  $0.32 \text{ gO}_2 \text{ gbiomasa}^{-1} \text{ h}^{-1}$  con glucosa como sustrato (Rowe y col., 2003). Es importante notar que el mayor consumo de oxígeno no tiene lugar a las 72 o 96 h del ensayo, que es cuando se presenta la mayor tasa de consumo de HXD, sino a las 48 h, periodo del experimento en el que se producen con mayor rapidez los biosurfactantes como se observa en la Figura 8.13.

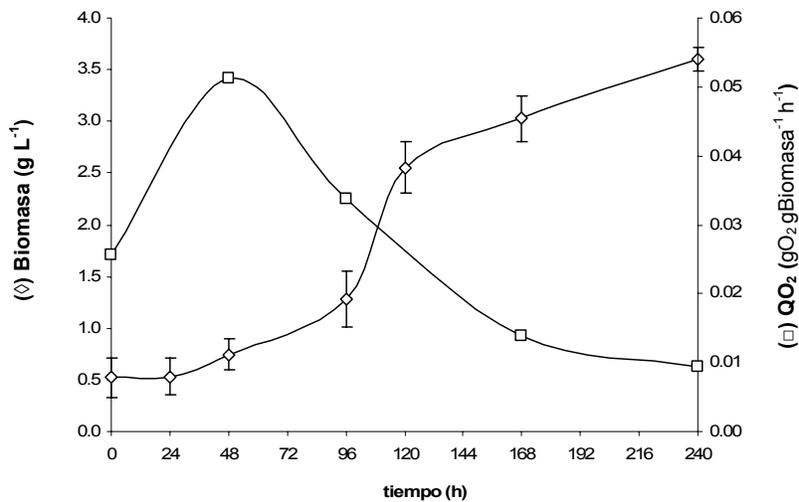


Figura 8.14. Evolución del consumo específico de oxígeno y la producción de biomasa con respecto al tiempo.

En la tabla 8.5 se presentan los parámetros obtenidos en el reactor. El valor de  $\mu_{max}$  indica que el consumo de HXD es un proceso considerablemente más lento que la asimilación de otros sustratos como la glucosa, donde se llega a obtener valores diez veces mayores (Beyenal y col., 2003).

Tabla 8.5. Parámetros obtenidos en los experimentos con el reactor.

$\mu_{max}$	0.02069 h <sup>-1</sup>
$K_{O_2}$	0.1694 mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>
$QO_2$ (promedio)	26.8 mgO <sub>2</sub> gBiomasa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>

Debido a que es difícil evaluar el desempeño de los microorganismos a partir de los parámetros cinéticos de manera aislada, en la tabla 8.6, se presenta la tasa de consumo de hidrocarburos en diferentes sistemas, donde se observa que la tasa de consumo obtenida en el presente trabajo está entre las más altas. Es interesante notar que las tasas de degradación disminuyen drásticamente cuando se utilizan mezclas más complejas y con hidrocarburos reconocidos por su toxicidad como los aromáticos.

Tabla 8.6. Comparación de las tasas de biodegradación de hidrocarburos en diferentes sistemas

Sistema	gHidrocarburo L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	Referencia
Degradación de HXD por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.032	Sekelsky y Shreve, 1999
Degradación de la fracción alifática del crudo Maya por un consorcio bacteriano	0.104	Díaz-Ramírez y col., 2003
Degradación de una mezcla de benceno, tolueno, pristano, iso-octanos, HXD, dodecano, naftaleno y fenantreno por <i>P. aeruginosa</i> y <i>Rhodococcus</i> H131A	0.003	Inakollu y col., 2004
Degradación de una mezcla de crudo Maya y parafinas por un consorcio bacteriano	0.018	Medina-Moreno y col., 2005
Degradación de HXD por <i>Alcaligenes xylooxidans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Brevibacterium luteum</i> y <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> (mismo consorcio utilizado por Medina-Moreno y colaboradores, 2005)	0.05	El presente trabajo

## 9. VALIDACIÓN DEL MODELO

Una vez determinados los parámetros de transferencia de masa y los parámetros cinéticos se realizó la validación del modelo matemático, el cual consiste de cuatro ecuaciones diferenciales acopladas, una para cada especie: biomasa, HXD en la fase acuosa, HXD total y oxígeno (tabla 9.1). Debido a que los coeficientes de transferencia tanto de HXD como de oxígeno tuvieron cambios importantes durante los ensayos (Figuras 8.6 y 8.9), se utilizaron ecuaciones polinomiales para ajustar ambos coeficientes y fueron incluidas en el modelo como ecuaciones auxiliares. El sistema de ecuaciones diferenciales se resolvió con el método de Runge-Kutta-Fehlberg (45), los algoritmos y los datos de entrada se detallan en el ANEXO IV.

Tabla 9.1. Sistema de ecuaciones diferenciales que describen el proceso de biodegradación de HXD por un consorcio bacteriano

Especie	Ecuación	Condición inicial (t= 0 h)
Biomasa	$\frac{dX}{dt} = X \left[ \mu_{\max} \left( \frac{C_{HXD_L}}{K_{HXD} + C_{HXD_L}} \right) \left( \frac{C_{O_2L}}{K_{O_2} + C_{O_2L}} \right) \right]$	$X_0 = 0.52 \text{ g L}^{-1}$
HXD en la fase acuosa	$\frac{dC_{HXD_L}}{dt} = \tilde{k}_L a_{HXD} (C_{HXD}^* - C_{HXD_L}) - r_{m.o.}$ Donde: $r_{m.o.} = r_X + mX$ $r_X = \frac{\mu_{\max} X}{Y_{x/s}} \left( \frac{C_{HXD_L}}{K_{HXD} + C_{HXD_L}} \right) \left( \frac{C_{O_2L}}{K_{O_2} + C_{O_2L}} \right)$	$C_{HXD_L} = 0 \text{ g L}^{-1}$
HXD total	$\frac{dC_{HXDt}}{dt} = -r_{m.o.}$	$C_{HXD_L} = 13 \text{ g L}^{-1}$
Oxígeno	$\frac{dC_{O_2L}}{dt} = k_L a_{O_2} (C_{O_2}^* - C_{O_2L}) - QO_2 X$	$C_{O_2L} = 6.62 \text{ mg L}^{-1}$

## 9.1 Experimentos en matraces

A continuación se presentan las predicciones del modelo y se comparan con los datos experimentales obtenidos en los matraces. Debido a que la concentración de HXD se determinó al final del experimento, se presenta el HXD residual y la predicción del modelo.

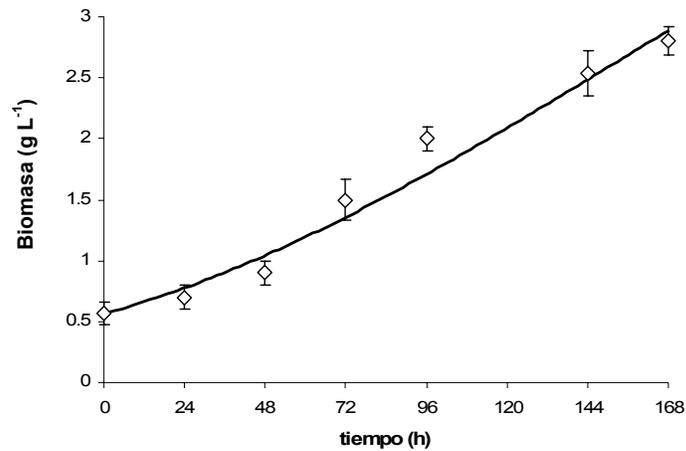


Figura 9.1. Predicción del modelo para la producción de biomasa. Donde: (◇) datos experimentales, (—) simulación, ( $R^2=0.98$ ).

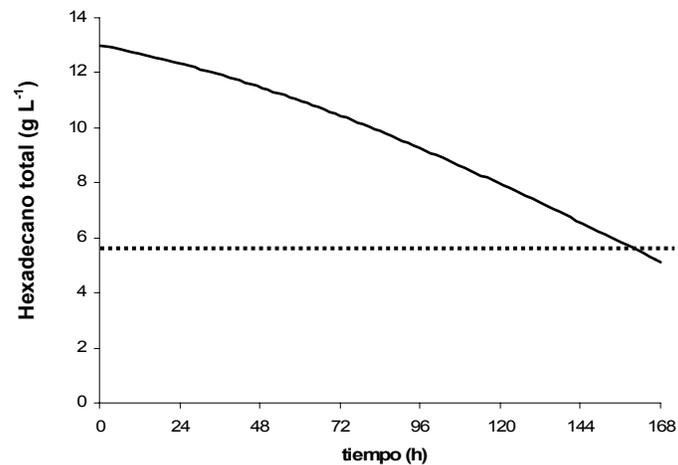


Figura 9.2. Predicción del modelo para el consumo de HXD total. Donde: (···) hexadecano final en el ensayo:  $5.9 \text{ g L}^{-1}$ , (—) simulación.

En las Figuras 9.1 y 9.2 se observa que el modelo tiene un buen ajuste de los datos experimentales. Para los datos de biomasa, la mayor discrepancia entre los datos experimentales y la predicción del modelo es de  $0.25 \text{ mg L}^{-1}$ , obteniéndose un coeficiente de determinación del 98%. Por otra parte, se observa que se predice en buena medida la concentración de HXD residual, con una diferencia de aproximadamente  $0.4 \text{ g L}^{-1}$  entre el valor experimental y la predicción del modelo.

## 9.2 Experimentos en el biorreactor

En la Figura 9.3 se presenta la predicción del modelo para la producción de biomasa y se comparan con los datos experimentales obtenidos en el reactor, se observa que la mayor discrepancia entre los datos experimentales y los obtenidos con el modelo es de  $0.5 \text{ g L}^{-1}$  de biomasa, obteniéndose un buen ajuste ( $R^2=0.92$ ).

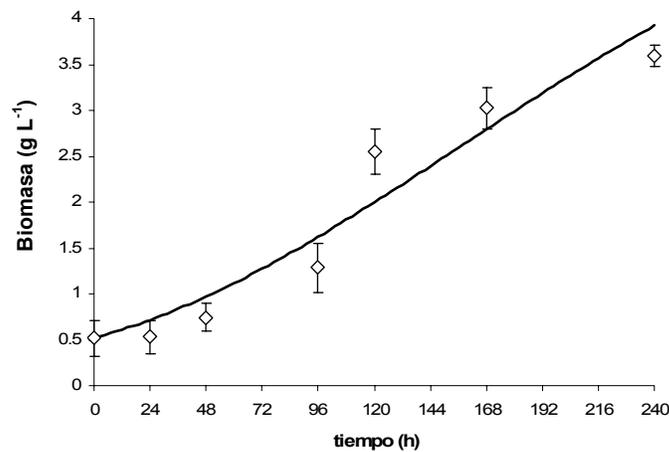


Figura 9.3. Predicción del modelo para la formación de biomasa.  
Donde: (◇) datos experimentales, (—) simulación,  $R^2=0.92$

En la Figura 9.4 se presenta la predicción del modelo para la concentración de hexadecano, se observa que a la mitad del experimento es cuando el modelo tiene la mayor discrepancia con respecto a los datos experimentales, alcanzándose un coeficiente de determinación del 94%.

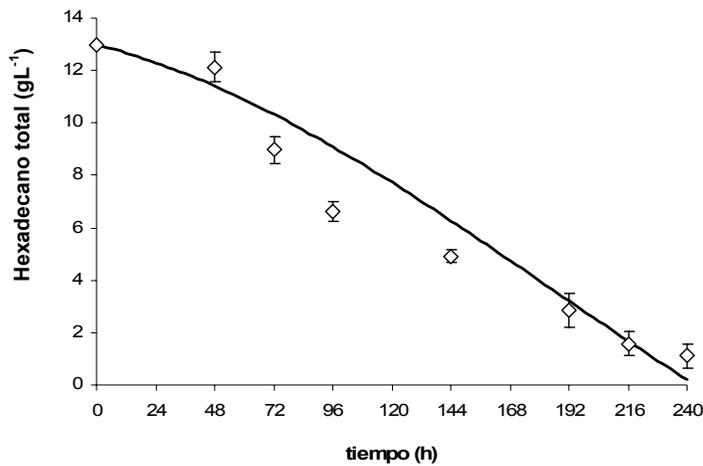


Figura 9.4. Predicción del modelo para el HXD total. Donde: (◊) datos experimentales, (—) simulación,  $R^2=0.94$

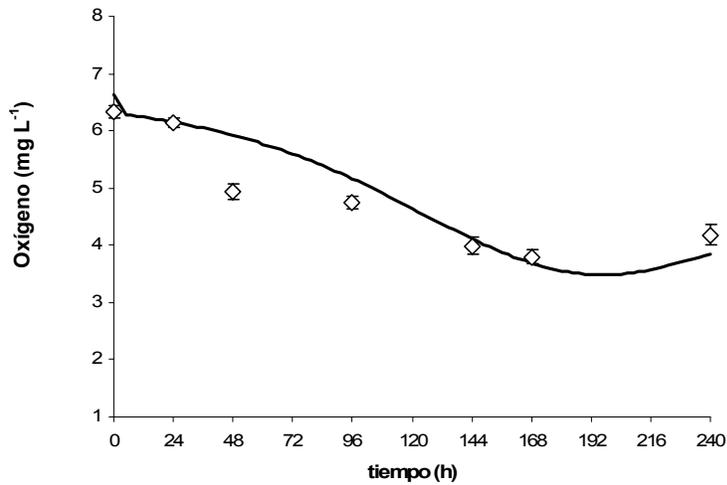


Figura 9.5. Predicción del modelo para el oxígeno disuelto. Donde: (◊) datos experimentales, (—) simulación,  $R^2=0.93$

En la Figura 9.5 se presenta la predicción del modelo para la concentración de oxígeno disuelto, se observa que el modelo sigue la tendencia de los datos experimentales alcanzándose un coeficiente de determinación del 93%. La mayor discrepancia entre el modelo y los datos experimentales fue de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  aproximadamente, una diferencia aceptable ya que se predice en buena medida el resto de los datos.

De acuerdo con los resultados anteriores, el modelo matemático predice en buena medida a los datos experimentales ya que tanto en el reactor como en los matraces se alcanzan coeficientes de determinación mayores al 90%. Por lo tanto, el uso del modelo matemático para realizar simulaciones en otros escenarios puede ser de gran ayuda para establecer intervalos de operación y los posibles resultados que se obtendrían bajo determinadas condiciones de trabajo.

## 10. DETERMINACIÓN DE LA ETAPA LIMITANTE

Para obtener la etapa limitante se realizó un análisis de tasas máximas de transferencia y de consumo. La tasa máxima de transferencia de la especie en cuestión es aquella velocidad en la cual, la concentración en la fase acuosa es igual a cero, de tal manera que el gradiente de concentraciones alcance su máximo valor, que es la concentración de saturación. La tasa máxima a la que los microorganismos pueden consumir HXD para formar biomasa ( $r_X$ ), ocurre cuando no hay limitación por ninguno de los sustratos, en ese caso:  $\mu \approx \mu_{\max}$ . Debido a que  $m$  y  $QO_2$  son tratados como constantes, el consumo de sustrato para mantenimiento y la demanda de oxígeno solamente se incrementan conforme se incrementa la biomasa. La definición de la tasa máxima para cada especie se presenta en la tabla 10.1.

Tabla 10.1. Definición de tasas máximas

HXD	Oxígeno
Consumo $r_{m.o.} = r_X + mX$ Donde: $r_X = \frac{\mu_{\max} X}{Y_{x/s}}$	Consumo $r_{O_2}^{cons} = QO_2 X$
Transferencia $r_{HXD} = \tilde{k}_L a_{HXD} \cdot C_{HXD}^*$	Transferencia $r_{O_2} = k_L a_{O_2} \cdot C_{O_2}^*$

En la Figura 10.1 se presentan las tasas máximas de consumo y de transferencia tanto de HXD como de oxígeno. Se observa que durante todo el ensayo la tasa de transferencia de HXD fue menor que la de consumo, al inicio, la diferencia entre ambas tasas es pequeña, pero a medida que avanza el ensayo la diferencia se hace más marcada. Con el oxígeno se presenta el caso contrario del HXD pues la tasa de transferencia fue mayor que la de consumo e incluso en su punto más cercano la tasa de transferencia de oxígeno es prácticamente el doble de la tasa de consumo.

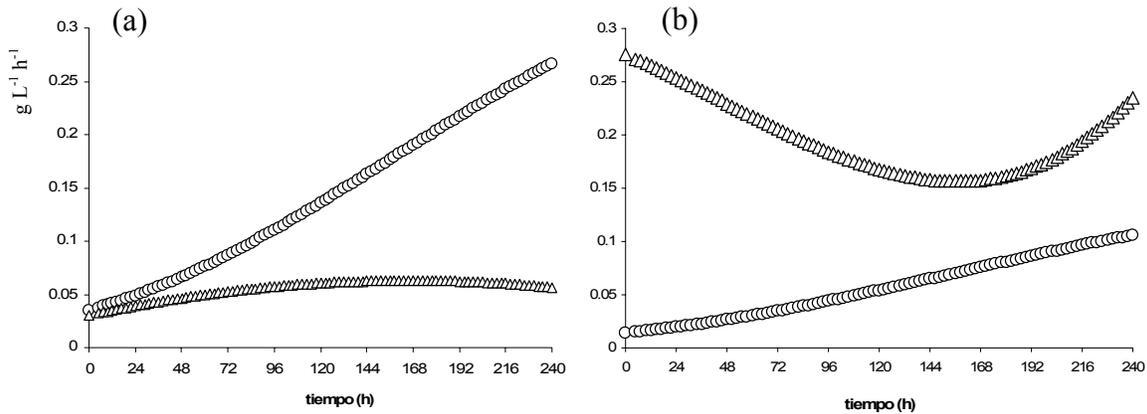


Figura 10.1. Tasas máximas de consumo y transferencia, donde:  
a) (○) consumo y (Δ) transferencia de HXD, b) (○) consumo y (Δ) transferencia de oxígeno.

Los resultados obtenidos con el análisis de tasa máximas indican claramente que la etapa limitante del proceso, bajo las condiciones utilizadas, fue la transferencia de HXD, por lo tanto, la velocidad global del proceso está controlada por la transferencia de HXD de la fase orgánica a la fase acuosa. Es interesante notar que a medida que transcurre el ensayo, la diferencia entre la velocidad de consumo y la velocidad de transferencia se hace más grande y hacia el final del experimento los microorganismos pueden consumir HXD hasta cinco veces más rápido de lo que se transfiere a la fase acuosa como se aprecia en la Figura 10.1 (a).

## 11. SIMULACIÓN DEL PROCESO EN DIFERENTES ESCENARIOS

Se realizaron simulaciones del proceso con el modelo matemático para determinar el efecto de la variación de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$ ,  $k_L a_{O_2}$ . El valor de ambos parámetros fue aumentado al doble y disminuido a la mitad, se realizaron simulaciones bajo los nuevos escenarios y se compararon con los datos experimentales obtenidos. Debido a que los dos coeficientes de transferencia cambiaron con respecto al tiempo, se generaron dos polinomios, uno a partir de los datos experimentales que fueron aumentados al doble y otro a partir de los datos que fueron disminuidos a la mitad. En la tabla 11.1 se presentan los casos simulados y su variación con respecto a los valores experimentales.

Tabla 11.1. Valores utilizados en el análisis de sensibilidad

	Parámetro $\times 2$	Experimental	Parámetro $\div 2$
$\tilde{k}_L a_{HXD}$ (h <sup>-1</sup> ) <i>valor promedio</i>	2.33	1.16	0.58
$k_L a_{O_2}$ (h <sup>-1</sup> ) <i>valor promedio</i>	65.37	32.68	16.34

### 11.1 Simulaciones variando $\tilde{k}_L a_{HXD}$

En la Figura 11.1, se observa que cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  es el doble del valor obtenido experimentalmente ( $\tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ ) se produce más de 6 g L<sup>-1</sup> de biomasa y el HXD se consume poco antes de las 168 h, el oxígeno en este caso sí disminuye de manera drástica, alcanzando niveles críticos a partir de las 192 h. Este sería un escenario adecuado para un proceso que pretenda generar biomasa ya que se tendría un incremento del 75 % con respecto a la producción obtenida experimentalmente. A través del análisis de tasas máximas se puede determinar si bajo estas condiciones el oxígeno pasa a ser la etapa limitante del proceso.

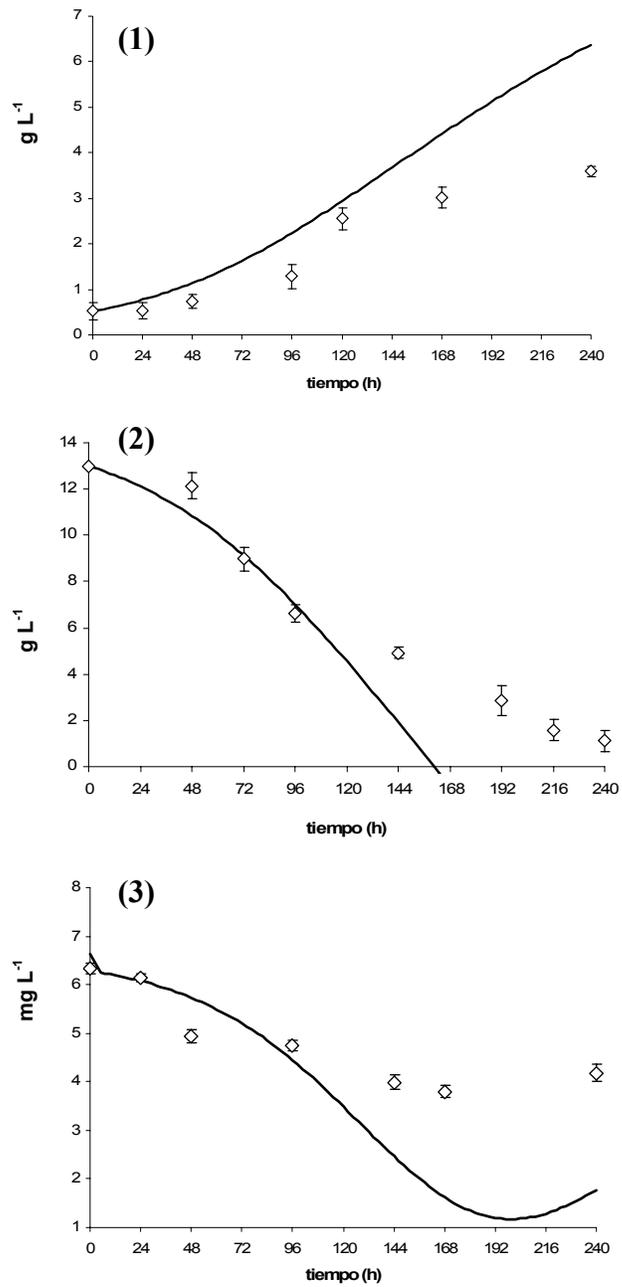


Figura 11.1. Predicciones del modelo cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD} = 2\tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ .  
 (1) biomasa, (2) HXD total y (3) oxígeno, donde: ( $\diamond$ ) datos experimentales, (—) simulación

En la Figura 11.2 se presentan las tasas máximas de consumo y de transferencia cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  es el doble de  $\tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ , se observa que en las primeras 72 h, la etapa limitante es la tasa de consumo, es decir, se puede transferir más de lo que puede consumirse, pero a partir de las 96 h, se presenta un cambio y la tasa de transferencia de HXD se convierte en la etapa limitante. Se observa que la tasa de transferencia de oxígeno hacia el final de los ensayos casi llega a niveles limitantes, sin llegar a ser la etapa limitante.

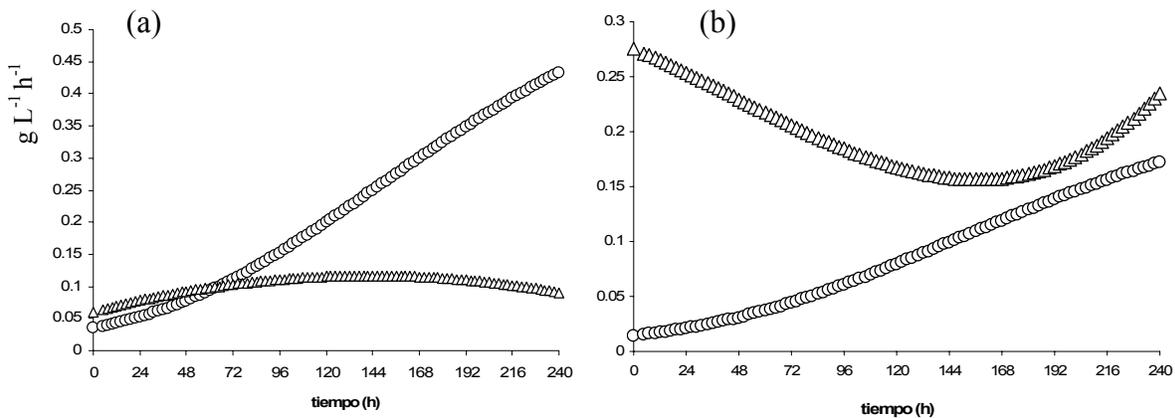


Figura 11.2. Tasas máximas cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD} = 2 \tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ , donde:  
a) (○) consumo y (Δ) transferencia de HXD, b) (○) consumo y (Δ) transferencia de oxígeno.

En la Figura 11.3, se observa que cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  es la mitad de  $\tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ , la producción de biomasa disminuye considerablemente ya que apenas se alcanzan a formar  $2 \text{ g L}^{-1}$  de biomasa, en las 240 h del ensayo apenas se consumen  $6 \text{ g L}^{-1}$  de HXD y la concentración de oxígeno no disminuye de  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . Bajo estas circunstancias no hay una buena producción de biomasa ni se lleva a cabo de manera eficiente el proceso de biodegradación de HXD.

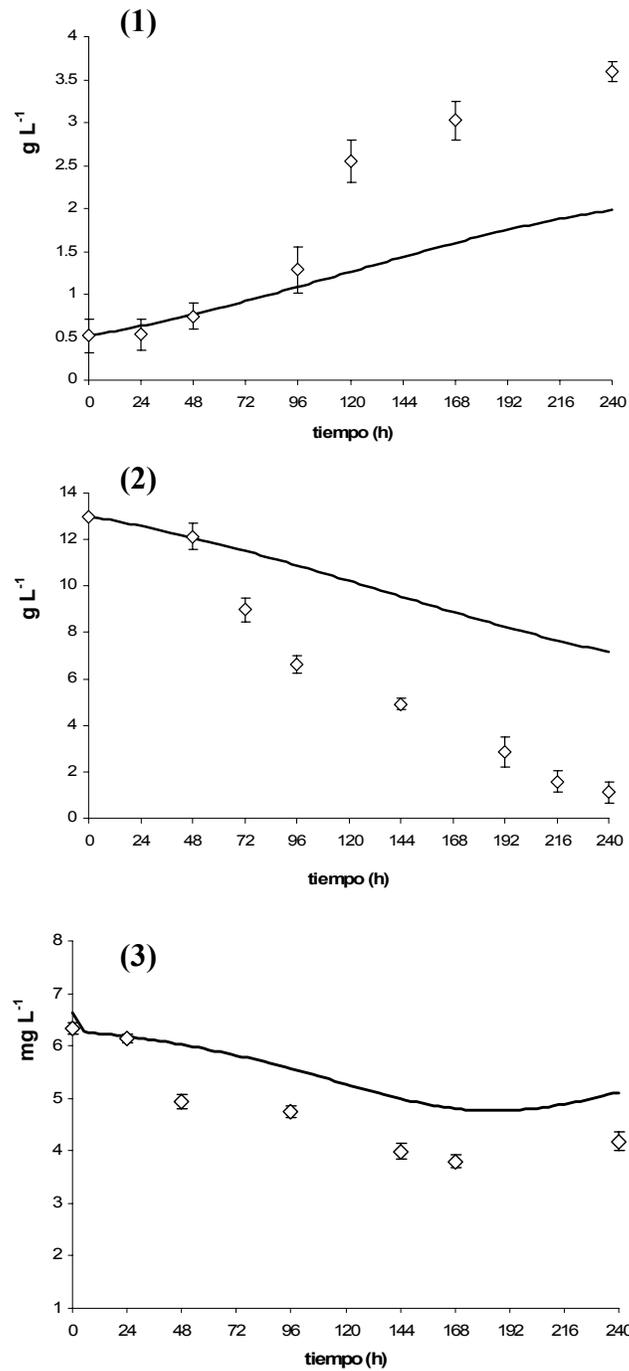


Figura 11.3. Predicciones del modelo cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD} = 0.5 \tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ .  
 (1) biomasa, (2) HXD total y (3) oxígeno, donde: (◇) datos experimentales, (—) simulación

En la Figura 11.4 se presentan las tasas máximas de transferencia y consumo cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  es la mitad de  $\tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ , se observa que la limitación de HXD se acentúa más ya que la tasa de consumo de HXD disminuye hasta 2.5 veces con respecto a la tasa obtenida experimentalmente.

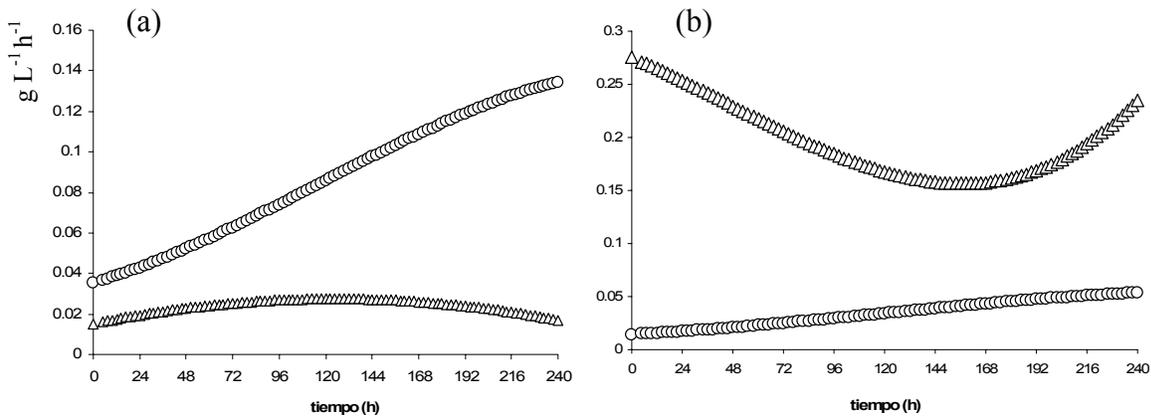


Figura 11.4. Tasas máximas cuando el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD} = 0.5 \tilde{k}_L a_{HXD}^{exp}$ , donde:  
a) (○) consumo y (Δ) transferencia de HXD, b) (○) consumo y (Δ) transferencia de oxígeno.

El coeficiente volumétrico aparente de transferencia de HXD,  $\tilde{k}_L a_{HXD}$ , de acuerdo a la forma en que fue definido, se ve afectado por dos factores: la producción de surfactantes y la agitación. Para que el valor de  $\tilde{k}_L a_{HXD}$  aumente, se requiere una mejor agitación o una mejor producción de surfactantes, en los biorreactores de columna burbujeada la agitación se puede mejorar si se aumenta  $U_G$  puesto que se generan burbujas más grandes al aumentar la velocidad superficial de la fase gas, sin embargo, con burbujas más grandes se tiene el riesgo de llegar a una limitación de oxígeno. Por otra parte, se puede adicionar surfactantes (sintéticos o biosurfactantes) de manera externa para promover rápidamente la emulsificación, acelerando el proceso de solubilización. Valores de

$\tilde{k}_L a_{HXD}$  por debajo de los obtenidos experimentalmente se podrían encontrar en distribuidores que generen burbujas pequeñas como el DVS o en sistemas con microorganismos que no son buenos productores de surfactantes.

## 11.2 Simulaciones variando $k_L a_{O_2}$

De acuerdo con la Figura 11.5, si el valor de  $k_L a_{O_2}$  es el doble del valor obtenido experimentalmente ( $k_L a_{O_2}^{exp}$ ), la formación de biomasa y el consumo de HXD no cambian de manera significativa con respecto a los resultados obtenidos de manera experimental, la única diferencia se presenta en la concentración de oxígeno disuelto ya al mejorar la tasa de transferencia, la concentración es mayor a  $5 \text{ mg L}^{-1}$  durante todo el ensayo, mientras que algunos valores experimentales están por debajo de  $4 \text{ mg L}^{-1}$ . Estos resultados indican que no es necesario mejorar el sistema de distribución de gas puesto que la transferencia de oxígeno no es la etapa limitante del proceso y los costos asociados a una mejora en el distribuidor de gas no se verían recompensados con una mejora en el proceso.

En la Figura 11.6 se presentan las tasas máximas de transferencia y de consumo cuando el valor de  $k_L a_{O_2}$  es el doble de  $k_L a_{O_2}^{exp}$ , se observa que la etapa limitante sigue siendo la transferencia de HXD y que la tasa de transferencia de oxígeno aumenta considerablemente con respecto a los valores obtenidos experimentalmente, mientras que las tasas de consumo y de transferencia de HXD no presentan cambios con respecto a los valores obtenidos experimentalmente.

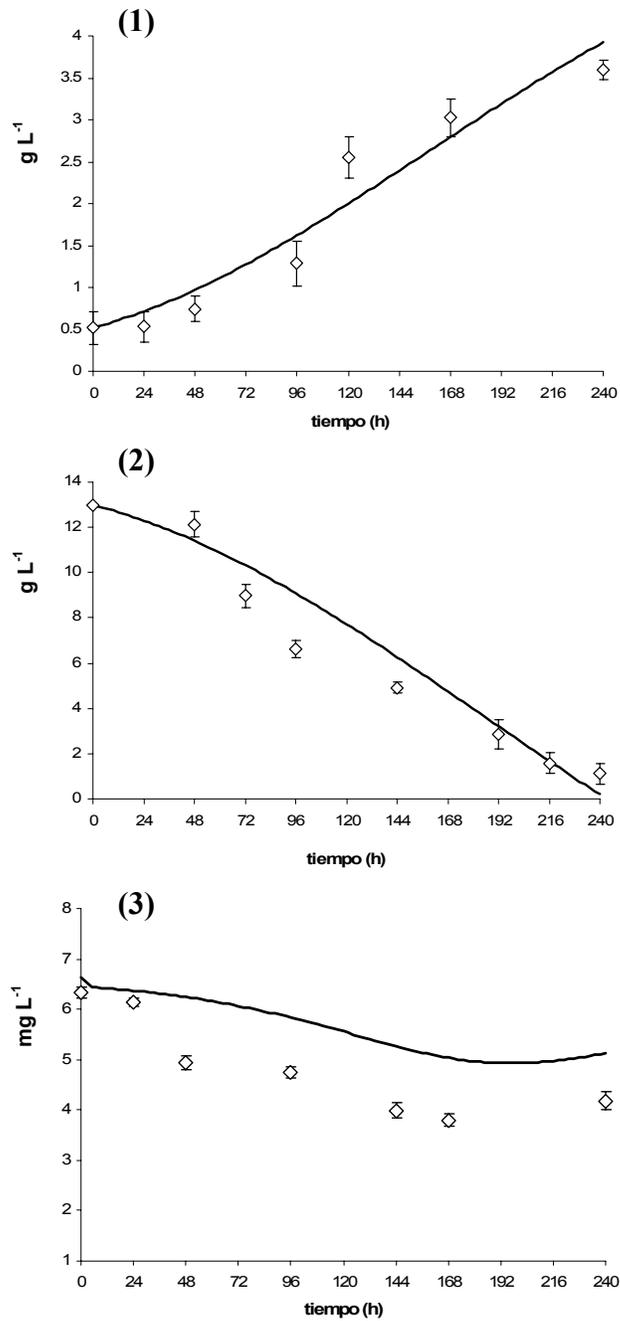


Figura 11.5. Predicciones del modelo cuando el valor de  $k_L a_{O_2} = 2 k_L a_{O_2}^{\text{exp}}$ .  
 (1) biomasa, (2) HXD total y (3) oxígeno, donde: (◇) datos experimentales, (—) simulación

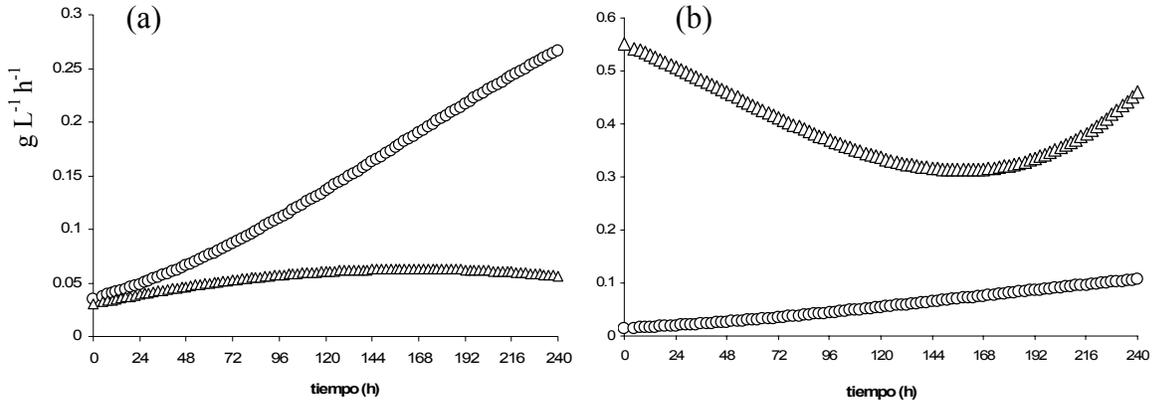


Figura 11.6. Tasas máximas cuando el valor de  $k_L a_{O_2} = 2 k_L a_{O_2}^{exp}$ , donde:  
a) (○) consumo y (Δ) transferencia de HXD, b) (○) consumo y (Δ) transferencia de oxígeno.

En la figura 11.7 se presentan los resultados que se obtendrían con un valor de  $k_L a_{O_2}$  semejante al utilizado por Medina-Moreno y colaboradores (2005), ya que al disminuir el valor de  $k_L a_{O_2}$  a la mitad de  $k_L a_{O_2}^{exp}$  se obtiene un valor cercano a  $17 h^{-1}$ , se observa que prácticamente no hay cambios en la producción de biomasa y consumo de HXD con respecto a los datos obtenidos experimentalmente. Dado que la disminución en el valor de  $k_L a_{O_2}$  fue importante, se esperaba una disminución significativa no sólo en la concentración de oxígeno disuelto, sino también en la producción de biomasa y en el consumo de HXD, sin embargo, no se observa una disminución importante. Como se esperaba, la concentración de oxígeno disuelto disminuyó drásticamente y a las 144 h se observa que la concentración en la fase acuosa es cero, por lo tanto, el análisis de velocidades máximas es necesario para determinar si la etapa limitante del proceso bajo estas condiciones es la transferencia de oxígeno.

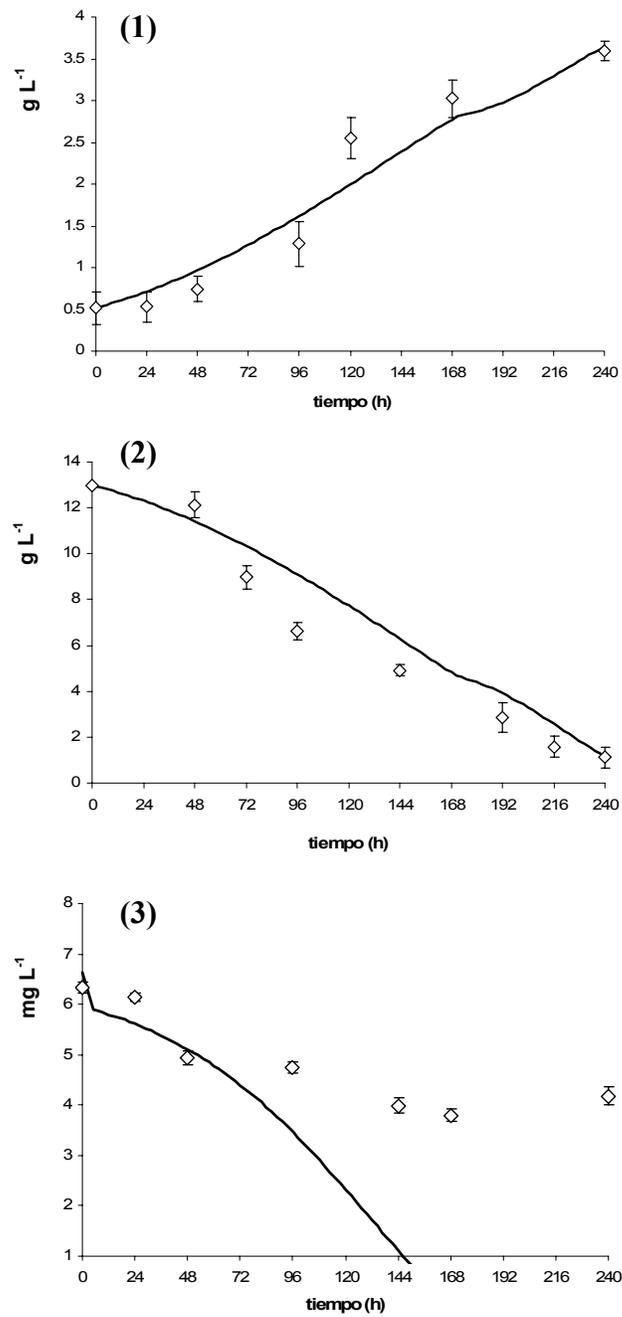


Figura 11.7. Predicciones del modelo cuando el valor de  $k_L a_{O_2} = 0.5 k_L a_{O_2}^{\text{exp}}$ .  
 (1) biomasa, (2) HXD total y (3) oxígeno, donde: ( $\diamond$ ) datos experimentales, (—) simulación

En la Figura 11.8 se presentan las tasas máximas de transferencia y consumo, donde se observa que la transferencia de HXD es la etapa limitante durante casi todo el ensayo pero hacia el final del experimento la tasa de transferencia de oxígeno desciende a valores muy similares a los de consumo, se observa que poco después de las 144 h ambas tasas son prácticamente iguales, lo cual implica que todo el oxígeno que se transfiere es consumido, por esta razón en la Figura 11.7 se observa que la concentración de oxígeno disuelto a partir de las 144 h es cero, no obstante, el análisis de velocidades máximas indica que la transferencia de oxígeno no llega a ser la etapa limitante.

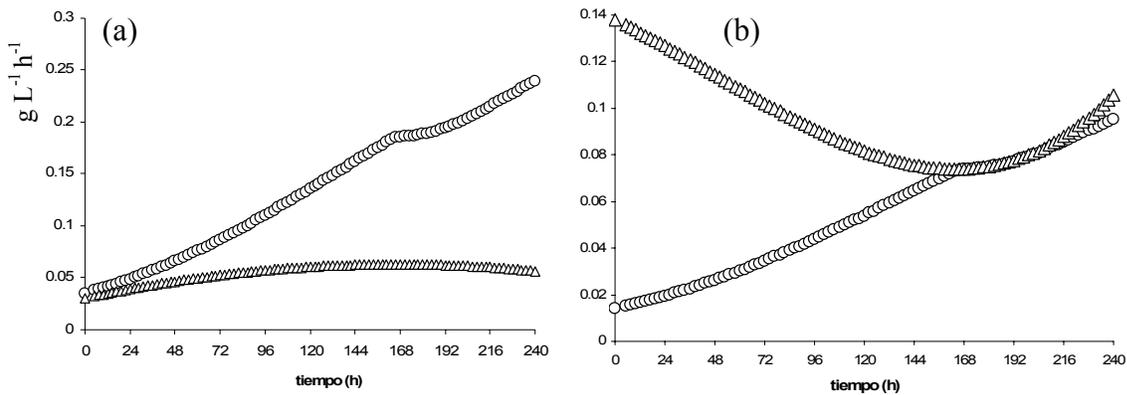


Figura 11.8. Tasas máximas cuando el valor de  $k_L a_{O_2} = 2 k_L a_{O_2}^{exp}$ , donde:  
a) (○) consumo y (Δ) transferencia de HXD, b) (○) consumo y (Δ) transferencia de oxígeno.

Estos resultados indican que es posible operar el biorreactor con una valor de  $k_L a_{O_2}$  incluso a la mitad del utilizado en los ensayos sin tener resultados muy diferentes, por lo tanto, una forma práctica de aumentar la transferencia de HXD, que es la etapa limitante, es incrementar el diámetro de las burbujas de la fase gas, de tal manera que la agitación en el reactor mejore pero cuidando que el valor de  $k_L a_{O_2}$  no disminuya a niveles limitantes. De esta forma puede obtenerse una mayor producción de biomasa y un rápido consumo de HXD, reduciendo el tiempo del proceso de biodegradación como se muestra en la Figura 11.1.

## 12. CONCLUSIONES

- La elección del distribuidor de gas es uno de los parámetros de diseño más importantes en los reactores de columna, y particularmente crítico si será utilizado en un proceso de biodegradación de hidrocarburos.
- Los microorganismos utilizados fueron eficientes degradadores de HXD y buenos productores de surfactantes, la tasa de degradación de HXD fue alta en comparación con las velocidades reportadas en la literatura.
- Se desarrolló un modelo matemático capaz de describir el proceso de biodegradación de HXD por un consorcio bacteriano, obteniéndose coeficientes de determinación mayores al 90%.
- Bajo las condiciones de trabajo, la etapa limitante en la biodegradación aerobia de HXD fue la transferencia del hidrocarburo de la fase orgánica a la fase acuosa. Si se desea mejorar la velocidad del proceso, es necesario incrementar el coeficiente volumétrico aparente de transferencia de HXD.
- De acuerdo con las simulaciones con el modelo, es posible tener valores de  $k_L a_{O_2}$  entre 16 y 20 h<sup>-1</sup> sin presentarse una disminución en la producción de biomasa o en el consumo de HXD, esta información puede ser tomada en cuenta para la determinación de intervalos de operación en el biorreactor.

### 13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bai G., Brusseau M.L, Miller R.M. 1997. Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil. *Journal of Contaminant Hydrology*. 25:157-170.
- Bailey J.E., Ollis D.F. 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2<sup>nd</sup> Edition. McGraw-Hill. USA.
- Beal R., and Betts W.B. 2000. Role of rhamnolipid biosurfactants in the uptake and mineralization of hexadecane in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*. 89:158-168.
- Beyenal H., Chen S.N., Lewandowsky Z. 2003. The double substrate growth kinetics of *Pseudomonas aeruginosa*. *Enzyme and Microbial Technology*. 32:92-98.
- Bodour A.A., Guerrero-Barajas C., Jiorle B.V., Malcomson M.E., Paul A.K., Somogyi A., Trinh L.N., Bates R.B., and Maier R.M. 2004. Structure and characterization of flavolipids, a novel class of biosurfactants produced by *Flavobacterium sp.* strain MTN11. *Applied and Environmental Microbiology*. 70(1): 114-120.
- Bouaifi M., Hebrard G., Bastoul D., and Michel Roustan. 2001. A comparative study of gas hold-up, bubble size, interfacial area and mass transfer coefficients in stirred gas-liquid reactors and bubble columns. *Chemical Engineering and Processing*. 40: 97-111.
- Bouchez-Naïtali M., Rakatozafi H., Marchal R., Leveau J.Y., and Vandecasteele J.P. 1999. Diversity of bacterial strains degrading hexadecane in relation to the mode of substrate uptake. *Journal of Applied Microbiology*. 86:421-428.
- Chaumat H., Billet-Duquenne A.M., Augier F., Mathieu C., Delmas H. 2005. Mass transfer in bubble column for industrial conditions – effects of organic medium, gas and liquid flow rates and column design. *Chemical Engineering Science*. 60:5930-5936.
- Choi K.H., Chisti Y., Moo-Young M. 1996. Comparative evaluation of hydrodynamic and gas-liquid mass transfer characteristics in bubble column and slurry reactors. *Chemical Engineering Journal*. 62:223-229.
- Cruickshank S.M., Daugulis A.J., McLellan P.J. 2000. Dynamic modeling and optimal fed-batch feeding strategies for a two-phase partitioning bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 67(2):224-233.
- Díaz-Ramírez I.J., Ramírez-Saad H., Gutiérrez-Rojas M., and Favela-Torres E. 2003. Biodegradation of Maya crude oil by bacterial strains and a defined mixed culture isolated from *Cyperus laxus* rhizosphere soil in a contaminated site. *Canadian Journal of Microbiology*. 49:755-761.
- Dumont E., and Delmas H. 2003. Mass transfer enhancement of gas absorption in oil-in-water systems: a review. *Chemical Engineering and Processing*. 42:419-438.

- Fujio Y., Sambuichi M., Ueda S. 1973. Numerical method of the determination of  $k_La$  and respiration rate in biological system. *Journal of Fermentation Technology*. 51:154-158.
- Fukuma M., Muroyama K., Yasunishi A. 1987. Properties of bubble swarm in a slurry bubble column. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. 20:28-33.
- Ghazali F.M., Abdul-Rahman R.N.Z., Salleh A.B., Basri M. 2004. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 54:61-67.
- Ho C.S., Ju L.K., Baddour R.F. 1990. Enhancing penicillin fermentations by increased oxygen solubility through the addition of n-hexadecane. *Biotechnology and Bioengineering*. 12:145-154.
- Inakollu S., Hung H., and Shreve G.S. 2004. Biosurfactant enhancement of microbial degradation of various structural classes of hydrocarbon in mixed waste systems. *Environmental Engineering Science*. 21(4).
- Ju L.K., Ho C.S. 1989. Oxygen diffusion coefficient and solubility in n-hexadecane. *Biotechnology and Bioengineering*. 34:1221-1224.
- Kantarci N., Borak F., Ulgen K.O. 2005. Bubble column reactors. *Process Biochemistry*. 40: 2263-2283.
- Kilonzo P.M., and Margaritis A., 2004. The effects of non-Newtonian fermentation broth viscosity and small bubble segregation on oxygen mass transfer in gas-lift bioreactors: a critical review. *Biochemical Engineering Journal*. 17:27-40.
- Kim I.S., Foght J.M., Gray M.R. 2002. Selective transport and accumulation of alkanes by *Rhodococcus erythropolis* S+14He. *Biotechnology and Bioengineering*. 80(6):650-659.
- Korda A., Santas P., Tenente A., Santas R. 1997. Petroleum hydrocarbon bioremediation: sampling and analytical techniques, *in situ* treatments and commercial microorganisms currently used. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 48:677-686.
- Krishna R., and van Baten J.M. 2003. Mass transfer in bubble columns. *Catalysis Today*. 78/79:67-75.
- Kundu A., Dumont E., Duquenne A.M., and Delmas H. 2003. Mass transfer characteristics in gas-liquid-liquid system. *Canadian Journal of Chemical Engineering*. 81:640-646.
- Maier U., Büchs J. 2001. Characterisation of the gas-liquid mass transfer in shaking bioreactors. *Biochemical Engineering Journal*. 7:99-106
- Medina-Moreno S.A., Huerta-Ochoa S., and Gutiérrez-Rojas M. 2005. Hydrocarbon biodegradation in oxygen-limited sequential batch reactors by consortium from weathered, oil-contaminated soil. *Canadian Journal of Microbiology*. 51:231-239.

Medina-Moreno S.A. 2006. Estudio y modelamiento matemático de la biodegradación de hidrocarburos en biorreactores heterogéneos. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana, México.

Mehrnia M.R., Towfighi J., Bonakdarpour B., Akbarnejad M.M. 2005. Gas hold-up and oxygen transfer in a draft-tube airlift bioreactor with petroleum-based liquids. *Biochemical Engineering Journal*. 22:105-110.

Merchuk J.C., Ben-Zvi S., Niranjana K. 1994. Why use bubble-column bioreactors?. *TIBTECH* 12:501-511.

<sup>a</sup>Nielsen D.R., Daugulis A.J., McLellan P.J. 2003. A novel method of simulating oxygen mass transfer in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*. 83(6):735-742.

<sup>b</sup>Nielsen J., Villadsen J., and Lidén G. 2003. *Bioreaction Engineering Principles*, 2<sup>nd</sup> Edition. Kluwer Academic Publishers. USA.

Noordman W.H., Wachter J.H.J., de Boer G.J., Janssen D.B. 2002. The enhancement by surfactants of hexadecane degradation by *Pseudomonas aeruginosa* varies with substrate availability. *Journal of Biotechnology*. 94:195-212

Oliveira S.N., Ni X.W. 2004. Effect of hydrodynamics on mass transfer in a gas-liquid oscillatory baffled column. *Chemical Engineering Journal*. 99:59-68.

Pepi M., Cesàro A., Liut G., Baldi F. 2005. An antarctic psychrotrophic bacterium *Halomonas sp.* ANT-3b, growing on n-hexadecane, produces a new emulsifying glycolipid. *FEMS Microbiology Ecology*. 53:157-166.

Pirt S.J. 1975. *Principles of Microbe and Cell Cultivation*. Blackwell Scientific Publications. UK

Prakash A., Margaritis A., Li H., Bergougnou M.A. 2001. Hydrodynamics and local heat transfer measurements in a bubble column with suspension of yeast. *Biochemical Engineering Journal*. 9:155-163.

Ratledge C. 1992. Biochemistry of aliphatic hydrocarbons assimilation and degradation. In *LATIN AMERICAN BIODETERIORATION SYMPOSIUM, Sao Paulo, pp. 236-250. Tec Art Editora. Brasil.*

Ribeiro C.P. and Lage P.L.C. 2004. Experimental study on bubble size distributions in a direct-contact evaporator. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 21:69:81.

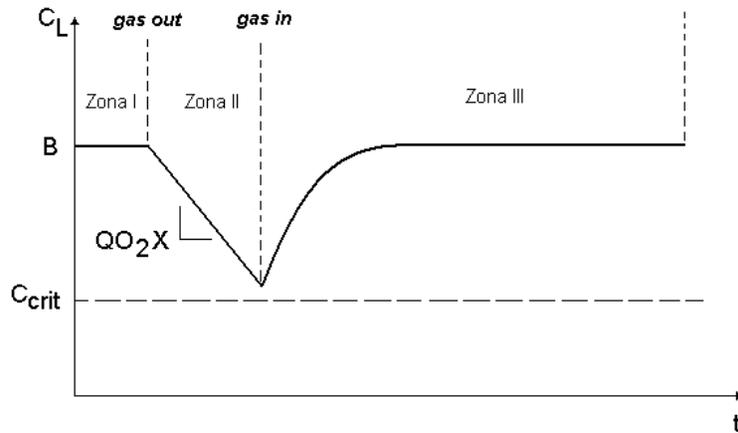
Ron E.Z., and Rosengberg E. 2002. Biosurfactants and oil bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*. 13:249-252.

Rowe G.E., Margaritis A., and Wei N. 2003. Specific oxygen uptake rate variations during batch fermentation of *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* HD-1. *Biotechnology Progress*. 19:1439-1443.

- Sada E., Kumazawa H., Lee C., and Iguchi T. 1986. Gas holdup and mass-transfer characteristics in a three-phase bubble column. *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 25(2):472-476.
- Salanitro J.P. 2001. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soil. *Advances in Agronomy.* 72:53-105.
- Saval S. 2000. Bioremediation: clean-up biotechnologies for soils and aquifers. *En ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY AND CLEANER BIOPROCESSES*. Editores: Olguin E.J., Sanchez G., y Hernandez E. Taylor & Francis. USA
- Sekelsky A.M., Shreve G.S. 1999. Kinetic model of biosurfactant-enhanced hexadecane biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnology and Bioengineering.* 63(4):401-409.
- Seker S., Beyenal H., Salih B., Tanyolac A. 1997. Multi-substrate growth kinetics of *Pseudomonas putida* for phenol removal. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 47:610-614.
- Shah Y.T., Kelkar B.G., and Godbole S.P. 1982. Design parameters estimations for bubble column reactors. *AIChE Journal.* 28(3):353-378.
- Sikkema J., De Bont J.A.M., and Poolman B. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews.* 59(2):201-222.
- Skladany G. J., and Metting F.B. 1993. Bioremediation of contaminated soil. In: *Soil Microbial Ecology, applications in agricultural and environmental management*. Edited by: Metting F.B. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Stelmack P.L., Gray M.R., and Pickard M.A. 1999. Bacterial adhesion to soil in the presence of surfactants. *Applied and Environmental Microbiology.* 65:163-168.
- Van Hamme J.D., Singh A., and Ward O.P. 2003. Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 67(4):503-549.
- Vandu C.O., Koop K., Krishna R. 2004. Volumetric mass transfer coefficient in a slurry bubble column operating in the heterogeneous flow regime. *Chemical Engineering Science.* 59:5417-5423.
- Vlaev S.D., and Fialova M. 2003. Bubble column bioreactors: comparison with stirred fermenters based on local gas hold-up distribution. *Canadian Journal of Chemical Engineering.* 81:535-542.

## 14. ANEXOS

### I. Determinación de $k_L a_{O_2}$ y $QO_2$ por el método de Fujio y colaboradores.



Esquema 15.1. Evolución típica de la concentración de oxígeno en el método dinámico para la determinación de  $k_L a_{O_2}$  y  $QO_2$ .

#### Nomenclatura:

- $k_L a_{O_2}$  = coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno
- $C_L$  = concentración de oxígeno disuelto al tiempo  $t$
- $C^*$  = concentración de saturación de oxígeno en la fase acuosa
- $C_{crit}$  = concentración crítica de oxígeno
- $QO_2$  = velocidad específica de consumo de oxígeno
- $X$  = concentración de biomasa al tiempo  $t$
- $B$  = concentración de oxígeno disuelto al inicio del experimento

Ecuación de balance:

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a_{O_2} (C^* - C_L) - QO_2 X \quad (15.1)$$

Para determinar tanto el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno  $k_L a_{O_2}$ , como la velocidad específica de consumo de oxígeno  $QO_2$ , se debe suponer que durante el experimento la concentración de biomasa permanece constante, suposición bastante aceptable ya que el experimento es relativamente rápido.

Realizando un cambio de variable:

$$y = C^* - C_L \quad \text{derivando con respecto al tiempo}$$

$$\frac{dy}{dt} = -\frac{dC_L}{dt} \quad \text{por lo tanto:}$$

$$\frac{dC_L}{dt} = -\frac{dy}{dt}$$

Definiendo los términos “A” y “K”:

$$A = QO_2X$$

$$K = k_L a_{O_2}$$

Rescribiendo la ecuación 15.1

$$-\frac{dy}{dt} = Ky - A$$

$$\frac{dy}{dt} = -(Ky - A)$$

Resolviendo por variables separables:

$$\int_{y=C^*}^y \frac{dy}{Ky - A} = -\int_{t=0}^t dt$$

Límites de integración

$$t = 0 \qquad t = t$$
$$y = (C^* - 0) = C^* \qquad y = y$$

Resolviendo la integral del lado izquierdo con un nuevo cambio de variable:

$$\int_{y=C^*}^y \frac{dy}{Ky - A}$$

$$\text{Si: } u = Ky - A$$

$$du = K dy$$

$$dy = \frac{1}{K} du$$

Por lo tanto:  $\frac{1}{K} \int \frac{du}{u} = \frac{1}{K} \ln u$

Regresando a la variable original:

$$\int_{y=C^*}^y \frac{dy}{Ky - A} = \frac{1}{K} \ln(Ky - A) \Big|_{y=C^*}^y = \frac{1}{K} \ln\left(\frac{Ky - A}{KC^* - A}\right)$$

Por lo tanto la solución de ambas integrales es:

$$\ln\left(\frac{Ky - A}{KC^* - A}\right) = -K \times t \quad (15.2)$$

Regresando a las variables originales y sustituyendo en la ecuación 15.2

$$\ln\left(\frac{k_L a_{O_2}(C^* - C_L) - QO_2 X}{k_L a_{O_2} C^* - QO_2 X}\right) = -k_L a_{O_2} \times t$$

Dividiendo entre  $k_L a_{O_2}$  en el numerador y denominador del argumento del logaritmo:

$$\ln\left(\frac{\left(C^* - C_L\right) - \frac{QO_2 X}{k_L a_{O_2}}}{C^* - \frac{QO_2 X}{k_L a_{O_2}}}\right) = -k_L a_{O_2} \times t \quad (15.3)$$

Sabemos que en la *zona I* del Esquema 15.1:

$$\frac{dC_L}{dt} = 0 \quad \text{por lo tanto:}$$

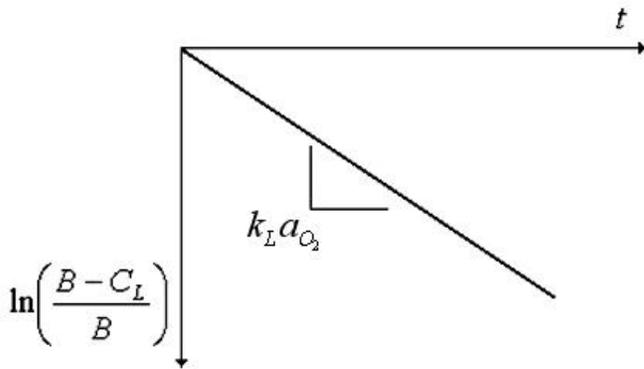
$$k_L a_{O_2}(C^* - C_L) = QO_2 X \quad \text{despejando } C_L \text{ se tiene que:}$$

$$C_L = C^* - \frac{QO_2 X}{k_L a_{O_2}} \quad (15.4)$$

$C_L$  en la ecuación 15.4 es por definición el término  $B$  que aparece en el Esquema 15.1, el cual representa la concentración de oxígeno disuelto que tenemos al inicio del experimento, es decir, la concentración en la *zona I*. Sustituyendo la ecuación 15.4 en la ecuación 15.3 tenemos que:

$$\ln\left(\frac{B-C_L}{B}\right) = -k_L a_{O_2} \times t \quad (15.5)$$

A partir de la ecuación 15.5 se puede determinar  $k_L a_{O_2}$  y posteriormente  $QO_2$  de la ecuación 15.4. Por lo tanto, graficando de la siguiente manera se puede conocer  $k_L a_{O_2}$ :



## II. Determinación de $\tilde{k}_L a_{HXD}$

Debido a la inactivación de los microorganismos con cloranfenicol no hubo consumo de HXD, por lo tanto, la ecuación de balance para la concentración de HXD en la fase acuosa se puede escribir de la siguiente manera:

$$\frac{dC_{HXD_L}}{dt} = \tilde{k}_L a_{HXD} (C_{HXD}^* - C_{HXD_L}) \quad (15.6)$$

Resolviendo la ecuación 15.6 por variables separables, se tiene que:

$$\int_0^{C_{HXD_L}} \frac{dC_{HXD_L}}{(C_{HXD}^* - C_{HXD_L})} = \tilde{k}_L a_{HXD} \int_0^t dt \quad (15.7)$$

Realizando un cambio de variable:

$$u = C_{HXD}^* - C_{HXD_L}$$
$$du = -dC_{HXD_L}$$

Sustituyendo el cambio de variable en la ecuación 15.7 y resolviendo las integrales:

$$\ln u \Big|_0^{C_{HXD_L}} = -\tilde{k}_L a_{HXD} \times t$$

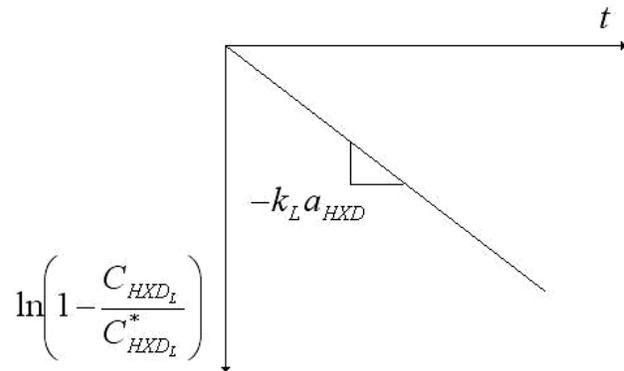
Regresando a la variable original:

$$\ln(C_{HXD}^* - C_{HXD_L}) - \ln(C_{HXD_L}^* - 0) = -\tilde{k}_L a_{HXD} \times t \quad (15.8)$$

Simplificando la ecuación 15.8 se tiene que:

$$\ln\left(1 - \frac{C_{HXD_L}}{C_{HXD}^*}\right) = -\tilde{k}_L a_{HXD} \times t \quad (15.9)$$

A partir de la ecuación 15.9 se puede determinar  $\tilde{k}_L a_{HXD}$ , graficando de la siguiente manera:



### III. Conversión de la agitación en un reactor de columna a un sistema agitado mecánicamente

Para aproximar las condiciones de agitación del reactor de columna en un sistema con agitación mecánica, se igualaron los valores del número de *Reynolds* definidos para cada sistema:

*Re* para una columna burbujeada:

$$\text{Re}_C = \frac{U_G D_C \rho_L}{\mu_L} \quad (15.10)$$

*Re* para un sistema agitado mecánicamente:

$$\text{Re}_{imp} = \frac{N d_i^2 \rho_L}{\mu_L} \quad (15.11)$$

Igualando las ecuaciones 15.10 y 15.11 de ambos sistemas:

$$\frac{\text{Re}_C}{\text{Re}_{imp}} = \frac{\frac{U_G D_C \rho_L}{\mu_L}}{\frac{N d_i^2 \rho_L}{\mu_L}} = 1$$

Simplificando:

$$\frac{U_G D_C}{N d_i^2} = 1$$

Despejando *N*:

$$N = \frac{U_G D_C}{d_i^2} \quad (15.12)$$

Con la ecuación 15.12 se puede obtener a la velocidad rotacional del impulsor necesaria para tener una agitación similar a la que se tiene en la columna burbujeada.

#### IV. Solución del modelo matemático por el método RKF (45)

Para la solución del sistema de ecuaciones diferenciales que componen el modelo matemático se utilizó el software de análisis numérico POLYMATH 5.0 (1996, Control Data Corporation), utilizando el método numérico de Runge-Kutta-Fehlberg (45). Este método de paso adaptativo garantiza la exactitud de la solución de un problema de valor inicial al resolver el problema dos veces con tamaños de paso  $h$  y  $h/2$ , en cada paso se calculan dos aproximaciones distintas y se comparan, si los dos resultados son lo suficientemente parecidos se acepta la aproximación y se aumenta el tamaño de paso si coinciden en más cifras significativas de las programadas. Por el contrario, si los valores no coinciden con la precisión especificada, el tamaño de paso es reducido. El método RKF (45) utiliza el método de Runge-Kutta de cuarto y quinto orden para aproximar la solución de las ecuaciones. A continuación se presenta el algoritmo del método.

En cada paso se calculan los siguientes seis valores de la función:

$$k_1 = hf(t_k, y_k),$$

$$k_2 = hf\left(t_k + \frac{1}{4}h, y_k + \frac{1}{4}k_1\right),$$

$$k_3 = hf\left(t_k + \frac{3}{8}h, y_k + \frac{3}{32}k_1 + \frac{9}{32}k_2\right),$$

$$k_4 = hf\left(t_k + \frac{12}{13}h, y_k + \frac{1932}{2197}k_1 - \frac{7200}{2197}k_2 + \frac{7296}{2197}k_3\right),$$

$$k_5 = hf\left(t_k + h, y_k + \frac{439}{216}k_1 - 8k_2 + \frac{3680}{513}k_3 - \frac{845}{4104}k_4\right),$$

$$k_6 = hf\left(t_k + \frac{1}{2}h, y_k - \frac{8}{27}k_1 + 2k_2 - \frac{3544}{2565}k_3 + \frac{1859}{4104}k_4 - \frac{11}{40}k_5\right)$$

Se aproxima la solución con el método RK 4:

$$y_{k+1} = y_k + \frac{25}{216}k_1 + \frac{1408}{2565}k_3 + \frac{2197}{4101}k_4 - \frac{1}{5}k_5$$

Posteriormente se aproxima la solución con el método RK 5:

$$z_{k+1} = z_k + \frac{16}{135}k_1 + \frac{6656}{12825}k_3 + \frac{28561}{56430}k_4 - \frac{9}{50}k_5 + \frac{2}{55}k_6$$

El tamaño de paso óptimo  $h$  se determinó multiplicando el tamaño de paso actual por el escalar  $s$  dado por:

$$s = 0.84 \left( \frac{\tau h}{|z_{k+1} - y_{k+1}|} \right)^{1/4}$$

Se utilizó una tolerancia de  $\tau=1 \times 10^{-6}$ .

A continuación se presentan los datos de entrada en POLYMATH:

- [1]  $d(X)/d(t) = \text{Mu} \cdot X$   
*gL-1h-1*
- [2]  $d(\text{HXD})/d(t) = \text{kLaHXD} \cdot (\text{HXDsatsat} - \text{HXD}) - \text{rmo}$   
*gL-1h-1*
- [3]  $d(\text{O}_2)/d(t) = \text{kLaO}_2 \cdot (\text{O}_2\text{sat} - \text{O}_2) - \text{QO}_2 \cdot X$   
*gL-1*
- [4]  $d(\text{HXDtot})/d(t) = -\text{rmo}$   
*gL-1*
- [5]  $\text{Mu} = \text{Mmax} \cdot (\text{HXD}/(\text{HXD} + \text{ks})) \cdot (\text{O}_2/(\text{O}_2 + \text{kg}))$   
*h-1*
- [6]  $\text{rmo} = (1/\text{Yxs}) \cdot (\text{Mu} \cdot X) + \text{m} \cdot X$   
*gL-1h-1*
- [7]  $\text{kLaHXD} = -0.00003 \cdot t^2 + 0.00998 \cdot t + 0.77380$   
*h-1*
- [8]  $\text{kLaO}_2 = 0.00000415 \cdot t^3 - 0.00057406 \cdot t^2 - 0.12680552 \cdot t + 41.62450029$   
*h-1*
- [9]  $\text{HXDsatsat} = 0.03932$   
*gL-1*
- [10]  $\text{O}_2\text{sat} = 0.00662$   
*gL-1*
- [11]  $\text{Mmax} = 0.02069$   
*h-1*
- [12]  $\text{ks} = 0.00403$   
*gL-1*
- [13]  $\text{kg} = 0.0001694$   
*gL-1*
- [14]  $\text{Yxs} = 0.3177$   
*gg-1*
- [15]  $\text{m} = 0.0028$   
*gg-1h-1*
- [16]  $\text{QO}_2 = 0.027$   
*gg-1h-1*

Iztapalapa, D.F. a 19 de julio de 2006

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

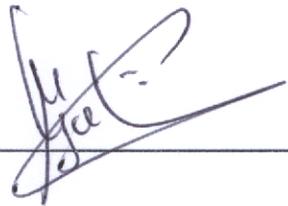
**EVALUACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE TRANSFERENCIA DE MASA Y CINÉTICOS EN UN BIORREACTOR DE TRES FASES PARA LA DEGRADACIÓN DE HEXADECANO**

Que presentó

**I.B.I. Guillermo Quijano Govantes**

Director:

**Dr. Mariano Gutiérrez Rojas**



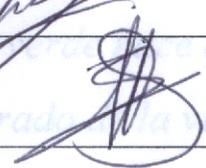
---

Jurado:

**Dr. Sergio Revah Moiseev (Presidente)**



---



---

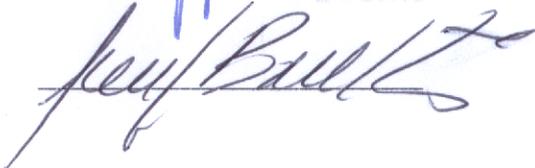
**Dr. Sergio Huerta Ochoa (Secretario)**

**Dr. Felipe López Isunza (Vocal)**



---

**Dra. Josefina Barrera Cortés (Vocal)**



---