



**Universidad Autónoma Metropolitana-*Iztapalapa***  
**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**

**Departamento de Biotecnología**

**Estudio de transporte de momento y masa en un biorreactor de  
partición de tres fases (agua-aire-líquido iónico), utilizando dinámica de  
fluidos computacionales (CFD), para escalamiento descendente**

**Tesis**

**Para Obtener el grado de  
Maestría en Biotecnología**

**Presenta**

I.B.I Miguel Ángel Arellano González

**Director**

Dr. Sergio Huerta Ochoa

**Asesores**

Dr. Carlos Omar Castillo Araiza

Dra. Margarita Mercedes González Brambila

17 de enero de 2012

**“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, con la referencia 001465”**

**Este trabajo forma parte del proyecto “Estrategias de escalamiento descendente (scale down) para biorreactores de partición” financiado por el CONACYT con número de registro SEP-CONACyT-2007-800847.**

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

**Estudio de transporte de momento y masa en un biorreactor de partición de tres fases (agua-aire-líquido iónico) utilizando dinámica de fluidos computacionales (CFD), para escalamiento descendente.**

Que presentó: I.B.I. Miguel Ángel Arellano González

Director: Dr. Sergio Huerta Ochoa

Asesor: Dr. Carlos Omar Castillo Araiza

Asesor: Dra. Margarita Mercedes González Brambila

Jurado de Tesis:

Presidente Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Secretaria Dra. Margarita M. González Brambila

Vocal Dr. Carlos Omar Castillo Araiza

Vocal Dr. Daniel Torres Martínez

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer al Dr. Sergio Huerta Ochoa en relación a mi trabajo de Maestría, por sus comentarios oportunos y apoyo en la realización de este trabajo. Así mismo, a la Dra. Margarita M. González Brambila y al Dr. Carlos Omar Castillo Araiza, por brindarme todo el apoyo en el trabajo experimental y sus acertados comentarios en cada paso que sedio para la realización y culminación de mis estudios. Al Dr Mariano Gutierrez y Dr. Daniel Martinez por lo comentarios, sugerencias y correacciones para de esta tesis. A CONACYT por la beca otorgada para la realización de estos estudios.

Agradezco también a los compañeros de la planta piloto 4, por el apoyo y amistad que he recibido durante la duración de mis estudios (Ricardo, Rodrigo, Daniel, Blanca, Gladys, Oswaldo, Ruth, Gregordo).

A la pandilla, que siempre me apoyaron para seguir con los estudios de posgrado y que han estado conmigo en las buenas y en las malas (Luis, César, Cabello, Víctor, Julio, Abraham y Matías).

Doy gracias a mis padres, que a pesar de todo siempre me han apoyado en todas las decisiones que he tomado tanto buenas como malas y siguen conmigo. Especialmente a mi mamá, que siempre me cuida y se preocupa para que siga adelante y sea un hombre de bien.

## Índice

i. Índice tablas	Ix
ii. Índice de figuras	x
iii. Resumen	Xii
<b>CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES</b>	<b>1</b>
1.1 Reacción de bioconversión	2
1.2 Reactores de partición de tres fases	3
1.2.1 Dispersión líquido-líquido	4
1.3 Fase orgánica: líquido iónico	6
1.4 Mini-biorreactores	7
1.5 Escalamiento	9
1.6 Dinámica de fluidos computacionales (CFD)	11
<b>CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>15</b>
2 Planteamiento del problema	16
2.1 Objetivo general	16
2.2 Objetivos particulares	16
<b>CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>18</b>
3 Materiales y Métodos	19
3.1 Métodos experimentales	19
3.1.1 Coeficientes globales de transferencia de oxígeno ( $k_La$ )	20
3.1.2 Distribución y tamaño de gota de la fase dispersa líquido iónico ( $d_{32}$ )	20
3.1.3 Coeficientes globales de transferencia de sustrato y producto ( $k_s a$ y $k_p a$ )	21

<b>3.2 Simulaciones numéricas</b>	<b>21</b>
<b>3.2.1 Transporte de momento en la fase acuosa (agua)</b>	<b>23</b>
<b>3.2.2 Transporte de momento de las fases acuosa-gaseosa: agua-aire</b>	<b>25</b>
<b>3.2.3 Transporte de momento de las fases acuosa-orgánica: agua-líquido iónico</b>	<b>26</b>
<b>3.2.4 Estudio de transferencia de masa</b>	<b>28</b>
<b>3.2.4.1 Transferencia de masa de oxígeno en un sistema de dos fases acuosa-gaseosa</b>	<b>28</b>
<b>3.2.4.2 Transferencia de masa de sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)).</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Escalamiento descendente</b>	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>35</b>
<b>4 Resultados y discusión</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Fase acuosa</b>	<b>37</b>
<b>4.1.1 Transporte de momento</b>	<b>37</b>
<b>4.2 Fases acuosa-gaseosa</b>	<b>41</b>
<b>4.2.1 Transporte de momento</b>	<b>41</b>
<b>4.2.2 Transporte de masa de oxígeno</b>	<b>41</b>
<b>4.3 Dos fases líquidas inmiscibles: fase acuosa y orgánica</b>	<b>43</b>
<b>4.3.1 Dispersión de líquido iónico</b>	<b>43</b>
<b>4.3.2 Transporte de masa de sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona))</b>	<b>44</b>
<b>4.4 Escalamiento descendente</b>	<b>47</b>
<b>4.5 Fase acuosa</b>	<b>47</b>
<b>4.5.1 Transporte de momento</b>	<b>47</b>

<b>4.6 Fases acuosa-gaseosa</b>	<b>48</b>
<b>4.6.1 Transporte de momento</b>	<b>48</b>
<b>4.6.2 Transferencia de masa de oxígeno</b>	<b>49</b>
<b>4.7 Dos fases líquidas inmiscibles: fases acuosa y orgánica</b>	<b>54</b>
<b>4.7.1 Dispersión de líquido iónico: tamaño de gota (<math>d_{32}</math>) de la fase orgánica</b>	<b>54</b>
<b>4.7.2 Transporte de masa de sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)))</b>	<b>54</b>
<b>4.7.3 Coeficientes globales de transferencia de sustrato y producto (<math>k_{sa}</math> y <math>k_{pa}</math>)</b>	<b>57</b>
<b>5. Conclusiones</b>	<b>61</b>
<b>6. Bibliografía</b>	<b>63</b>

---

**ÍNDICE DE TABLAS**

<i>Tabla 1. Tiempos característicos (Acevedo et al., 2004).</i>	10
<i>Tabla 2. Propiedades físicas de los fluídos, sustrato y producto (Torres-Martinez et al., 2009)</i>	19
<i>Tabla 3. Coeficientes globales de transferencia de sustrato y producto obtenido mediante la celda modificada de Lewis (Melgarejo, 2010)</i>	21
<i>Tabla 4. Comparación <math>k_{La}</math> y tiempos característicos obtenidos con simulaciones en COMSOL y experimentalmente en el biorreactor de 100 mL y de 1 L.</i>	53
<i>Tabla 5. Comparación <math>k_s a</math> y tiempos característicos obtenidos con simulaciones en COMSOL y experimentalmente en el biorreactor de 100 mL y de 1 L.</i>	61
<i>Tabla 6. Comparación <math>k_p a</math> y tiempos característicos obtenidos con simulaciones en COMSOL y experimentalmente en el biorreactor de 100 mL y de 1 L.</i>	61



## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Reacción catalizada por la enzima ciclohexanona monooxigenasa dependiente del NADPH y oxígeno (Doig et al., 2002).</i>	3
<i>Figura 2. Componentes de un mini-biorreactor, (Lamping et al., 2003).</i>	8
<i>Figura 3. Estrategias para escalamiento descendente (Melgarejo, 2010).</i>	11
<i>Figura 4. Número de artículos por año con uso de CFD en todas las áreas de la ingeniería. (Heniche y Tanguy, 2008).</i>	12
<i>Figura 5. Perfiles de velocidad del gas, fracción de volumen del gas y el <math>k_L a</math> obtenidas por un CFD (CFX 4.1, AEA Technology, UK) (Lamping et al., 2003).</i>	14
<i>Figura 6. Biorreactores, a) biorreactor de 1 L, b) biorreactor de 100 mL.</i>	20
<i>Figura 7. Metodología para realizar las simulaciones en COMSOL.</i>	22
<i>Figura 8. Sistema experimental, a) biorreactor de 1 L, b) dibujo en COMSOL, c) malleo generado en COMSOL.</i>	37
<i>Figura 9. Simulaciones de hidrodinámica, a) y b) campos de velocidad y curvas de nivel del líquido obtenidas mediante la ecuación de Navier Stokes, c) y d) campos de velocidad y curvas de nivel del líquido obtenidas mediante la ecuación de turbulencia <math>k-\epsilon</math>.</i>	39
<i>Figura 10. Curva de tiempo de residencia para determinar el tiempo de mezclado.</i>	40
<i>Figura 11. Simulaciones de hidrodinámica de dos fases agua-aire, a) fracción de gas, b) fracción de líquido.</i>	41
<i>Figura 12. Perfil de concentración de oxígeno como función del tiempo predicho con COMSOL en el biorreactor de 1 L a 1 VVM y 1000 rpm</i>	42
<i>Figura 13. Perfil de concentración de oxígeno considerando los modelos de turbulencia <math>k-\epsilon</math>, flujo burbujeante y la correlación de Tajhavi.</i>	43
<i>Figura 14. Dispersión del líquido iónico dentro del biorreactor de 1L.</i>	44
<i>Figura 15. Mezclado de fase dispersa a diferentes porcentajes de líquido iónico a 1000 rpm.</i>	45

- Figura 16. Perfil de concentración de a) sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y b) producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)) a 1000 rpm y 20% líquido iónico. 46
- Figura 17. Sistema experimental de 100 mL, a) biorreactor de 100 mL, b) dibujo en COMSOL) malleo generado en COMSOL (1136 elementos). 47
- Figura 18. Comparación de campos y vectores de velocidad del a) biorreactor de 100 mL y b) biorreactor de 1 L utilizando el modelo de turbulencia k-ε. 49
- Figura 19. Hidrodinámica de dos fases agua-aire a) fracción de gas, b) fracción de líquido en el biorreactor de 100 mL a 1230 rpm y 2.9 VVM. 50
- Figura 20. Distribución del oxígeno dentro del biorreactor de 100 mL a 1230 rpm y 2.9 VVM. 51
- Figura 21. Perfil de concentración de oxígeno a 1230 rpm y 2.9 VVM. 51
- Figura 22. Coeficientes globales de transferencia de oxígeno en el biorreactor de 100 mL. 52
- Figura 23. Comparación de los perfiles de concentración de oxígeno obtenidos por las simulaciones en COMSOL (línea continua) y por datos experimentación en el biorreactor de 100 mL (■) a diferentes condiciones de operación: a) 495 rpm y 1.7 VVM, y b) 1230 rpm y 2.9 VVM. 54
- Figura 24. Diámetro de gota ( $d_{32}$ ) a diferentes condiciones de operación, a) 5 % de líquido iónico, b) 20 % de líquido iónico. 56
- Figura 25. Perfil de concentración de a) sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)) a 1230 rpm y 20% de líquido iónico obtenidas en simulaciones en COMSOL. 57
- Figura 26. Coeficientes globales de transferencia de sustrato ( $k_{sa}$ ) a diferentes condiciones de operación, a) 5% de líquido iónico, b) 20 % de líquido iónico. 59
- Figura 27. Coeficientes globales de transferencia de sustrato ( $k_{pa}$ ) a diferentes condiciones de operación, a) 5% de líquido iónico, b) 20 % de líquido iónico. 60

## RESUMEN

En este trabajo se realiza el estudio de transferencia de momento y masa en ausencia de reacción en un biorreactor de partición de tres fases con el objetivo de utilizar esta información para realizar un escalamiento descendente basado en criterios de similitud geométrica y el método  $\pi$  de Buckingham. Primero, se estudia el biorreactor de 1L, se describe el comportamiento hidrodinámico y de transferencia de masa mediante el uso de dinámica de fluidos computacionales (CFD) para la generación de valores para los coeficientes globales de transferencia de oxígeno, los cuales van de 19 a 210  $\text{h}^{-1}$ , y los coeficientes globales de transferencia de sustrato y producto que están entre 207-2174 y 4-411  $\text{h}^{-1}$ , respectivamente. Estos coeficientes se encontraron en el mismo orden de magnitud que los reportados en estudios experimentales para el mismo sistema de biorreacción. Posteriormente se realiza un escalamiento descendente del biorreactor de 1 L a un biorreactor de 100 mL.

El sistema de 100 mL fue construido utilizando criterios de similitud geométrica, y fue operado con condiciones de operación obtenidas por un criterio basado en similitud hidrodinámica utilizando una relación consumo de potencia con aire por unidad de volumen (P/V) constante, que utilizó el número de potencia  $N_p$  y el número de aeración  $N_a$ . Estos criterios de similitud hidrodinámica y P/V constante para el escalamiento se corroboraron realizando simulaciones de CFD utilizando COMSOL Multiphysics 3.4a. El primer paso fue observar si ambos biorreactores (1L y 100 mL) manejaban velocidades locales similares, para así realizar un estudio de transferencia de masa de oxígeno de la fase gaseosa a la acuosa mediante la obtención del coeficiente de transferencia de oxígeno ( $k_L a$ ). Las simulaciones hidrodinámicas y de transferencia de masa fueron similares en ambos biorreactores. Así también, los valores obtenidos de  $k_L a$  mediante CFD para los dos biorreactores se compararon con los obtenidos mediante experimentos por el método dinámico. Los valores de  $k_L a$  fueron similares con las dos aproximaciones, lo cual sugiere que el escalamiento descendente



mediante los criterios establecidos puede ser utilizado con confianza bajo condiciones de reacción en un estudio futuro.



# **CAPÍTULO 1**

## **ANTECEDENTES**

## 1.1 Reacción de bioconversión (Biocatálisis)

La biocatálisis se utiliza cada vez más en la industria, tanto para la reducción de contaminantes en el medio ambiente como para ayudar en las rutas de síntesis de moléculas complejas. Los procesos con biocatálisis ofrecen soluciones alternativas a la química verde para reducir la contaminación del medio ambiente causada por diversos procesos químicos: por ejemplo, ayuda a la reducción en el uso de solventes orgánicos a través de los bioprocesos en sistemas acuosos, o disminuyendo el uso de los catalizadores metálicos mediante biocatalizadores (Pollard y Woodley, 2006).

Un interés particular en el uso de la biocatálisis es crear nuevas rutas para producir compuestos químicos con alto valor agregado, como en el sector farmacéutico donde la biocatálisis se utiliza para la producción de moléculas quirales ópticamente puras creando uno o más centros quirales (Pollard y Woodley, 2006). No obstante en un proceso biocatalítico el estudio y entendimiento de los biocatalizadores como células o enzimas purificadas, es esencial en su diseño y optimización, (Pollard y Woodley, 2006).

Debido a la creciente demanda para la producción de moléculas quirales ópticamente puras hay un gran interés en la biocatálisis como una herramienta complementaria a la síntesis orgánica convencional (Doig et al., 2002). En los últimos años se ha venido estudiando las biotransformaciones redox debido a la regio y estereo especificidad que a menudo se puede lograr, en la biocatálisis de tipo redox, las enzimas Baeyer-Villiger monooxigenasas son actualmente el foco de atención, caracterizándose por ser dependientes de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) y oxígeno siendo así capaces de catalizar la oxigenación de tipo nucleofílico característica de Baeyer-Villiger y de una amplia gama de cetonas cíclicas (Doig et al., 2002), ver Figura 1.

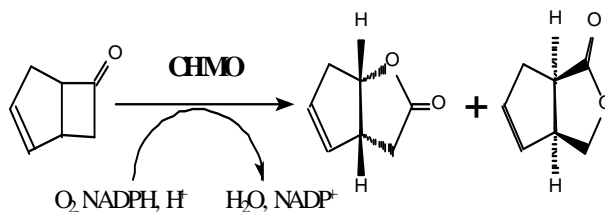


Figura 1. Reacción catalizada por la enzima ciclohexanona monooxigenasa dependiente del NADPH y oxígeno (Doig et al., 2002).

## 1.2 Reactores de partición de tres fases

La biocatálisis ofrece ventajas sobre la síntesis orgánica desde la perspectiva de la química orgánica e ingeniería. Por ejemplo, con la biocatálisis las propiedades finales del metabolito deseado como su estereoespecificidad, regioespecificidad son deseables y mejores, y además este proceso se lleva a cabo bajo condiciones de operación moderadas, e.g. temperatura ambiente (Lilly et al., 1990). No obstante, los biorreactores convencionales que se caracterizan por presentar tres fases, líquido, gas y células, tienen la desventaja de que los sustratos y/o productos pueden ser tóxicos para las células, provocando su inhibición o hasta su muerte.

Para contrarrestar la inhibición de las células en los biorreactores convencionales se ha seguido las siguientes estrategias (Pollard y Woodley, 2006): en una de ellas se remueve el producto de reacción *in situ* ya que para muchas de la reacciones con biocatalizadores, la concentración alta de producto es limitante teniendo efectos inhibidores o tóxicos. La otra fase sirve como reservorio del sustrato, el cual se suministra hacia las células, para controlar su efecto inhibitorio o tóxico. Actualmente, el suministro controlado de sustrato y la remoción de producto *in situ* se lleva a cabo utilizando una fase auxiliar, la cual puede ser una resina sólida o una fase no acuosa, durante la biorreacción (Pollard y Woodley, 2006).

A los biorreactores convencionales de tres fases que además utilizan esta fase auxiliar u orgánica se les considera biorreactores de partición de cuatro fases: acuosa-gas-orgánica-

células, el cual parece tener un gran potencial en la mejora de la productividad de muchos bioprocesos, la selección adecuada de la fase no acuosa es una parte esencial para el éxito de esta tecnología de biorreacción (Malinowski, 2001). Para simplificar el análisis se considera que las células no generan esfuerzos de corte apreciables sobre las otras fases, por lo tanto la resistencia intra e inter partícula son despreciables.

Los biorreactores de partición de tres fases utilizando una fase orgánica son empleados en biocatálisis para remover los productos de inhibición selectivos que se encuentran en la fase acuosa. Esta clase de biorreactores ha demostrado ser efectiva para la degradación de altos niveles de contaminantes orgánicos, utilizándose en la remediación de aguas, suelos y aire. Por ejemplo, la fase orgánica permite disminuir la concentración de contaminantes que inhiben la degradación de tolueno, benceno y xilenos (Collins y Daugulis, 1997).

En el diseño de un biorreactor de partición de tres fases se requiere que el sustrato sea poco soluble en la fase acuosa, pero con una solubilidad alta en la fase orgánica. Así también se requiere que el producto sea soluble tanto en la fase orgánica como en la fase acuosa (Lilly et al., 1990). Por lo anterior la naturaleza físico-química de la fase orgánica debe ser óptima para servir como reservorio selectivo del sustrato y/o del producto. La selección de la fase orgánica se lleva a cabo utilizando valores teóricos y/o experimentales del punto de ebullición, solubilidad en la fase acuosa relacionada con el coeficiente de partición y biocompatibilidad con las células (Malinowski, 2001).

## 1.2 .1 Dispersión líquido-líquido

En tanques agitados, la transferencia de masa en sistemas de dos fases líquido-líquido tiene como parámetro controlante el área de transporte interfacial, donde la dispersión de las fases líquidas (acuosa-orgánica) en el biorreactor son dominantes en comparación a las velocidades de reacción (Chang y Dang, 1986).

La dispersión líquido-líquido se controla con fuerzas mecánicas (Fasano, 2001). En este caso existe una continua ruptura y coalescencia de la fase orgánica (gotas) que interactúa



con la acuosa. Eventualmente se alcanza un equilibrio local dinámico, en donde se genera un tamaño de gota promedio que se relaciona con el área de transporte de masa interfacial, y que depende de las propiedades físicas de la fase dispersa y las condiciones de agitación (Chang y Dang, 1986). Por ejemplo, el tamaño de gota promedio es función de la viscosidad de la fase orgánica que está dispersa en la fase acuosa, y está determinado por el número de Weber para un sistema de tanque agitado, de tal forma que un modelo semi-teórico, conteniendo dos parámetros geométricos ajustables, está dado por la siguiente ecuación:

$$\frac{d_{32}}{L} = AW_w^{1/3/5} \quad E_s \gg E_v \quad (1)$$

$$We = \rho_e N^2 L^3 / \sigma \quad (2)$$

Donde:

$d_{32}$ : es el tamaño de gota promedio [=] **m<sup>-1</sup>**

$A$ : área [=] **m<sup>2</sup>**

$L$ : longitud característica [=] **m**

$We$ : número de Weber

$\rho_e$ : densidad del fluido de la fase continua [=] **Kg/m<sup>3</sup>**

$N$ : tasa de agitación [=] **rpm**

$\sigma$ : tensión interfacial [=] **N/m**

$E_s$ : energía superficial

$E$ : energía viscosa

## 1.3 Fase Orgánica: Líquido iónico

Los líquidos iónicos son sales orgánicas que permanecen como líquidos a temperaturas menores a 300 ° C, son no volátiles, no inflamables, presentan alta polaridad y buena estabilidad química y térmica. Su polaridad es una propiedad que se aprovecha en reacciones químicas y bioquímicas, ya que pueden disolver un amplio rango de sustancias incluyendo compuestos orgánicos polares y no polares, así como compuestos inorgánicos y polímeros. Las propiedades físicas y químicas de los líquidos iónicos (hidrofobicidad, viscosidad, polaridad, inmiscibilidad) pueden ser modificadas por la alteración del catión y/o anión. Esto es importante porque permite diseñar líquidos iónicos para reacciones específicas, como son incrementar la solubilidad del sustrato o modificar la selectividad de la enzima (Yang y Pan, 2005).

Los líquidos iónicos presentan algunas ventajas sobre los solventes orgánicos convencionales (hexano, hexadecano, entre otros) en el campo de la enzimología, ya que se ha encontrado que enzimas en presencia de líquidos iónicos mantienen esencialmente su actividad (Apreotesei et al., 2003). Por lo que los líquidos iónicos pueden ser empleados como la fase dispersa en los biorreactores de partición de tres fases, sustituyendo a los solventes orgánicos convencionales en reacciones de bioconversión (Kragl et al., 2002).

En resumen, algunas de las características de los líquidos iónicos como fase orgánica en la biocatálisis son:

- Algunas enzimas en presencia de líquido iónico mantienen su actividad, conservan su estructura y selectividad hacia ciertos metabolitos
- Su polaridad permite dosificar la concentración de sustrato, carbohidratos y aminoácidos, y así no inhibir a las células durante la biotransformación (Kragl et al., 2002).
- Permite recuperar *in situ* al producto en una biotransformación y así disminuir su efecto de inhibición (Kragl et al., 2002).
- Los productos volátiles pueden ser recuperados por evaporación debido a su alto punto de ebullición (Kragl et al., 2002).

[Pfruender et al. \(2004\)](#) demostraron la aplicación de líquidos iónicos como fase orgánica, y con el objetivo de servir como reservorio para el suministro de sustrato y la extracción de producto *in situ*, es eficiente en un proceso multifásico en la síntesis de productos químicos a partir de células. Los líquidos iónicos estudiados fueron 1-n-butil-3-metilimidazolium hexafluorofosfato (BMIM[PF<sub>6</sub>]), BMIM-bis(trifluorometanosulfonil)imida y metiltriocilamonio-[Tf<sub>2</sub>N] (OMA[Tf<sub>2</sub>N]), encontrando que el (BMIM[Tf<sub>2</sub>N]) no produce destrucción de la membrana celular, y puede ser utilizado como reservorio del sustrato teniendo una extracción de producto adecuada.

## 1.4 Mini-biorreactores

La técnica de procesamiento a mini-escala es una herramienta útil para el entendimiento y la obtención rápida y eficaz de datos cinéticos de una biotransformación específica, sirviendo como base para el diseño de bioprocesos. Los mini-biorreactores han sido estudiados por varios grupos de investigación con el objetivo de ser utilizados en el desarrollo de bioprocesos ([Betts y Baganz, 2006](#)). Aunado a lo anterior, el uso de mini-biorreactores reduce el costo de operación/investigación de un determinado proceso debido a que los experimentos sólo requieren mínimas cantidades de sustrato, producto y biocatalizador que usualmente son costosos ([Doig et al., 2002](#)).

Los biorreactores en miniatura han sido utilizados con éxito en la investigación detallada de fermentaciones microbianas ([Betts y Baganz, 2006](#)). [Kostov et al. \(2001\)](#) presentaron los resultados obtenidos en un mini-biorreactor con un volumen de operación de 2 mL. Los resultados mostraron que la fermentación a mini-escala es factible, considerando que los fenómenos de transferencia de masa son de diferente magnitud a los que se observan en un sistema de mayor escala; por ejemplo, estos autores obtienen que el coeficiente de transferencia de oxígeno ( $k_{La}$ ) en su mini-biorreactor no fue similar al de un biorreactor de 1L. [Lamping et al. \(2003\)](#) reportan valores de  $k_{La}$  de 360 h<sup>-1</sup> a 1 vvm y 300 rpm empleando el método dinámico en un mini-biorreactor prototipo que se presenta en la Figura 2. También emplean métodos dinámicos computacionales para modelar la transferencia de oxígeno,

basados en parámetros de velocidad, tamaño de burbuja, hold-up del gas y energía de disipación dentro del mini-biorreactor. Puskeiler et al., (2005) reportan valores de  $k_{La}$  por arriba de  $700 \text{ h}^{-1}$  con un volumen de operación de 12 mL y hasta  $1600 \text{ h}^{-1}$  en mini reactores de 8 mL, agitados hasta 2300 rpm. Este sistema emplea un impulsor que esparce el gas de una manera que permite altas transferencias de oxígeno. Betts y Baganz (2006) presentan un mini-biorreactor caracterizado a partir de los mismos métodos para el desarrollo de reactores a gran escala, empleando parámetros de escalamiento como son  $k_{La}$ , tiempo de mezclado en función de  $P/V$ . Los resultados muestran que el mini-reactor es capaz de entregar a detalle características de la fermentación, la cual puede ser empleada para simular escalas mayores.

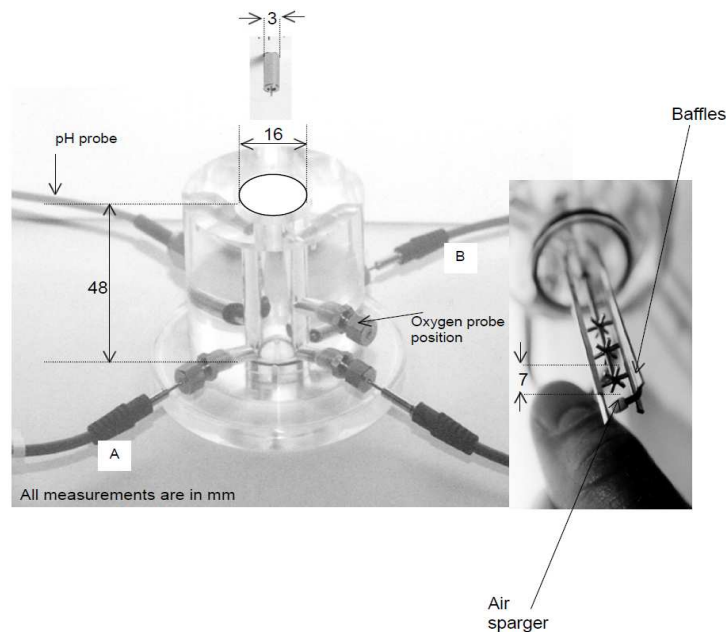


Figura 2. Componentes de un mini-biorreactor, (escala mm)  
(Lamping et al., 2003).

## 1.5 Escalamiento

Los objetivos en el escalamiento de biorreactores es proponer el dimensionamiento a una escala mayor o menor y determinar las condiciones de operación para una fermentación específica (Casablanca y Santino, 2005). Las variables operacionales que se deben considerar

en el escalamiento de biorreactores tipo tanque agitado trifásico son: aireación y agitación, ya que tienen un efecto significativo en los fenómenos de transferencia masa y enzimáticos. Actualmente se tiene tres diferentes metodologías para el escalamiento (Casablanca y Santino, 2005) :

1. Fundamental
2. Semifundamental
3. Empírico

En la Figura 3 se muestra de manera general la forma en que estas estrategias pueden ser utilizadas en el escalamiento descendente de un reactor trifásico, con la idea de crear plataformas de biorreactores que permitan disminuir mano de obra y costos de sustrato y biocatalizador (Steven et al., 2002). El método fundamental se basa en el modelado a nivel local del proceso. Se resuelven las ecuaciones que rigen los fenómenos de transporte de masa considerando su interrelación con la cinética de biorreacción. Para cinéticas microbianas esta clase de modelado no ha sido posible, y por lo tanto se han desarrollado aproximaciones que se basan en un método semifundamental (Nielsen et al., 2003, Acevedo et al., 2004). En el método semifundamental se aplican modelos con ciertas simplificaciones, y donde los parámetros de transporte y cinéticos se obtienen a partir de observaciones.

En el método empírico se desarrolla un análisis de régimen, donde se determinan experimentalmente los mecanismos, de transporte o cinéticos, que controlan el proceso. En el caso donde son varios los mecanismos controlantes se dice que se tiene un sistema con mecanismos mixtos (Nielsen et al., 2003). Esta metodología se basa en el cálculo de los tiempos característicos para los diferentes mecanismos presentes en el sistema. Estos tiempos están relacionados con la velocidad a la que tiene lugar el mecanismo. La comparación de estos tiempos indica cuales son los mecanismos de transporte de masa o cinéticos que controlan el proceso (Acevedo et al., 2004), identificando así las variables de operación que tienen un efecto en el escalamiento (Nielsen et al., 2003). En la Tabla 1 se presentan algunos de los tiempos característicos que normalmente se consideran:

Tabla 1. Tiempos característicos (Acevedo et al., 2004).

Tiempo característico (Segundos)	Fórmulas
Mezclado	$t_m = \frac{V}{2.6ND^2}$
Conversión	$t_c = \frac{C}{r}$
Difusión	$t_D = \frac{L^2}{D_{ef}}$
Residencia fase líquida	$\theta = \frac{V}{F}$
Residencia fase gas	$\theta = \frac{V}{Q}$
Consumo de oxígeno	$t_{CO_2} = \frac{CO_2}{r_{O_2}^{max}}$
Consumo de sustrato	$t_{cs} = \frac{S_0}{r_s^{max}}$
Crecimiento celular	$t_g = \frac{1}{\mu_{max}}$
Transferencia de calor	$t_{tc} = \frac{V\rho C_p}{h_b A}$
Producción de calor	$t_{pc} = \frac{\rho C_p \Delta T}{D_{ef}}$

### Estrategias de escalamiento descendente (*scale-down*) para biorreactores de partición

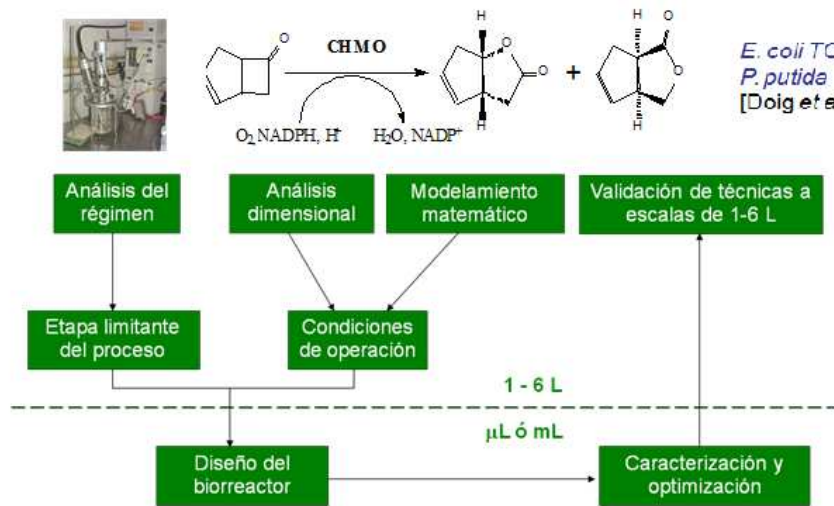


Figura 3. Estrategias para escalamiento descendente (Melgarejo, 2010).

### 1.6 Dinámica de fluidos computacionales (CFD).

El modelamiento en ingeniería es una herramienta esencial tanto para el diseño y/o optimización de nuevos procesos, como para el entendimiento de los fenómenos de transporte y cinéticos presentes en el sistema. El modelado es una herramienta práctica para evaluar propuestas de diseños de sistemas de tanque agitado, ya que permite por un lado entender los mecanismos de transporte de momento y por otro su efecto local en los de transporte de masa (Heniche y Tanguy, 2008). Por lo anterior diferentes áreas del conocimiento como la reología, ingeniería mecánica, bioquímica, química, hacen uso del modelado como herramienta básica de diseño, (Krasnopolskaya et al., 1999). El modelado a nivel local de los diferentes fenómenos de transporte se basa en las aportaciones numéricas de John Von Neumann (1903-1957) el cual estudió la estabilidad numérica en sistemas dinámicos (Krasnopolskaya et al., 1999). Por otro lado, Clough (1960) propuso el uso de un método numérico llamado elementos finitos, el cual es utilizado actualmente en la mayoría de los simuladores, con aplicación en el análisis estructural (Donea, 1992) y se extendió al estudio de la mecánica de

fluidos (Heniche y Tanguy, 2008). En los años 70 se modeló el comportamiento de un fluido en dos dimensiones utilizando CFD (Taylor y Hood, 1973). En los años 80, se desarrollaron aportaciones en la propuesta de métodos numéricos que abordan problemas complejos en dos dimensiones principalmente, y se limitaron a la solución de sistemas en tres dimensiones. El avance de esquemas numéricos con soluciones iterativas Krylov, y la tecnología computacional en los últimos 20 años es lo que hace posible la solución de sistemas tridimensionales con geometrías similares a las experimentales, dando lugar a un nuevo paradigma que se refiere al diseño en modelado de sistemas complejos a nivel local (Heniche y Tanguy, 2008). Estos trabajos dieron lugar a lo que ahora se conoce como CFD (Dinámica de fluidos computacionales), que es una rama de la física computacional que actualmente es utilizada en una gran cantidad de centros de investigación. Por ejemplo, en la Figura 4 se muestra el número de artículos científicos basados en el uso de CFD, publicados desde 1946 hasta 2006.

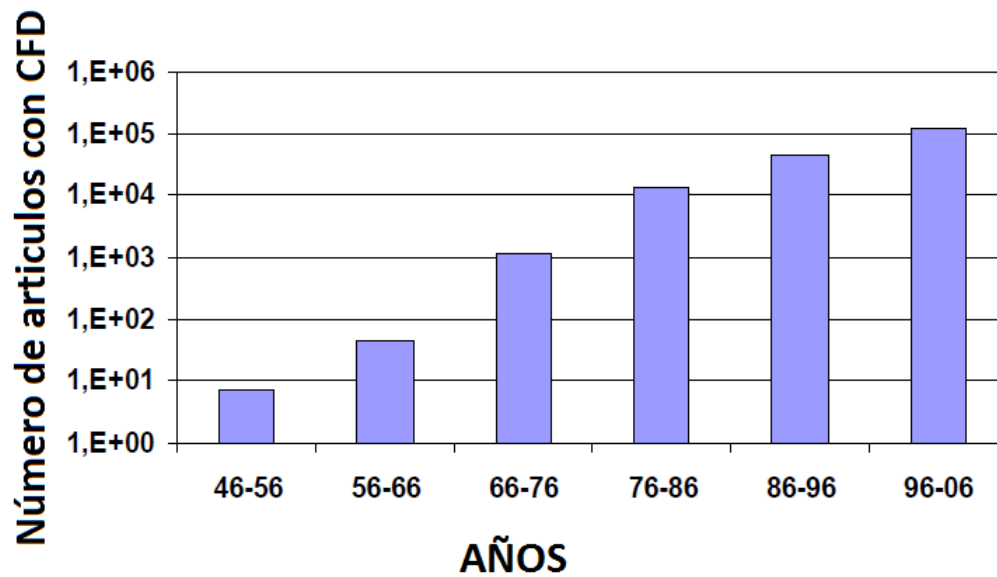


Figura 4. Número de artículos por año con uso CFD en todas las áreas de la ingeniería. (Heniche y Tanguy, 2008).

Los modelos locales o modelos basados en el continuo son herramientas que permiten el entendimiento de los distintos procesos de transporte de momento, calor y masa en tanques



agitados, ya que se puede generar información valiosa sobre los parámetros que influyen en la hidrodinámica y su efecto en transporte de calor y masa. La mayoría de los investigadores ([Heniche y Tanguy, 2008](#)) aplicaron modelos locales y continuos para sistemas en dos dimensiones. Actualmente, varios investigadores ([Lamping et al., 2003](#), [Gryczka et al., 2009](#)) realizan simulaciones tridimensionales en sistemas con geometría sencillas que no presentan problemas de convergencia ([Gryczka et al., 2009](#)).

Actualmente la CFD es una herramienta que se utiliza para la simulación de procesos, estimación de parámetros de transporte y cinéticos, y para la determinación de las condiciones de operación. La CFD se ha utilizado en el diseño y/o estudio del transporte de momento y masa de tanques agitados utilizados en la industria de transformaciones químicas ([Brucato et al. 1998](#); [Deen et al., 2002](#)). En esta tarea, es esencial obtener información detallada sobre la hidrodinámica y su efecto en la transferencia de masa. Normalmente en esta clase de estudios, el tanque agitado se describe en coordenadas fijas y en coordenadas donde se considera el movimiento del agitador. Por ejemplo, en la Figura 5 se muestran las predicciones realizadas en un CFD (CFX 4.1, AEA Technology, UK), del campo de velocidad de líquido, campo de velocidad de disipación de energía y transferencia de masa en términos del coeficiente global en un biorreactor agitado mecánicamente ([Lamping et al., 2003](#)). Las simulaciones permitieron obtener los parámetros de ingeniería a partir del campo de velocidades, tamaño de burbuja, y las tasas de disipación de energía. Por ejemplo, los valores locales de la tasa de disipación de energía se integran para obtener un valor promedio que es utilizado para el cálculo de potencia, que a su vez es el parámetro que se compara con datos experimentales para validar el modelado ([Lamping et al., 2003](#)).

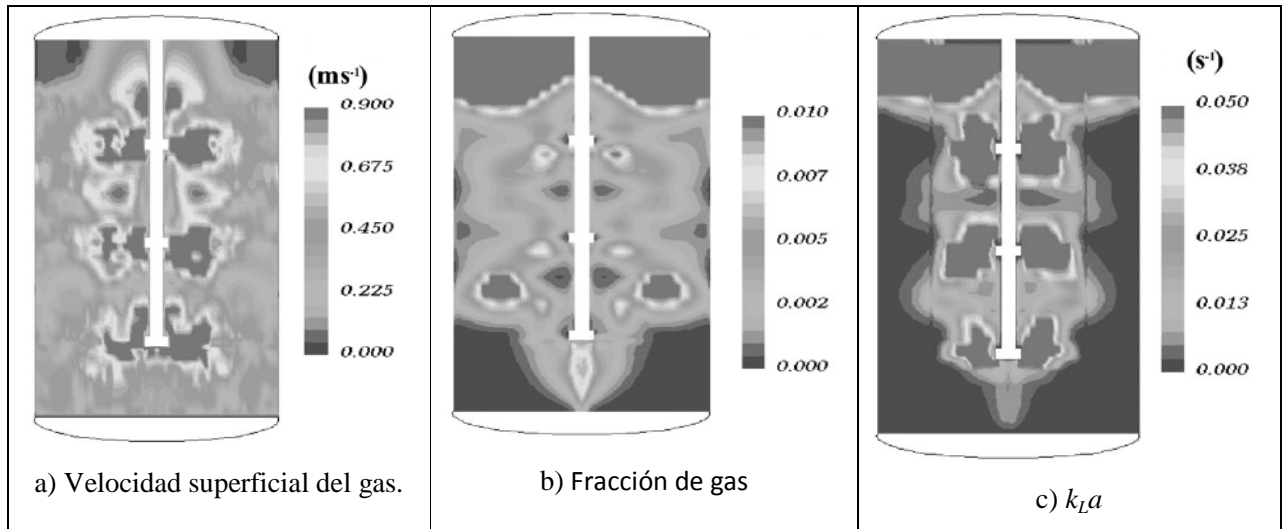


Figura 5. Perfiles de velocidad del gas, fracción de volumen del gas y el  $k_{La}$  obtenidas por un CFD (CFX 4.1, AEA Technology, UK) (Lamping et al., 2003).

COMSOL Multiphysics® es un software comercial que es utilizado como interfase para resolver sistemas complejos utilizando la teoría de CFD. Este software maneja módulos relacionados con diferentes áreas de ingeniería. Un módulo es el de Ingeniería Química, el cual es un paquete que ofrece una interfase para modelar fenómenos de transporte de momento calor y masa, con y en ausencia de reacción en una gran cantidad de sistemas. Por ejemplo; con respecto al estudio hidrodinámico, se generan interfases que permiten modelar un sistema considerando un flujo laminar o un flujo turbulento. La solución de los modelos se basa en el método de elementos finitos. La notación del módulo de ingeniería química relacionado a los fenómenos de transporte se basa en el libro de Bird (Bird et al., 2010); mientras que en el ámbito de la ingeniería de las reacciones químicas se basa en el libro de Fogler (Fogler, 2001).



## **CAPÍTULO 2**

### **Planteamiento del problema**

## 2. Planteamiento del problema

Actualmente existe interés por la biocatálisis para la producción de moléculas quirales ópticamente puras que se producen mediante reacciones redox de tipo Baeyer-Villiger. Los biorreactores de partición de tres fases (acuosa-orgánica-gas) son utilizados en esta clase de biotransformaciones ya que permiten eliminar los efectos de inhibición de la célula por sustrato o producto.

No obstante, debido a la escasa información tanto de los fenómenos de transporte como de la cinética del biocatalizador, en esta clase de sistemas se requiere el diseño y caracterización de mini-biorreactores que permita el escalamiento óptimo mediante la colección de datos cinéticos, reduciendo los gastos por uso de sustrato, producto y biocatalizador. Desde esta perspectiva es esencial el diseño de un mini-biorreactor y su caracterización en términos del transporte de momento, su efecto en la transferencia masa y la cinética enzimática utilizando herramientas como el análisis de régimen, análisis adimensional y modelamiento matemático utilizando CFD. Un diseño adecuado de esta clase de biorreactores permitirá obtener la información necesaria para el desarrollo rápido de bioprocesos y su posterior escalamiento.

### 2.1 Objetivo general

- ✓ Estudiar el transporte de momento y su efecto en el transporte de masa en ausencia de reacción de un biorreactor de partición de tres fases (acuosa-gas-orgánica) utilizando dinámica de fluidos computacionales (CFD).

#### 2.1.1 Objetivos particulares

- ✓ Describir y analizar el comportamiento hidrodinámico de la fase acuosa en un biorreactor de 1L.
- ✓ Relacionar la hidrodinámica y transferencia de oxígeno de la fase gas a la fase acuosa en el biorreactor de 1 L.



- ✓ Relacionar la hidrodinámica y transferencia de masa de sustrato y producto de la fase orgánica a la fase acuosa en el biorreactor de 1 L.
- ✓ Escalar el biorreactor de 1 L a 100 mL mediante análisis de números adimensionales: caracterización hidrodinámica y de transferencia de masa del oxígeno de la fase gas a la fase acuosa en un biorreactor de 100 mL.



# **CAPÍTULO 3**

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

## 3. Metodología

En este capítulo se describe el método o la estrategia de escalamiento descendente que se siguió en esta tesis. Primero, se presentan los equipos experimentales donde se llevó a cabo el estudio de transporte de momento y masa así como la parte experimental de transferencia de masa que permitió validar los resultados de las simulaciones. Después, se presentan los modelos matemáticos que utilizó COMSOL para las simulaciones de transporte de momento y masa en los sistemas de biorreacción. Finalmente, se describe la estrategia de escalamiento de un biorreactor de 1 L a 100 mL en ausencia de reacción utilizando criterios de similitud geométrica y números adimensionales.

### 3.1 Métodos experimentales

En la Figura 6 se muestran imágenes fotográficas de los biorreactores de 1 L (Modelo ADI 1025, Applikon) y de 100 mL (Diseñado y construido en la UAM Iztapalapa) que se utilizaron para el estudio de transporte de momento y masa, así como de escalamiento siguiendo criterios de similitud geométrica (relación altura del líquido/diámetro del tanque ó relación diámetro del tanque/diámetro del impulsor). El volumen de operación del biorreactor de 1 L fue de 700 mL y el del biorreactor de 100 mL fue de 70 mL y números adimensionales. Ambos sistemas son de vidrio conteniendo en el interior: un sistema de agitación basado en turbinas Rusthon de 6 paletas planas; un sistema de baffles para reducir las zonas muertas reduciendo la presencia de vórtices; y un sistema de aeración. Los experimentos se llevaron a cabo a 35 °C. En la Tabla 2 se presentan las propiedades físicas de los compuestos que se consideraron en este estudio. La fase orgánica consistió de líquido iónico [MeBuPyr][BTA], la fase acuosa fue agua destilada y la fase gaseosa fue aire.

Tabla 2. Propiedades físicas de los fluidos, sustrato y producto (Torres-Martinez et al., 2009)

	Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	Viscosidad (kg/m*s)	Peso molecular (g/mol)
Agua	1	0.001	18
Líquido iónico [MeBuPyr][BTA]	1389	0.040	
Sustrato biciclo[3.2.0]hept-2-en-6-ona	-	-	108.14
Producto ((-)-1(R),5(S)-3-oxabicyclo[3.3.0]oct-6-en-2-ona)	-	-	124.14

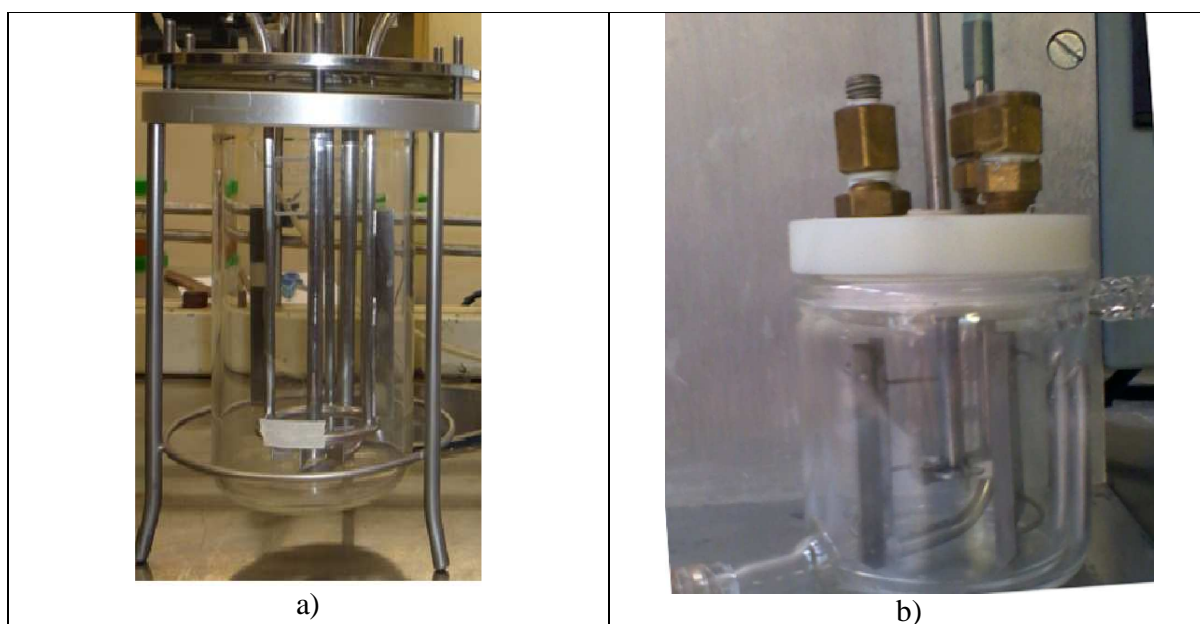


Figura. 6 Biorreactores, a) biorreactor de 1 L, b) biorreactor de 100 mL

### 3.1.1 Coeficientes globales de transferencia de oxígeno ( $k_{La}$ )

Se empleó el método dinámico reportado por Koizumi y Aiba (1984), el cual consistió en desgasear el reactor con N<sub>2</sub> hasta alcanzar el 0 % de saturación, posteriormente se alimentó



el difusor con aire hasta lograr 100 % de saturación, en este lapso se realizaron mediciones cada 15 s. Con estos datos se usó el modelo propuesto por Fusch et al. (1971), y regresión no lineal para estimar el  $k_La$ . Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Estos experimentos se realizaron en ambos biorreactores.

### 3.1.2 Distribución y tamaño de gota de la fase dispersa líquido iónico ( $d_{32}$ )

Las distribuciones de tamaño de gota durante el mezclado de las dos fases en un tanque agitado se estudiaron utilizando la técnica de reflexión de luz empleando un analizador de tamaño de partícula de reflectancia óptica (ORM, MTS Alemania) que provee datos en línea *in situ*. Con el tamaño de gota se determinó el diámetro promedio “Sauter” ( $d_{32}$ ), el cual es frecuentemente usado para calcular el área interfacial disponible en una dispersión.

### 3.1.3 Coeficientes globales de transferencia de sustrato y producto ( $k_s a$ y $k_p a$ ) en el biorreactor de 100 mL.

A partir de estudios de transferencia de masa de sustrato y producto de los experimentos realizados en la celda modificada de Lewis por Melgarejo (2010) se estimaron los coeficientes de transferencia de sustrato y producto  $k_s$  y  $k_p$ , los cuales se muestran en la Tabla 3. Con el área global de transferencia de masa de la fase dispersa ( $d_{32}$ ) obtenida en el biorreactor de 100 mL se estimaron de forma indirecta los coeficientes volumétricos de transferencia de masa tanto de sustrato como de producto  $k_s a$  y  $k_p a$  en el biorreactor de 100 mL.

Tabla 3. Coeficientes globales de transferencia de sustrato y producto obtenido mediante la celda modificada de Lewis (Melgarejo, 2010)

Agitaciones en las fases (rpm)	Coeficientes de transferencia de sustrato ( $k_s$ ) ( $m s^{-1}$ )	Coeficientes de transferencia de producto ( $k_p$ ) ( $m s^{-1}$ )
60-0	$9.63 \times 10^{-6}$	$6.12 \times 10^{-6}$
206-206	$4.35 \times 10^{-5}$	$2.23 \times 10^{-5}$

### 3.2 Simulaciones numéricas

Las simulaciones de transporte de momento y masa en el biorreactor de partición de tres fases se llevaron a cabo mediante CFD utilizando COMSOL Multiphysics 3.4a que permitió estudiar por un lado la transferencia de momento describiendo los perfiles de velocidad mediante los modelos de: Navier-Stokes, turbulencia ( $k-\varepsilon$ ), de flujo burbujeante, y de dos fases líquidas inmiscibles; y por otro lado estudiar la transferencia de masa utilizando modelos del tipo convección-difusión. Para entender el comportamiento hidrodinámico y de transferencia de masa de cada una de las fases y la interacción entre éstas, se utilizó la estrategia que se presenta en la Figura 7, y que consiste en estudiar las transferencias de momento y masa en tres sub-sistemas que consisten en: (1) fase acuosa: agua. (2) fase acuosa y fase gaseosa: agua-aire; y (3) fase acuosa y fase orgánica: agua-líquido iónico.

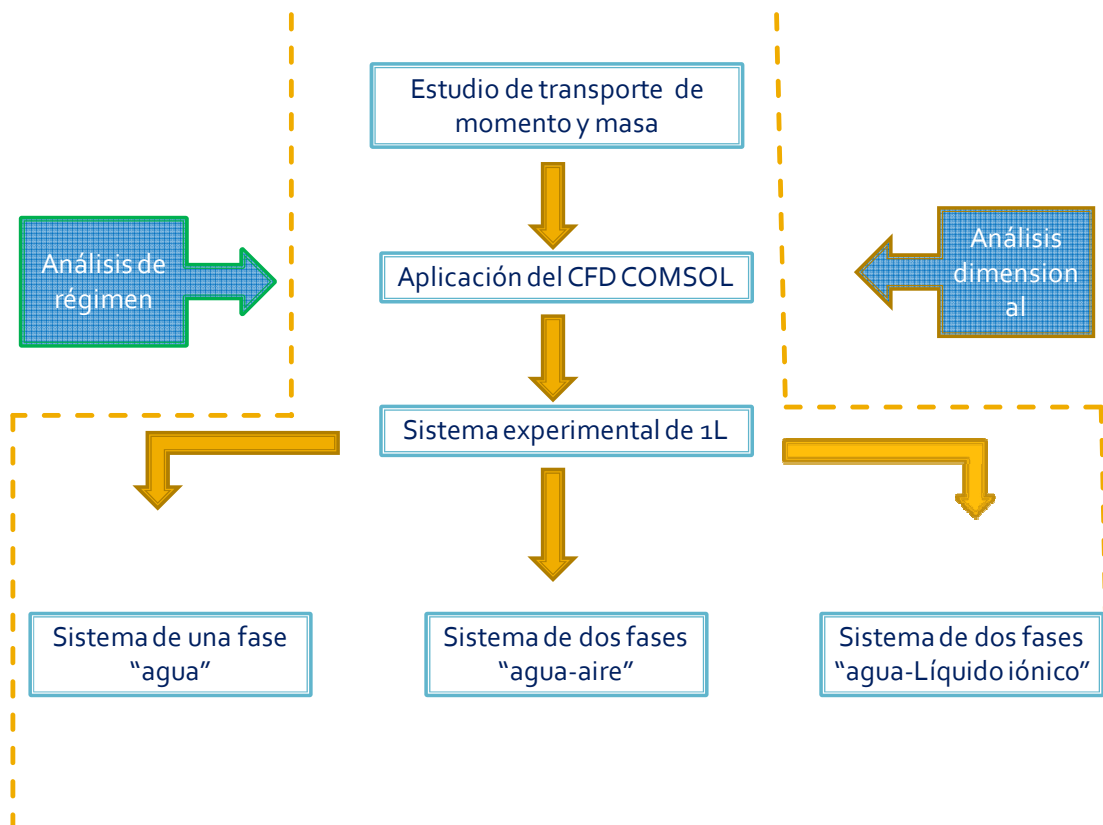


Figura 7. Estrategia para realizar las simulaciones en COMSOL

### 3.2.1 Transporte de momento en la fase acuosa (agua)

El comportamiento hidrodinámico de la fase acuosa se describió mediante dos modelos: (1) la ecuación de Navier-Stokes que normalmente se utiliza para simular sistemas que operan en régimen laminar y transitorio; y (2) la ecuación  $k-\varepsilon$  que se utiliza en régimen turbulento.

La ecuación de continuidad y de Navier-Stokes considerando un fluido incompresible se muestra a continuación:

$$\nabla u_i = 0 \quad (3)$$

$$\rho \frac{\delta u}{\delta t} + \rho (u_i \cdot \nabla) u_i = \nabla \cdot [-PI + \eta (\nabla u_i + (\nabla u_i I)^T)] + F \quad (4)$$

Donde:

$u_i$ : velocidad del líquido[=] **m/s**

$\eta$ : viscosidad dinámica del líquido[=] **kg/m\*s**

$\rho$ : densidad del líquido[=] **kg/m<sup>3</sup>**

$I$ : tensor de viscosidad

$P$ : presión [=] **Pa**

La ecuación ( $k-\varepsilon$ ) de turbulencia para un fluido incompresible está dada por:

$$\nabla u = 0 \quad (5)$$

$$\rho \frac{\delta u}{\delta t} + \rho (u_i \cdot \nabla) u_i = \nabla \cdot [-\rho I + (\eta + \eta_T) (\nabla u_i + (\nabla u_i + (\nabla u_i)^T))] + F \quad (6)$$

$$\rho \frac{\delta k}{\delta t} + \rho(\mathbf{u}_i \cdot \nabla k) = \nabla \cdot \left[ \left( \frac{\eta + \eta_T}{\sigma_k} \right) \nabla k \right] + \eta_T p(\mathbf{u}_i) - \rho \varepsilon \quad (7)$$

$$\rho \frac{\delta \varepsilon}{\delta t} + \rho(\mathbf{u}_i \cdot \nabla \varepsilon) = \nabla \cdot \left[ \left( \frac{\eta + \eta_T}{\sigma_\varepsilon} \right) \nabla \varepsilon \right] + C_{\varepsilon 1} \varepsilon \eta_T p(\mathbf{u}_i) / k - C_{\varepsilon 2} \rho \varepsilon / k \quad (8)$$

$$p(\mathbf{u}_i) = \nabla \mathbf{u}_i : [\nabla \mathbf{u}_i + (\nabla \mathbf{u}_i)^T] \quad (9)$$

$$\text{y} \quad \eta_T = \rho C_\mu k^2 / \varepsilon \quad (10)$$

Donde:

$\mathbf{u}_i$ : velocidad del líquido [=] **m/s**

$\eta$ : viscosidad dinámica del líquido [=] **kg/m\*s**

$\rho$ : densidad del líquido [=] **kg/m<sup>3</sup>**

$I$ : tensor de viscosidad

$P$ : presión [=] **Pa**

$k$ : energía cinética turbulenta

$\varepsilon$ : disipación de remolinos turbulentos

$\eta_T$ : viscosidad turbulenta [=] **kg/m\*s**

$C_\mu, C_{\varepsilon 1}, C_{\varepsilon 2}$ : constantes del modelo

### 3.2.2 Transporte de momento de las fases acuosa-gaseosa (agua-aire)

La descripción hidrodinámica del sistema bifásico considerando la interacción entre una fase acuosa y una fase gaseosa se llevó a cabo utilizando de manera acoplada el modelo de turbulencia ( $k-\varepsilon$ ) para describir el campo de velocidad de la fase acuosa y el modelo de flujo burbujeante para describir el campo de velocidad de la fase gaseosa. Mientras que el modelo de flujo burbujeante para un fluido incompresible esta dado por las siguientes ecuaciones:

$$\nabla \cdot u_i = 0 \quad (11)$$

$$\varphi_i \rho_i \frac{\delta u_i}{\delta t} + \varphi_i \rho_i u_i \cdot \nabla u_i = -\nabla p + \nabla \cdot \left[ \varphi_i \left( (\eta_i + \eta_T) (\nabla u_i + \nabla u_i^T) \right) \right] + \varphi_i \rho_i g + F \quad (12)$$

$$\rho_i \frac{\delta k}{\delta t} + \rho_i u_i \cdot \nabla k = \nabla \cdot \left[ (\eta + \eta_T / \sigma_k) \nabla k + \eta_T p(u_i) \right] - \rho_i \varepsilon + S_k \quad (13)$$

$$\rho_i \frac{\delta \varepsilon}{\delta t} + \rho_i u_i \cdot \nabla \varepsilon = \nabla \cdot \left[ (\eta + \eta_T / \sigma_\varepsilon) \nabla \varepsilon + C_{\varepsilon 1} \eta_T p(u_i) - C_{\varepsilon 2} \rho_i \varepsilon^2 / k + \varepsilon C_\varepsilon S_k / k \right] \quad (14)$$

Donde  $p(u_i) = \nabla u_i : (\nabla u_i + (\nabla u_i)^T)$  (15)

$$S_k = -C_k \varphi_g \nabla P \cdot U_{slip} \quad (16)$$

y  $\eta_T = \rho_i C_\mu k^2 / \varepsilon$  (17)

$$\frac{\delta \varphi_g \rho_g}{dt} + \nabla \cdot (\varphi_g \rho_g u_g) = -m_{gt} \quad (18)$$

$$u_g = u_i + u_{slip} - \eta_T \nabla \rho_g / \rho_i \varphi_i \quad (19)$$

Donde:

$u_i$  : velocidad del líquido [=] m/s

$u_g$  : velocidad del gas [=] m/s

$u_{slip}$  : velocidad promedio [=] **m/s**

$\eta_L$  : viscosidad del fluido [=] **kg/m\*s**

$\rho_L$  : densidad del líquido [=] **kg/m<sup>3</sup>**

$I$  : tensor de viscosidad

$P$  : presión [=] **Pa**

$g$  : gravedad [=] **m/s<sup>2</sup>**

$k$  : energía cinética turbulenta

$\varepsilon$  : disipación de remolinos turbulentos

$\eta_T$  : viscosidad turbulenta [=] **kg/m\*s**

$\varphi_L$  : fracción de líquido

$\varphi_G$  : fracción de gas

$\sigma_\varepsilon$  : coeficiente de tensión superficial de disipación de remolinos turbulentos

$\sigma_k$  : coeficiente de tensión superficial de disipación de energía cinética turbulenta

$C_\mu, C_{\varepsilon_1}, C_{\varepsilon_2}$  : constantes del modelo

### **3.2.3 Transporte de momento de las fases acuosa-orgánica (agua-líquido iónico)**

La hidrodinámica del sistema fase acuosa- fase orgánica se describió utilizando un modelo de mezcla, donde las ecuaciones que se utilizan son: la de turbulencia ( $k-\varepsilon$ ) y la de flujo multifásico de dos líquidos inmiscibles, y que se describen a continuación:

$$\rho \frac{\delta u_i}{\delta t} + \rho(u_i \cdot \nabla)u_i = -\nabla p - \nabla \cdot (\rho \varphi_d \rho_d / \rho (1 - \varphi_d \rho_d / \rho) u_{slip} u_{slip}) + \nabla \cdot (\eta [\nabla u_i + \nabla u_i^T + \rho g + F]) \quad (20)$$

$$(\rho_c - \rho_d) [\nabla \cdot (\varphi_d (1 - \varphi_d \rho_d / \rho) u_{slip}) + m_{dc} / \rho_d] + \rho_c (\nabla \cdot U) = 0 \quad (21)$$

$$\frac{\partial \varphi_d}{\partial t} + \nabla \cdot [\varphi_d u_d + \varphi_d \left(1 - \frac{\varphi_d \rho_d}{\rho}\right) u_{slip}] = -m_{dc} / \rho_d \quad (22)$$

$$\frac{\partial \eta}{\partial t} + \nabla \cdot (nU + n(1 - \varphi_d \rho_d / \rho) u_{slip}) = 0 \quad (23)$$

Modelo de mezclado

$$3C_d \rho_c / 4(d_d) u_{slip} / u_{slip} = -\rho(-\rho_d) / \rho \nabla \rho \quad (24)$$

Donde  $C_d = 24 / Re_p (1 + 2n_c / 3n_d) / (1 + n_c n_d)$  (25)

$$Re_p = d_d \rho_c / u_{slip} / \eta \quad (26)$$

Y donde  $\eta = \eta_c (1 - \varphi / \varphi_{max})^{-2.5 \varphi_{max} \eta^*}$ , (27)

$$\eta^* = (\eta_d + 0.4\eta_c) / (\eta_c + \eta_d) \quad (28)$$

Donde:

$u_i$ : velocidad de la fase acuosa [=] m/s

$u_d$ : velocidad del gas [=] m/s

$u_{slip}$ : velocidad promedio [=] m/s

$\eta_c$ : viscosidad de la fase continua [=] kg/m\*s

$\eta_d$ : viscosidad de la fase dispersa [=] kg/m\*s

$\eta^*$ : viscosidad de cinemática de la mezcla [=] kg/m\*s

$\rho_c$ : densidad de la fase continua [=]  $\text{kg/m}^3$

$\rho_d$ : densidad de la fase dispersa [=]  $\text{kg/m}^3$

$I$ : tensor de viscosidad

$P$ : presión [=] **Pa**

$g$ : gravedad [=]  $\text{m/s}^2$

$k$ : energía cinética turbulenta

$\varepsilon$ : disipación de remolinos turbulentos

$\eta_T$ : viscosidad turbulenta [=]  $\text{kg/m*s}$

$\varphi_c$ : fracción de fase continua

$\varphi_d$ : fracción de la fase dispersa

$C\mu$ ,  $C\varepsilon_1$ ,  $C\varepsilon_2$ : constantes del modelo

## 3.2.4 Estudio de transferencia de masa.

### 3.2.4.1 Transferencia de masa de oxígeno en un sistema de dos fases: acuosa-gaseosa.

El transporte de masa de oxígeno de la fase gaseosa a la fase acuosa se describió acoplando el modelo que describe la hidrodinámica de estas dos fases con el modelo de transferencia de masa convección-difusión. Los modelos hidrodinámicos están dados por las ecuaciones (11-19) y por las de transporte de masa dadas por las siguientes ecuaciones:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D\nabla c) = m_{gl} - U \cdot \nabla c \quad (29)$$



$$m_{gl} = k_L \left( \frac{P + P_{ref}}{H - c} \right) M a \quad (30)$$

$$a = (4(nn)^{1/3} (3\phi_g)^{2/3}) \quad (31)$$

Donde:

$c$  : concentración de oxígeno [=] **mg/L**

$k_L$  : coeficiente de transferencia de masa [=] **m/h**

$m_{gl}$  : concentración de oxígeno en la fase líquida [=] **mg/L**

$P$ : Presión total [=] **Pa**

$P_{ref}$ : Presión de referencia [=] **Pa**

$M$ : Masa atómica [=] **g/mol**

$\phi_g$ : Fracción de gas

$a$  : volumen del área interfacial [=] **m<sup>2</sup>**

$n$ : fracción de volumen

Y

$k_L$  se calcula con la correlación de [Taghavi et al. \(2010\)](#) que a continuación se describe:

$$K_L = \frac{(\rho_g - \rho_L)}{u_g^2} (\overline{U}_g - \overline{U}_L) \quad (32)$$

Donde:

$K_L$ : coeficiente de transferencia de masa [=] **m/h**

$u_g$ : velocidad del gas [=] **m/s**

$u_l$ : velocidad del líquido [=] **m/s**

$\rho_g$ : densidad del gas [=] **Kg/m<sup>3</sup>**

$\rho_l$ : densidad del líquido [=] **Kg/m<sup>3</sup>**

### 3.2.4.2 Transferencia de masa de sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)).

Para el estudio de transferencia de sustrato y producto de la fase orgánica a la fase acuosa se acoplaron los modelos que describen la hidrodinámica para estas dos fases descritas por las ecuaciones (20-28) junto con el modelo de transferencia de masa convección-difusión dada que se muestran a continuación.

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = m_{cd} - U \cdot \nabla c \quad (33)$$

$$m_{cd} = k_{cd} (C_d - C_c) Ma \quad (34)$$

$$a = (4\pi n)^{1/3} (3\phi_g)^{2/3} \quad (35)$$

$$K_{cd} = \frac{(\rho_d - \rho_l)}{u_T^2} (u_d - u_l) \quad (36)$$

Donde:

$C_d$ : concentración en la fase dispersa [=] **mg/L**

$C_c$ : concentración en la fase continua [=] **mg/L**

$M$ : masa atómica [=] **g/mol**

$k_L$ : coeficiente de transferencia de masa [=] **m/h**

$m_{cd}$ : concentración de equilibrio [=] **mg/L**

$\phi_g$ : Fracción de gas

$K_{cd}$ : coeficiente de transferencia de masa [=] **m/h**

$u_d$ : velocidad del gas [=] **m/s**

$u_l$ : velocidad del líquido [=] **m/s**

$\rho_d$ : densidad del gas [=] **kg/m<sup>3</sup>**

$\rho_l$ : densidad del líquido [=] **kg/m<sup>3</sup>**

### 3.3 Escalamiento descendente

Para desarrollar las técnicas de escalamiento descendente en este proyecto se utilizaron como herramientas: análisis de régimen, análisis adimensional y modelamiento matemático. Mediante el análisis del régimen, se obtuvo la(s) etapa(s) limitante(es) del proceso. Esto permitió tener un escenario de las limitantes que se presentarían a otras escalas. Con el análisis adimensional, se obtuvieron números adimensionales que permitieron determinar condiciones de operación, que cumplan con los criterios de escalamiento, tales como:  $P/V$  constantes, y similitud hidrodinámica, para ambas escalas 1 L y 100 mL.

Los números adimensionales que están relacionados con el sistema fueron obtenidos mediante la Teoría  $\pi$  de Buckingham, los cuales fueron el número de potencia y el número de aireación que a continuación se presentan:

Número de potencia

$$N_p = \frac{P}{\rho D^5 N^3} \quad (37)$$

Número de aireación

$$N_a = \frac{Q}{ND^3} \quad (38)$$

Donde:

$D$  : diámetro del impulsor

$N$  : agitación

$P$  : potencia

$\rho$  : densidad fase continua

Donde:

$Q$  : flujo de aire

$N$  : agitación

$D$  : diámetro del impulsor

Para cumplir con algunos de los criterios de escalamiento, los cuales fueron similitud geométrica (relación altura del líquido/diámetro del tanque ó relación diámetro del tanque/diámetro del impulsor) y similitud hidrodinámica ( $P/V = \text{constantes}$ ), con los números adimensionales se calcularon las condiciones de operación tales como la tasa agitación y la tasa de aireación que se debe tener en el biorreactor de 100 mL para que se mantenga similitud hidrodinámica en los dos escalas de 1 L y 100 mL.

El cálculo de las condiciones de operación fue el siguiente:

a) Cálculo de la agitación para el biorreactor de 100 mL.

Para obtener el número de revoluciones se utilizó el número de potencia para un tanque agitado bafleado sin aireación definido como:

$$N_p = \frac{P}{\rho D^5 N^3} \quad (39)$$

En régimen turbulento, necesario para mantener la dispersión de líquido iónico homogénea, el número de potencia no es función del número de Reynolds, es decir:

$$N_p = K \quad (40)$$

Re-escribiendo la ecuación (1) y dividiendo por el volumen, tenemos:

$$\frac{P}{V} = \frac{K \rho D^5 N^3}{V} \quad (41)$$

Para el escalamiento descendente de un biorreactor de 1000 mL a uno de 100 mL, podemos considerar como criterios de escalamiento similitud geométrica y mantener la relación  $P/V$  constante, es decir:

$$\frac{D_1^5 N_1^3}{V_1} = \frac{D_2^5 N_2^3}{V_2} \quad (42)$$

Despejando  $N_2$  queda de la siguiente manera

$$N_2 = \sqrt[3]{\left(\frac{D_1}{D_2}\right)^5 \left(\frac{V_2}{V_1}\right)} N_1^3 \quad (43)$$

Donde:

$D_1$	$D_2$	$V_1$	$V_2$	$N_1$
<b>4.5 cm</b>	2.5 cm	1000 mL	100 mL	400, 600, 800 y 1000 rpm

Las revoluciones que se calcularon fueron las siguientes:

<b>N1</b>	<b>400 rpm</b>	<b>600</b>	<b>800</b>	<b>1000 rpm</b>
<b>N2</b>	495 rpm	742 rpm	989 rpm	1236 rpm

Para el escalamiento descendente de un biorreactor de 1000 mL a uno de 100 mL considerando además de similitud geométrica mantener el número de aireación constante.

Se tiene,

$$N_a = \frac{Q}{ND^3} \quad (44)$$

$$\frac{Q_1}{N_1 D_1^3} = \frac{Q_2}{N_2 D_2^3} \quad (45)$$

Despejando  $Q_2$  queda de la siguiente manera

$$Q_2 = \frac{Q_1 N_2 D_2^3}{N_1 D_1^3} \quad (46)$$

Donde:

$D_1$	$D_2$	$N_1$	$N_2$	$Q_1$
<b>4.5 cm</b>	2.5 cm	400, 600, 800 y 1000 rpm	495, 742, 989 y 1236 rpm	0.6, 0.8 Y 1 VVM

Los flujos obtenidos son los siguientes

<b>Q1</b>	<b>0.6 VVM</b>	<b>0.8 VVM</b>	<b>1 VVM</b>
<b>Q2</b>	1.7 VVM	2.3 VVM	2.9 VVM

Con las condiciones de operación obtenidas se realizaron las simulaciones en el biorreactor de 100 mL y se realizaron experimentos para validar las simulaciones.



# **CAPÍTULO 4**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4 Resultados y discusión

En esta sección se muestran los resultados que se presentan en tres partes:

(1) En la primera parte se presentan las simulaciones para el biorreactor de 1L. Se describe la hidrodinámica de la fase acuosa (agua) mediante el uso de dos modelos: el de Navier-Stokes y el de turbulencia  $k-\varepsilon$ . Posteriormente se presenta la hidrodinámica para un sistema considerando tanto la fase acuosa como la fase gaseosa (aire). Una vez establecida la hidrodinámica en el sistema de dos fases se muestran las predicciones de transferencia de oxígeno de la fase gaseosa a la acuosa. Finalmente, se simula la dispersión de la fase orgánica (líquido iónico) en la fase acuosa, así como la transferencia de masa de sustrato y producto de la fase dispersa a la fase acuosa.

(2) La segunda parte presenta los resultados relacionado con el escalamiento descendente del biorreactor de 1L a un biorreactor de 100 mL. Escalamiento que se realizó bajo criterios de similitud geométrica y números adimensionales que permitieron proponer las condiciones de operación donde se tendría similitud hidrodinámica en ambos sistemas y por lo tanto transferencia de masa. Los números adimensionales utilizados fueron el número de potencia  $N_p$  y el número de aireación  $N_a$ , partiendo de criterios de escalamiento basados en una relación  $P/V$  constante.

(3) En la tercera parte se discuten las simulaciones de transporte de momento y de masa en el biorreactor de 100 mL como son: la hidrodinámica para la fase acuosa, hidrodinámica para las fases acuosa-gaseosa, transferencias de masa de oxígeno de la fase gaseosa a la acuosa, dispersión de la fase orgánica en la fase acuosa, y la transferencia de masa de sustrato y producto de la fase orgánica a la fase acuosa. En esta sección también se muestran los resultados experimentales del biorreactor de 100 mL, por un lado correspondientes a la transferencia de masa de oxígeno, y por otro a la transferencia de masa de sustrato y producto. Además, los experimentos que son utilizados para validar las simulaciones y criterios de escalamiento.



## 4.1 Fase acuosa para el biorreactor de 1L

### 4.1.1 Transporte de momento

En la Figura 8a se presenta el sistema de biorreacción, que es un biorreactor Applikon de 1 L, en el cual se ha caracterizado experimentalmente, en estudios anteriores por el grupo de trabajo, el transporte de masa de oxígeno de la fase gaseosa a la fase acuosa, y el transporte de masa de sustrato y producto de la fase dispersa a la fase continua. En la Figura 8b se muestra el dibujo en 2 dimensiones del biorreactor instrumentado en un ambiente de COMSOL. La Figura 8c presenta el malleo que se realizó al biorreactor para dar solución a las ecuaciones de transporte de momento y masa descritas en el capítulos anterior. El malleo consistió de 6048 nodos.

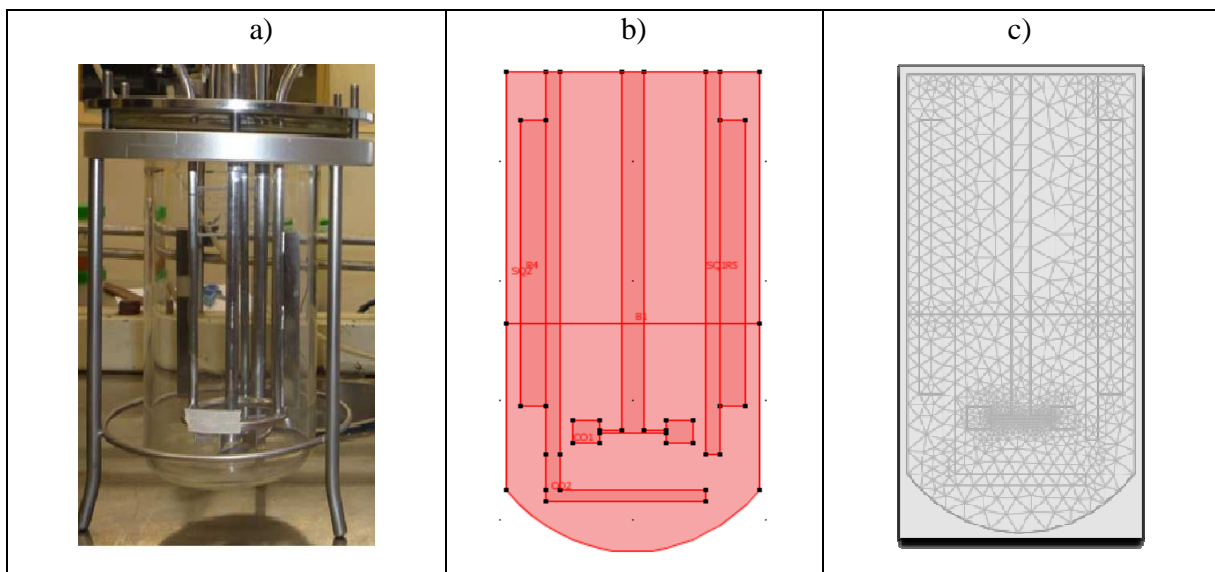


Figura 8. Sistema experimental, a) biorreactor de 1 L, b) dibujo en COMSOL, c) malleo generado en COMSOL

En la Figura 9 se presenta un diagrama de superficie comparando los perfiles de velocidad y curvas de nivel, que describen el comportamiento hidrodinámica del fluido, predicciones con el modelo de Navier-Stokes (Figuras 9a y 9b) y el modelo de turbulencia  $k-\epsilon$  (Figuras 9c y 9d). Las condiciones de operación a las que se llevó a cabo esta simulación

fueron 1000 rpm utilizando las propiedades físicas del agua 35°C que se utilizó como fase acuosa. Navier-Stokes predice las mayores velocidades locales alrededor de la turbina y la flecha del biorreactor, prediciendo bajas velocidades en el seno del fluido. Mientras que el modelo de turbulencia  $k-\varepsilon$  predice las mayores velocidades en la turbina y velocidades significativas en el seno del fluido. Estos modelos muestran que en las paredes del biorreactor y cerca de éstas existe la presencia de esfuerzos de corte considerables que reflejan velocidades locales que son cero en la pared y despreciables cerca de ésta, lo que provocaría bajo condiciones de transferencia de masa altas resistencias al transporte de una determinada especie química, sugiriendo que la transferencia de masa dependería de la difusividad de la especie química dentro del fluido. La confiabilidad de las simulaciones se llevó a cabo considerando que el modelo de Navier-Stokes es utilizado bajo condiciones de baja agitación (< 100 rpm) ya que el número de Reynolds a 100 rpm es de 14,440 que esta en el régimen de flujo turbulento, y que sus simulaciones aparentan no ser adecuadas de acuerdo a observaciones experimentales; mientras que el modelo  $k-\varepsilon$  se utiliza bajo condiciones de alta agitación (> 100 rpm), como es el caso de este estudio. Por lo anterior, se decidió utilizar un modelo  $k-\varepsilon$  para describir la hidrodinámica de los sistemas de fases estudiados.

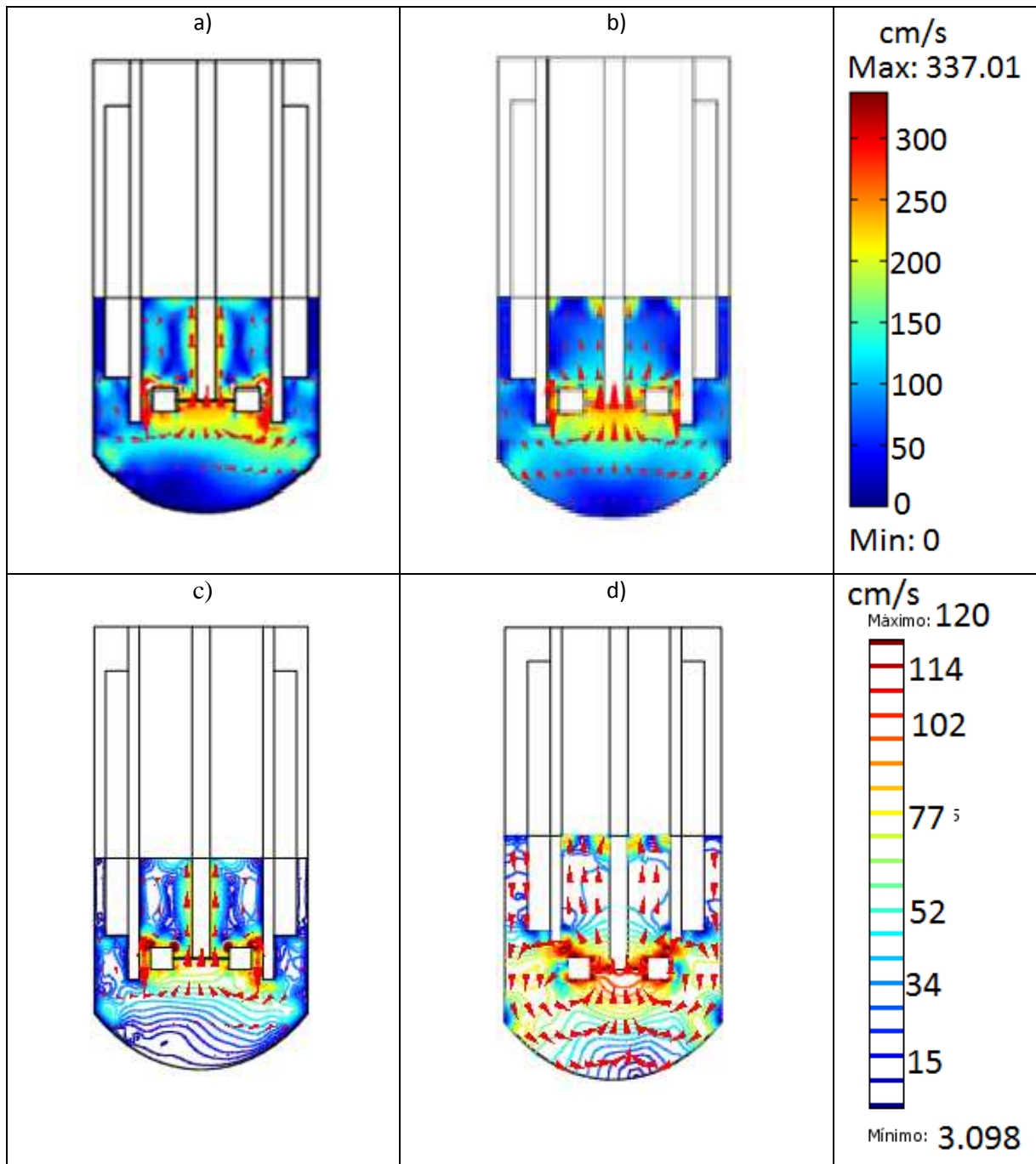


Figura 9. Simulaciones de hidrodinámica, a) y b) campos de velocidad y curvas de nivel del líquido obtenidas mediante la ecuación de Navier-Stokes, c) y d) campos de velocidad y curvas de nivel del líquido obtenidas mediante la ecuación de turbulencia  $k-\epsilon$ .

En la Figura 10 se muestra una curva de tiempos de residencia, que proporciona información del tiempo de mezclado dentro del biorreactor al utilizar como trazador el sustrato. El tiempo de mezclado a 1000 rpm es importante debido a que se puede observar si se tiene un mezclado adecuado. El tiempo de mezclado en el biorreactor de 1 L utilizando COMSOL fue de 5 segundos que está dentro del intervalo reportado por [Melgarejo en el 2010](#) en su análisis de régimen.

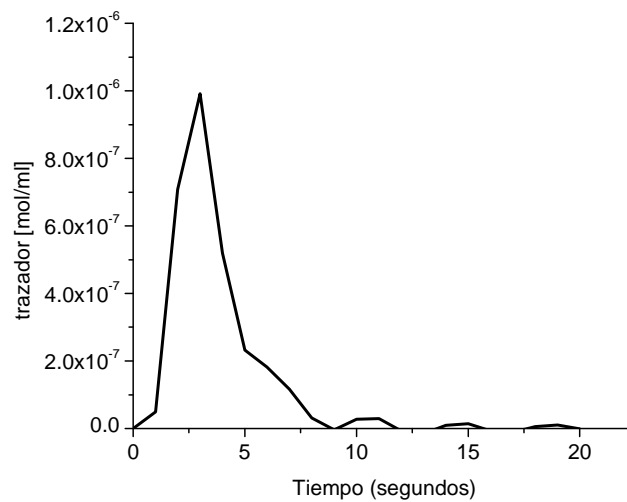


Figura 10. Curva de tiempo de residencia para determinar el tiempo de mezclado a 1000 rpm utilizando turbulencia  $k-\epsilon$ .

## 4.2 Fases acuosa-gaseosa para el biorreactor de 1 L

### 4.2.1 Transporte de momento

En las Figuras 11a y 11b se muestra la fracción gaseosa y acuosa dentro del biorreactor de 1 L en el estado estacionario a las condiciones de 1 VVM y 1000 rpm a 35°C. La fracción del aire está en un rango de 0-0.18 y la fracción del agua de 0.82-1, dependiendo de la zona del biorreactor. En el centro del biorreactor la fracción gaseosa es máxima debido de a la posición del difusor y del movimiento de la turbina. Se han reportado resultados similares por [Lamping et al. \(2003\)](#) para un sistema de tanque agitado con tres turbinas.

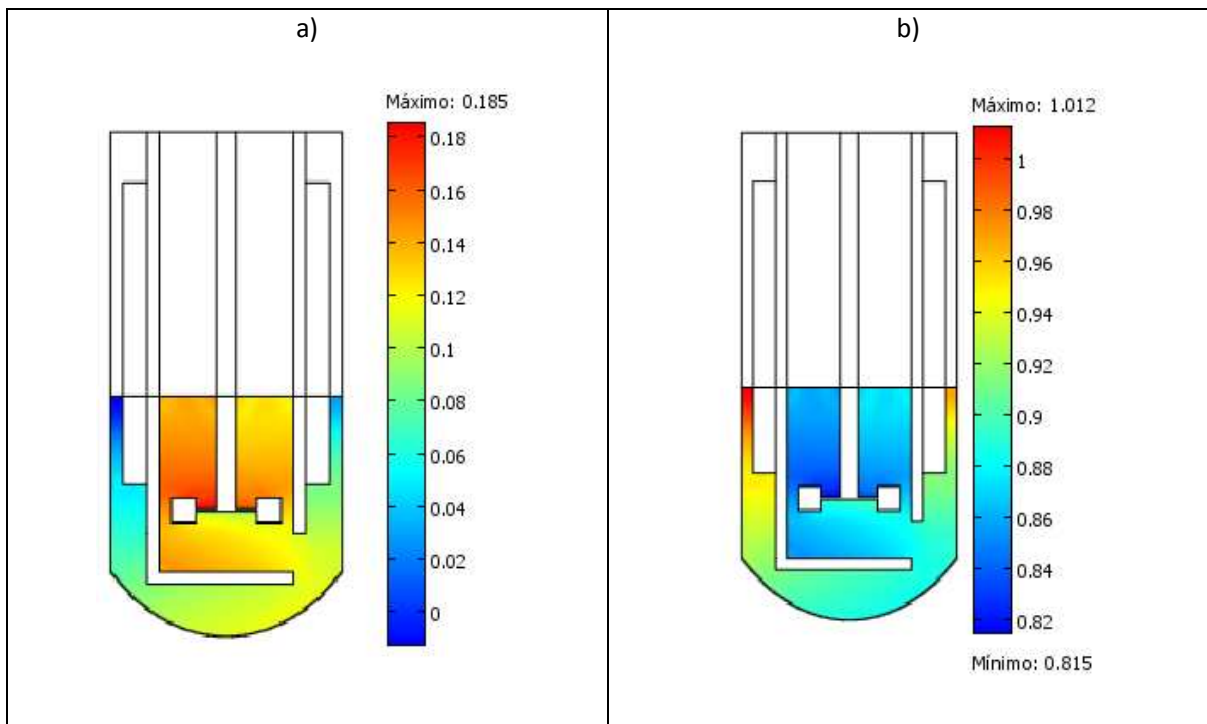


Figura 11. Simulaciones de hidrodinámica dos fases agua-aire, a) Fracción de gas, b) fracción de líquido.

### 4.2.2 Transporte de masa de oxígeno

En la Figura 12 se muestra el perfil de concentración de oxígeno como función del tiempo obtenido de las simulaciones en COMSOL tomando en cuenta la hidrodinámica de la

fase acuosa utilizando el modelo de turbulencia  $k-\varepsilon$ , junto con la hidrodinámica de la fase gaseosa utilizando el modelo de dos fases de flujo burbujeante, para las condiciones de operación de 1 VVM y 1000 rpm en el Biorreactor de 1L. En esta simulación  $k_{La}$  es un valor efectivo reportado en la literatura a las condiciones de operación estudiadas aquí (Lobo, 1997). Se observa que la concentración del oxígeno aumenta con respecto al tiempo hasta alcanzar la saturación en aproximadamente 2000 segundos (30 minutos).

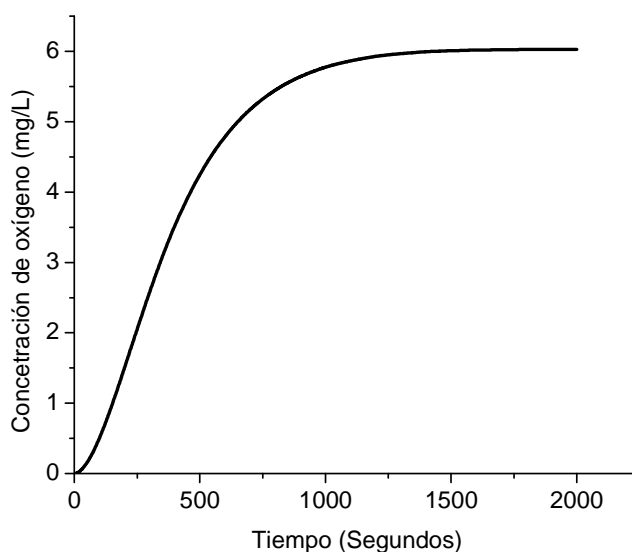


Figura 12. Perfil de concentración de oxígeno como función del tiempo, predicción realizada con COMSOL en el biorreactor de 1 L a 1 VVM y 1000 rpm.

En la Figura 13 se muestra el perfil de concentración de oxígeno dentro del biorreactor de 1 L, se alcanza la saturación aproximadamente en 60 s, como se observa normalmente en experimentos de esta clase (Meljarego, 2010). Para esta simulación, a diferencia de la que se presenta en la Figura 12, el valor de  $k_L$  se calcula mediante una correlación teórica (Taghavi et al., 2010). Esta correlación toma en consideración las propiedades físicas tanto del líquido como del gas, así como sus propiedades mecánicas que a su vez son función de las condiciones de operación del biorreactor: velocidad local del gas, velocidad local del agua así como sus fracciones correspondientes. Se muestra el perfil de concentración del oxígeno en

función del tiempo corroborando que la saturación de oxígeno en el agua se alcanza a los 60 segundos (1 minuto), y no en 2000 s (30 min) como se observa en la Figura 12. Con estas simulaciones se obtuvo un valor efectivo de  $k_{La}$  de  $200 \text{ h}^{-1}$ , que fue similar al obtenido experimentalmente y reportado por [Melgarejo \(2010\)](#) y [Torres-Martínez et al. \(2009\)](#) para este mismo sistema de biorreacción.

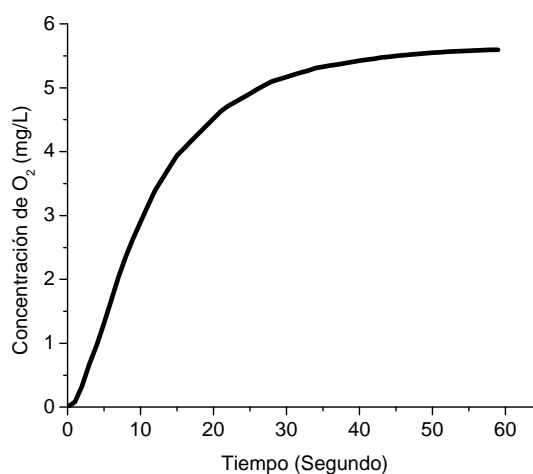


Figura 13. Perfil de concentración de oxígeno considerando los modelos de turbulencia  $k-\epsilon$ , flujo burbujeante y la correlación de Tajhavi.

## 4.3 Dos fases líquidas inmiscibles: fases acuosa y orgánica

### 4.3.1 Dispersión del líquido iónico

En la Figura 14 se muestra un diagrama de superficie para la distribución de la fracción de la fase dispersa (líquido iónico) dentro de la fase continua (agua) en función del tiempo dentro del biorreactor de 1 L a 1000 rpm, y 80% de agua con 20% de líquido iónico. Se observa que una vez que se activa el proceso de agitación por las turbinas el líquido iónico se empieza a dispersar en el biorreactor, hasta alcanzar una homogeneidad en aproximadamente

10 s. En este tiempo se observa que alrededor de las turbinas se tiene la mínima presencia de líquido iónico, que se relaciona con los esfuerzos de corte viscosos entre el agua y la turbina que son más dominantes que entre el líquido iónico y la turbina. Bajo condiciones de biorreacción la dispersión homogénea del líquido iónico sería favorable por las cuestiones de transporte relacionadas con éste. Por otro lado, es importante resaltar que [Lamping et al. \(2003\)](#) observaron que la célula (*E. coli*) no presentó estrés hidrodinámico en un biorreactor de 6 mL operado con turbinas Rushton por arriba de las 2000 rpm.

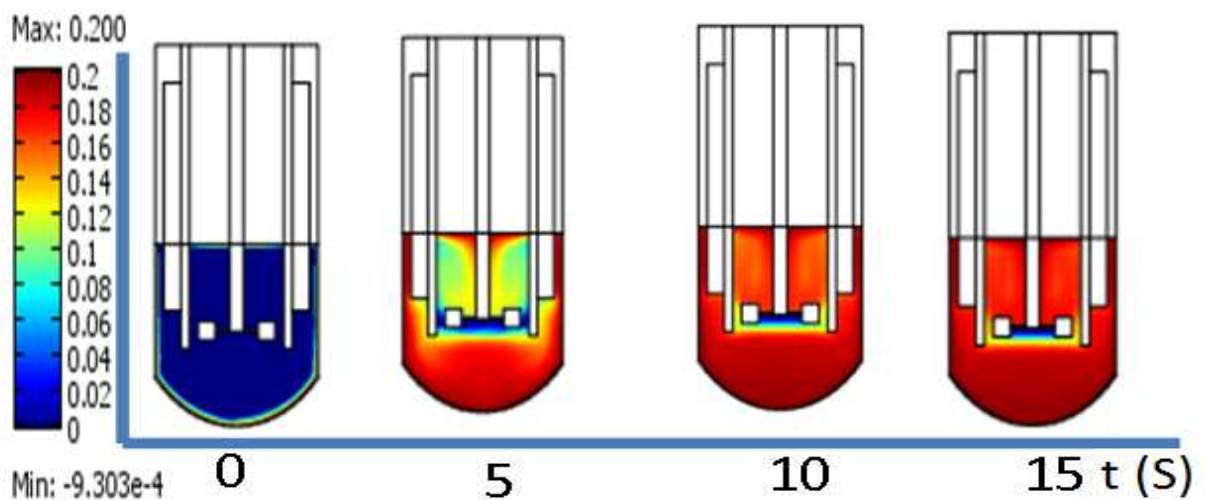


Figura 14. Dispersión del líquido iónico dentro del biorreactor de 1 L

En la Figura 15 se muestra los perfiles de fracción de la fase orgánica en la fase acuosa como función del tiempo para el biorreactor de 1 L a 1000 rpm utilizando cuatro concentraciones iniciales de líquido iónico. Se observa que cuando se tiene el 20% de líquido iónico, su mezclado con la fase continua es en un tiempo menor que al tener menores fracciones iniciales de líquido iónico. Esto se asocia con los esfuerzos de corte en el sistema, ya que al tener una mayor fracción de éste, los esfuerzos de corte viscosos promueven una mejor dispersión dentro del biorreactor.



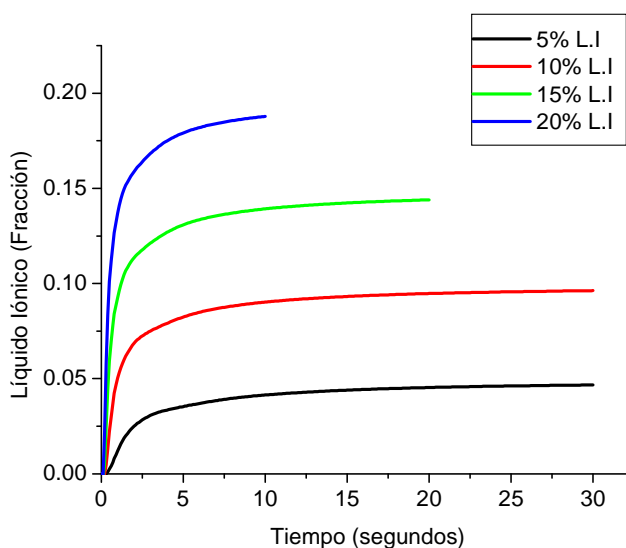
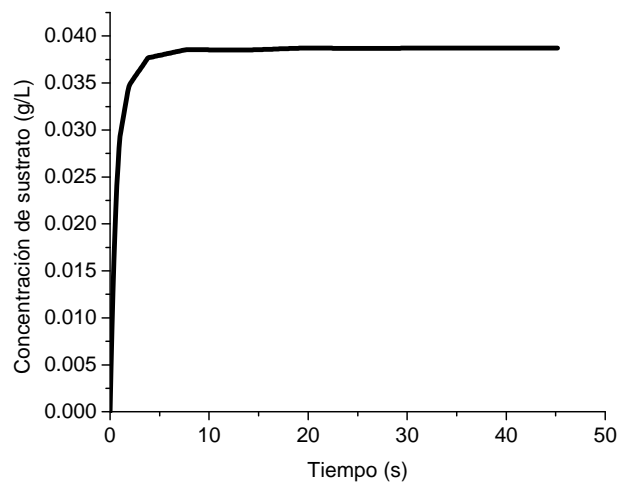


Figura 15. Simulación del Mezclado de la fase dispersa a diferentes porcentajes de líquido iónico a 1000 rpm

#### 4.3.2 Transporte de masa de sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)))

La Figura 16a muestra el perfil de concentración del sustrato que se transfiere desde la fase dispersa (líquido iónico) hacia la fase continua (agua) en función del tiempo, mediante predicciones realizadas con COMSOL en el biorreactor de 1L a 1000 rpm y 20% de líquido iónico: 1.2 g/L de sustrato y 1 g/L de producto. Se observa que el estado estacionario se alcanza aproximadamente en 5 s, donde se predice una concentración final de sustrato en fase acuosa de 0.04 g/L. Lo que sugiere que el proceso está controlado por la termodinámica y que las limitaciones a la transferencia de masa interfacial no tendrían un efecto negativo bajo condiciones de biorreacción, es decir, el sustrato no tendrá resistencias considerables para llegar a la superficie del microorganismo desde el líquido iónico. Mientras que en la Figura 16b se muestra el perfil de concentración del producto que se transfiere desde la fase continua

a)



b)

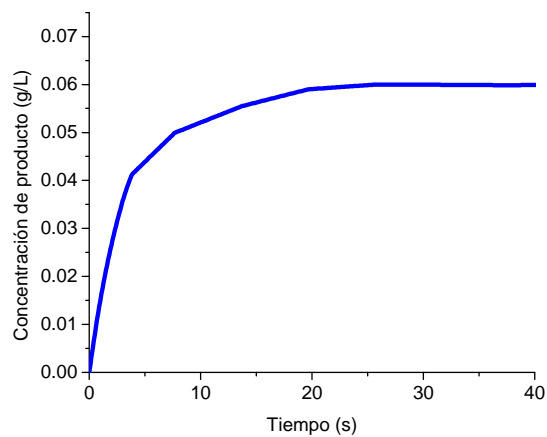


Figura 16. Perfil de concentración de a) sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y b) producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona))) a 1000 rpm y 20 % de líquido iónico a 35 °C

hacia la fase dispersa bajo las mismas condiciones de operación. No obstante se observa que el estado estacionario se alcanza aproximadamente a los 20 s donde la concentración final del producto en la fase dispersa fue de 0.07 g/L. Aspecto que se relaciona principalmente con aspectos termodinámicos y con una mayor resistencia interfacial de transporte de masa con respecto a aquel donde se transporta el sustrato. Por ejemplo, el coeficiente de partición del producto (13.3) es menor que el del sustrato (25.8); y el sustrato tiene una mayor difusividad ( $0.788 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) que la del producto ( $0.743 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) (Torres-Martínez, 2010).

#### 4.4 Escalamiento descendente

En esta sección se lleva a cabo el escalamiento descendente en ausencia de reacción de un biorreactor de partición de 1 L a uno de 100 mL. Los criterios de escalamiento fueron similitud geométrica y números adimensionales basándose en el método  $\pi$  de Buckingham que permitieron sugerir las condiciones de operación a las cuales se tuviera el mismo comportamiento hidrodinámico y de transferencia de masa de los compuestos presentes. En la Figura 17 se muestran el biorreactor de 100 mL, el dibujo y el malleo que se utiliza en COMSOL.

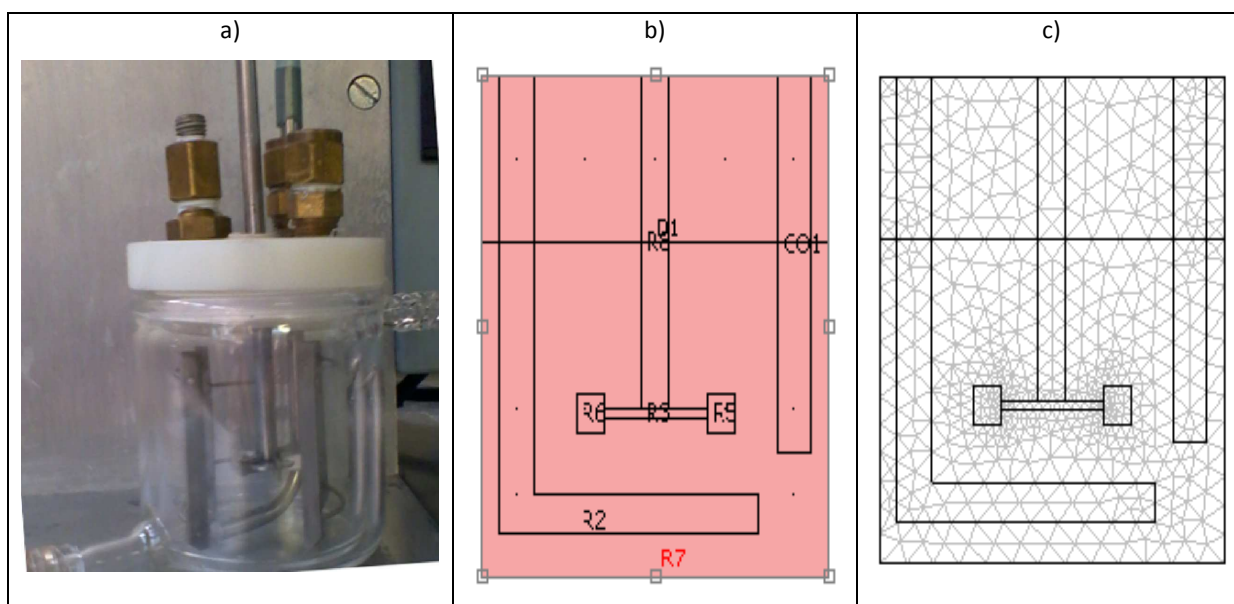


Figura 17. Sistema experimental de 100 mL, a) biorreactor de 100 mL, b) dibujo en COMSOL, c) malleo generado en COMSOL (1136 elementos).

#### 4.5 Fase acuosa

##### 4.5.1 Transporte de momento

En la Figura 18 se presenta un diagrama de superficie que muestra los campos y vectores de velocidad de la fase acuosa en ambos biorreactores de 100 mL y 1 L operados a 1230 y 1000 rpm, respectivamente. Estas velocidades de agitación se obtienen utilizando el criterio de escalamiento basando en números adimensionales a  $P/V$  constante, como se

describe en el capítulo anterior. Los perfiles de velocidad se obtuvieron mediante la ecuación de turbulencia  $k-\varepsilon$ . Se observa que los criterios de similitud geométrica y de números adimensionales permiten tener una similitud en el comportamiento hidrodinámico en ambos sistemas: similares esfuerzos de corte viscoso y magnitudes de las velocidades locales.

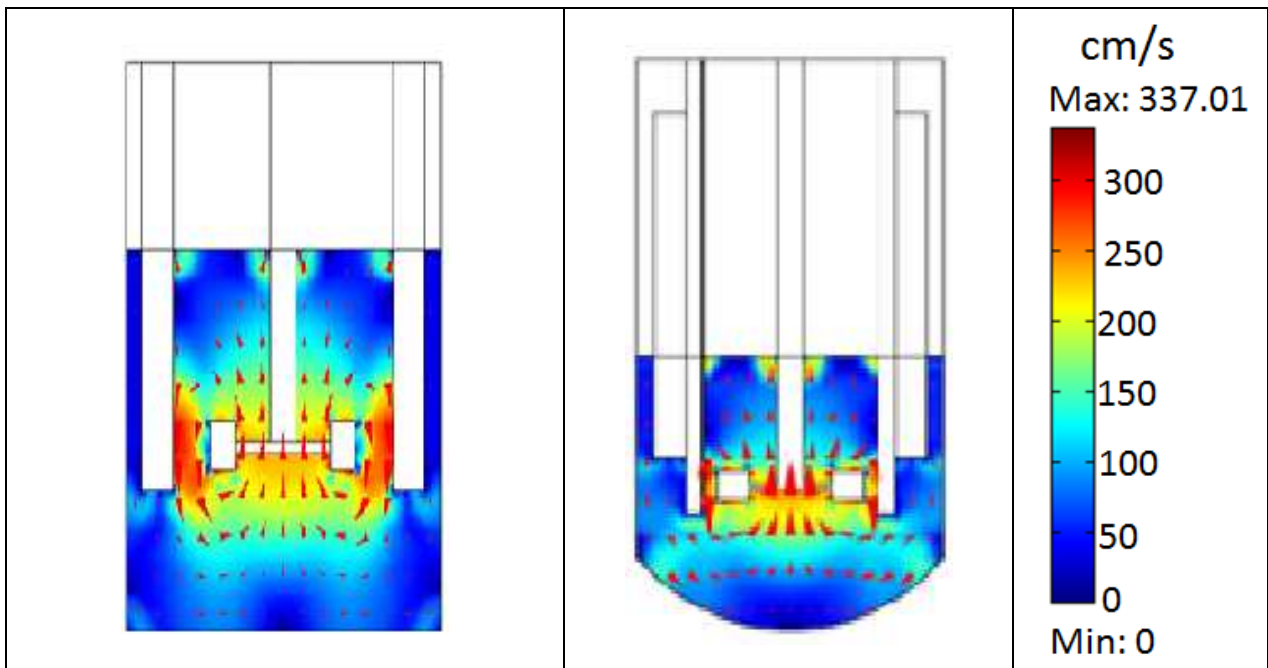


Figura 18. Comparación de campos y vectores de velocidad del: a) biorreactor de 100 mL y b) biorreactor de 1 L utilizando el modelo de turbulencia  $k-\varepsilon$ .

## 4.6 Fases acuosa-gaseosa

### 4.6.1 Transporte de momento

En la Figura 19 se presenta un diagrama de superficie que muestra los vectores de velocidad y la fracción de la fase gaseosa en la fase acuosa para el sistema de 100 mL a 1230 rpm y 2.9 VVM. Se observa que la fracción de gas dentro del biorreactor está en un rango de 0 a 0.18 y la de líquido de 0.815 a 1. Los vectores de velocidad indican un movimiento ascendente del gas y tangencial para el líquido. La fracción de gas y líquido son similares a los que se presentan en la Figura 11 del biorreactor de 1 L.

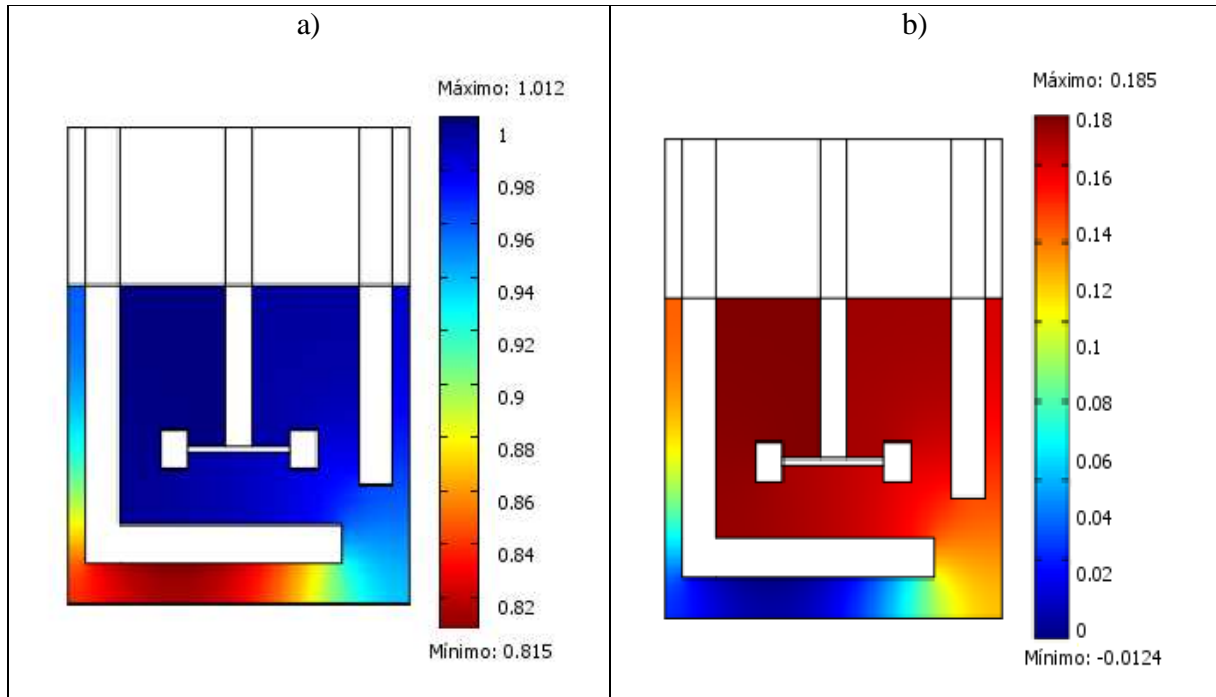


Figura 19. Hidrodinámica de dos fases agua-aire, a) fracción de gas, b) fracción de líquido, en el biorreactor de 100 mL a 1230 rpm y 2.9 VVM.

#### 4.6.2 Transferencia de masa de oxígeno.

En la Figura 20 se presenta un diagrama de superficie que muestra la concentración de oxígeno en la fase acuosa como función del tiempo, así como los vectores de velocidad predichos con COMSOL dentro del biorreactor de 100 mL operado a 1230 rpm y 2.9 VVM. Las simulaciones consideraron los modelos de transporte de momento que describen los perfiles de velocidad tanto de la fase gaseosa y acuosa acoplados al modelo de transferencia de masa que utiliza la correlación de Taghavi (Taghavi et al., 2010) para calcular  $k_L$  que caracteriza el transporte de masa de oxígeno interfacial de la fase gaseosa a la fase acuosa. Se observa de estas simulaciones que el estado estacionario se alcanza en un tiempo de aproximadamente 60 segundos donde la distribución de oxígeno dentro del biorreactor es prácticamente homogénea, permitiendo la disponibilidad de oxígeno en todo el seno de líquido. En la Figura 21 se muestra el perfil de concentración de oxígeno en función del tiempo obtenidos en COMSOL a las condiciones de operación de 1230 rpm de agitación y 2.9

VVM. El valor de  $k_{La}$  efectivo es de  $200 \text{ h}^{-1}$  para las condiciones de operación estudiadas aquí, que como se observa adelante es similar al encontrado mediante experimentos realizados en este estudio.

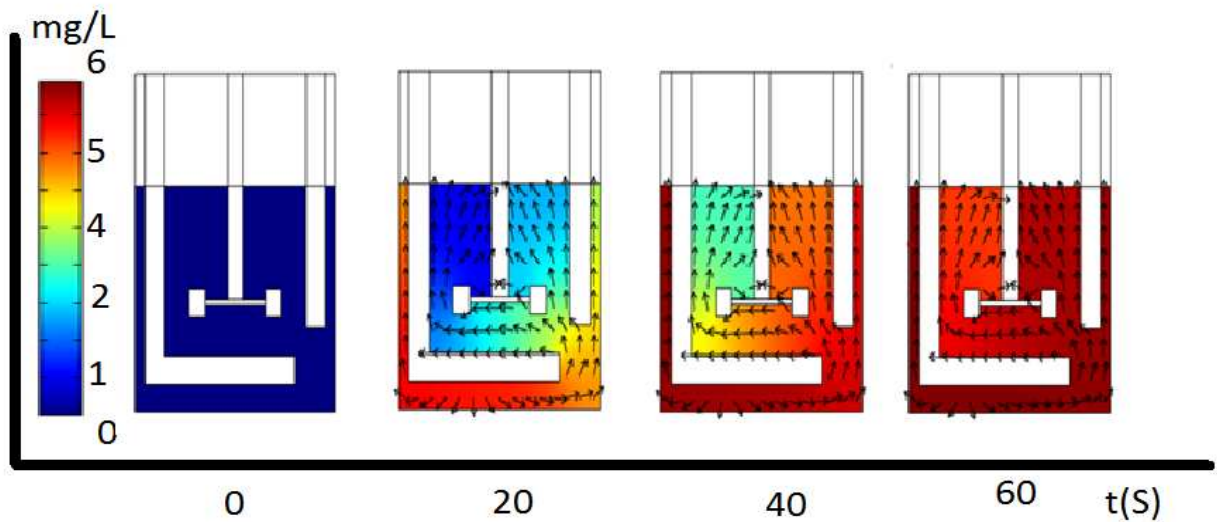


Figura 20. Distribución del oxígeno dentro del biorreactor de 100 mL a 2.9 VVM y 1230 rpm.

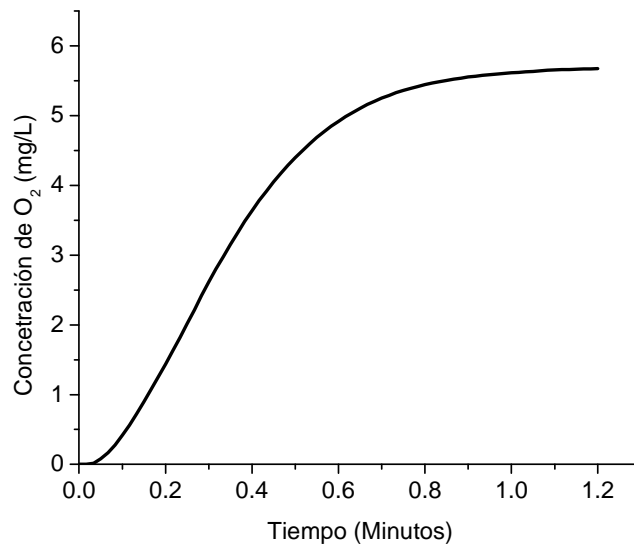


Figura 21. Perfil de concentración de oxígeno a 1230 rpm y 2.9 VVM en la simulaciones en COMSOL.

En general, para los reactores tipo tanque agitado el factor más importante que influye en la transferencia de oxígeno de la fase gaseosa a la acuosa es la agitación. La Figura 22 muestra los valores de  $k_{La}$  obtenidos experimentalmente a las diferentes condiciones de operación obtenidas mediante los criterios de escalamiento en el biorreactor de 100 mL. Para la agitación se utilizaron cuatro niveles, los cuales fueron: 495, 740, 995 y 1230 rpm y para la aireación se utilizaron tres niveles: 1.7, 2.3 y 2.9 VVM. En resumen, los valores obtenidos de  $k_{La}$  en el biorreactor de 100 mL fueron de 19 a 210  $h^{-1}$ , los valores mayores de  $k_{La}$  se obtuvieron a altas agitaciones y aireaciones.

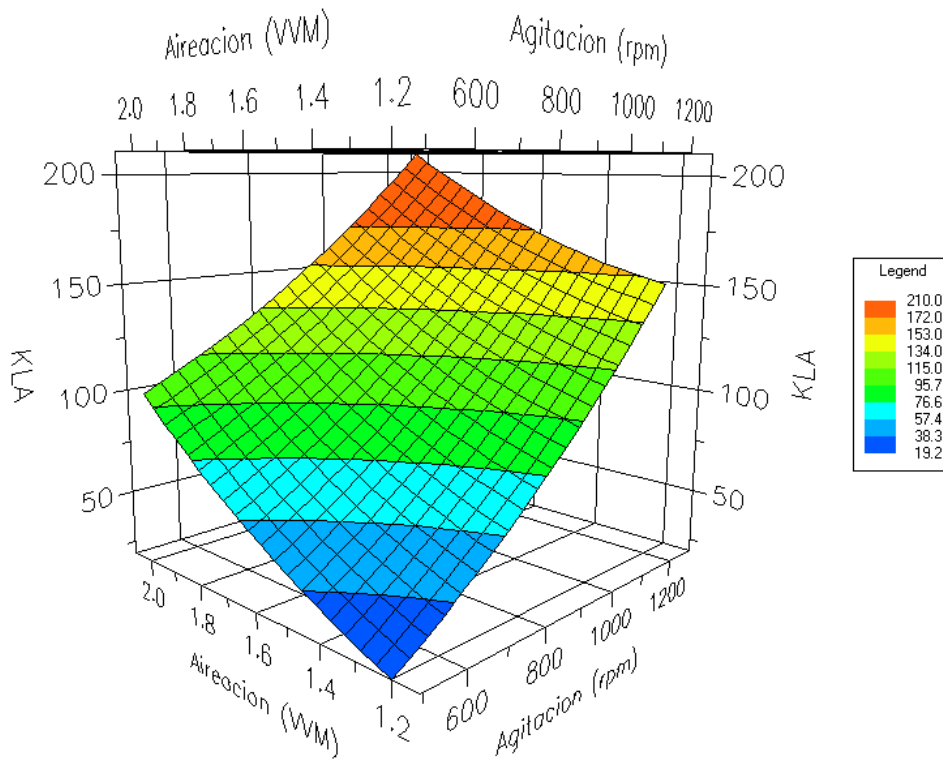


Figura 22. Coeficientes globales de transferencia de oxígeno para el biorreactor de 100 mL.

En la Figura 23 se presenta una comparación de los perfiles de concentración de oxígeno en función del tiempo obtenidos con las simulaciones en COMSOL y experimentalmente en el biorreactor de 100 mL. Se observa que las simulaciones describen



adecuadamente los datos experimentales. Se compararon solamente dos condiciones de operación los cuales fueron de 1.7 VVM y 490 rpm (Figura 23a), y 1230 rpm y 2.9 VVM (Figura 23b). Estas condiciones de operación fueron obtenidas con los criterios de escalamiento descendente descritos previamente, basado en las condiciones de operación estudiadas del biorreactor de 1 L. Particularmente se observa que a una mayor velocidad de agitación la transferencia de masa del oxígeno de la fase gaseosa a la acusa es en menos tiempo que a bajas velocidades de agitación, de hecho los valores de  $k_{La}$  son mayores a altas velocidades de agitación.

En la Tabla 4 se hace una comparación de los valores de  $k_{La}$  y tiempos característicos experimentales del biorreactor de 1L obtenidos por [Melgarejo \(2010\)](#) en su análisis de régimen, los  $k_{La}$  y tiempos característicos obtenidos por simulaciones en COMSOL en este trabajo para el biorreactor de 1 L y el biorreactor de 100 mL, los  $k_{La}$  y tiempos característicos obtenidos experimentalmente para el biorreactor de 100 mL en este trabajo. Se observa que los  $k_{La}$  obtenidos por simulaciones fueron similares a los experimentales para ambas escalas, lo que sugiere que los criterios de escalamiento descendente de un biorreactor de 1 L a un biorreactor de 100 mL son adecuados para lograr una similitud hidrodinámica y por consecuencia mismos fenómenos de transferencia de masa. Lo anterior indica que estos criterios podrían ser utilizados bajo condiciones de reacción

Tabla 4. Comparación de  $k_{La}$  y tiempos característicos obtenidos con simulaciones en COMSOL y experimentalmente en el biorreactor de 100 mL y 1 L.

$k_{La}$ ( $h^{-1}$ )	Tiempo característico (segundos)	Referencia
<b>60-200</b>	17-143	Simulación COMSOL Biorreactor 1 L
<b>69-206</b>	13-129	Sistema experimental 1 L ( <a href="#">Melgarejo, 2010</a> )
<b>63-227</b>	16-204	Simulación COMSOL Biorreactor 100 mL
<b>62-203</b>	18-163	Sistema experimental 100 mL

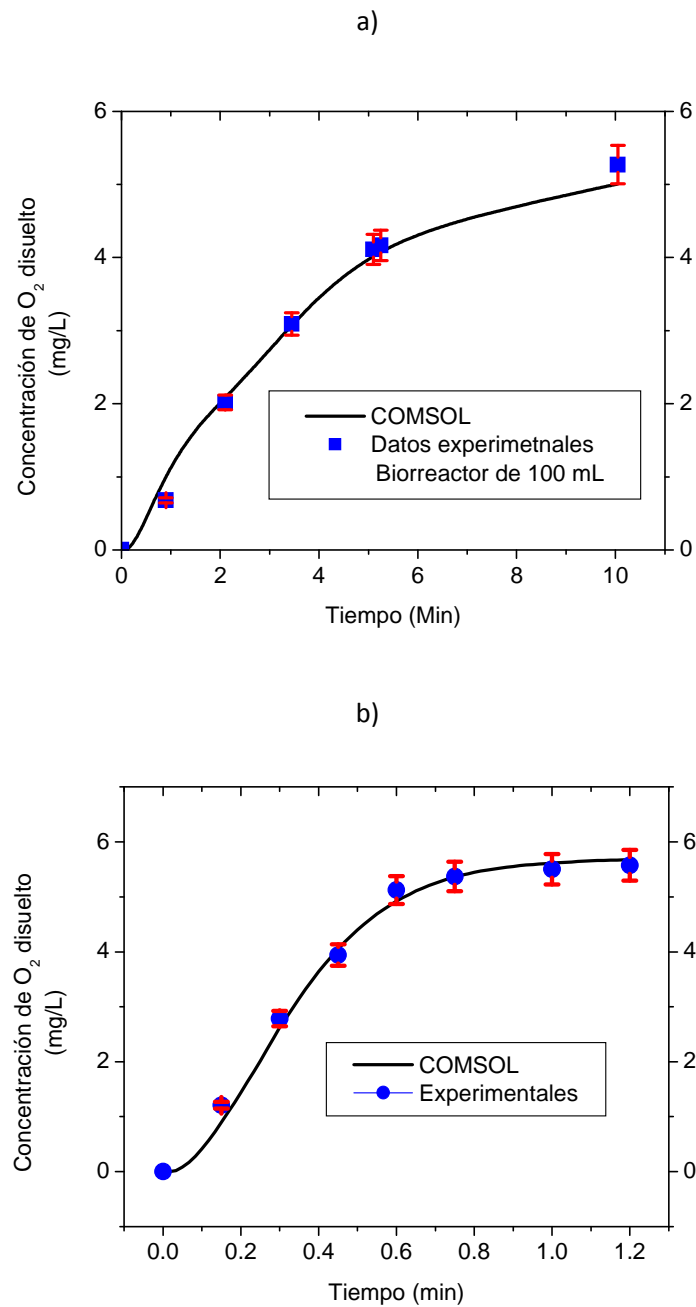


Figura 23. Comparación de los perfiles de concentración de oxígeno obtenidos por las simulaciones en COMSOL (línea continua) y por datos experimentación en el biorreactor de 100 mL (■) a diferentes condiciones de operación: a) 495 rpm y 1.7 VVM, y b) 1230 rpm y 2.9 VVM.

## 4.7 Dos fases líquidas inmiscibles: fase acuosa y orgánica

### 4.7.1 Dispersión de líquido iónico: tamaño de gota ( $d_{32}$ ) de la fase orgánica

En la Figura 24 se muestran los diámetros de gota obtenidos experimentalmente en el biorreactor de 100 mL a diferentes velocidades de agitación y aireación, los cuales van desde 38 a 53 micras. Se observa que al aumentar la agitación y la aireación el diámetro de gota aumenta, mientras que al aumentar la fracción del líquido iónico el diámetro de gota disminuye. Por ejemplo, a una fracción de líquido iónico de 5 % y a las condiciones más bajas de operación, 1.7 VVM y 495 rpm, el diámetro de gota es de 43 micras, mientras que condiciones de operación alta, 2.9 VVM y 1230 rpm, es de 52.8 micras. Por otro lado, cuando se utiliza una fracción de líquido iónico igual a 20 %, el diámetro de gota más pequeño es de 38.1 micras a 1.7 VVM y 495 rpm y el diámetro de gota más grande es de 48.3 micras, a 2.9 VVM y 1230 rpm.

### 4.7.2 Transporte de masa de sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)))

Finalmente, se realizan simulaciones que describan de manera acoplada la hidrodinámica de la fase acuosa y fase orgánica con la transferencia de masa del sustrato y producto entre estas fases. En Figura 25a se observa el perfil de concentraciones de sustrato en la fase acuosa en función del tiempo en el biorreactor de 100 mL a 1230 rpm y una fracción del 20% de líquido iónico. Se observa que la concentración de sustrato se establece en los primeros 5 s, de manera similar que en el biorreactor de 1 L. El valor de  $k_{La}$  efectivo a estas condiciones es de  $2177 \text{ h}^{-1}$ . En la Figura 25b se presenta el perfil de concentraciones del producto en la fase orgánica en función del tiempo a las mismas condiciones de operación, que dieron un valor de la  $k_{pa}$  efectivo de  $762 \text{ h}^{-1}$ . De igual forma que para el biorreactor de 1L la transferencia de masa interfacial del producto es mayor que la del sustrato.

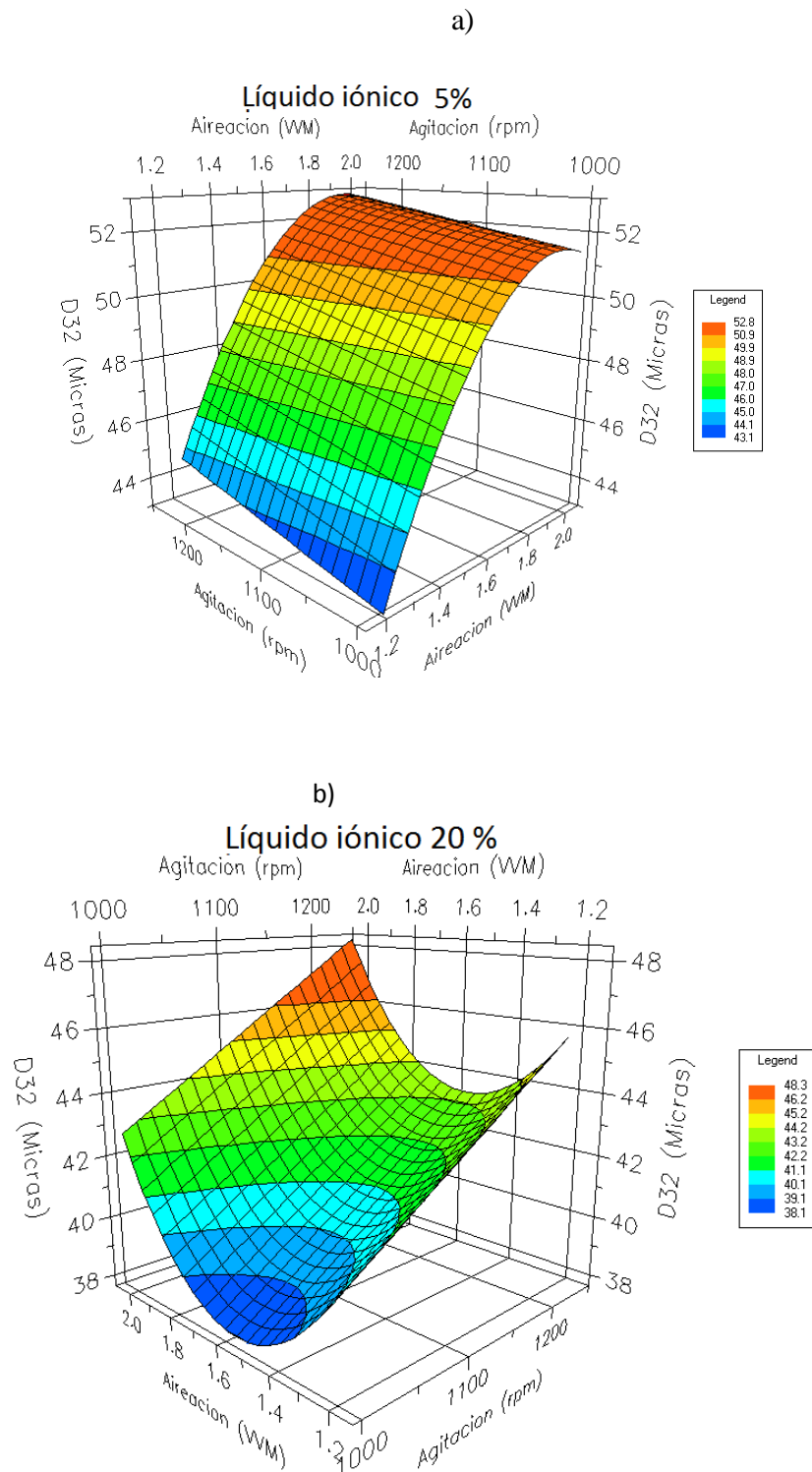


Figura 24. Valores experimentales del diámetro de gota ( $d_{32}$ ) a diferentes condiciones de operación, a) 5% de líquido iónico, b) 20% de líquido iónico.

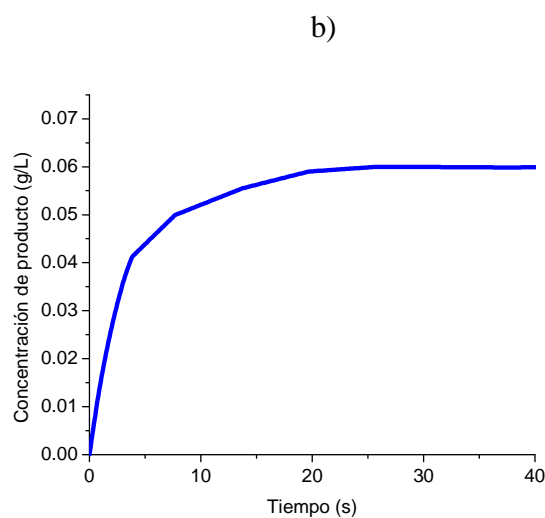
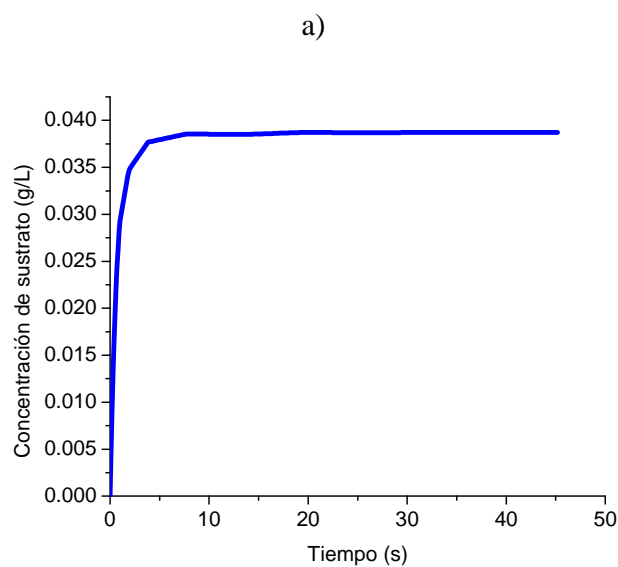


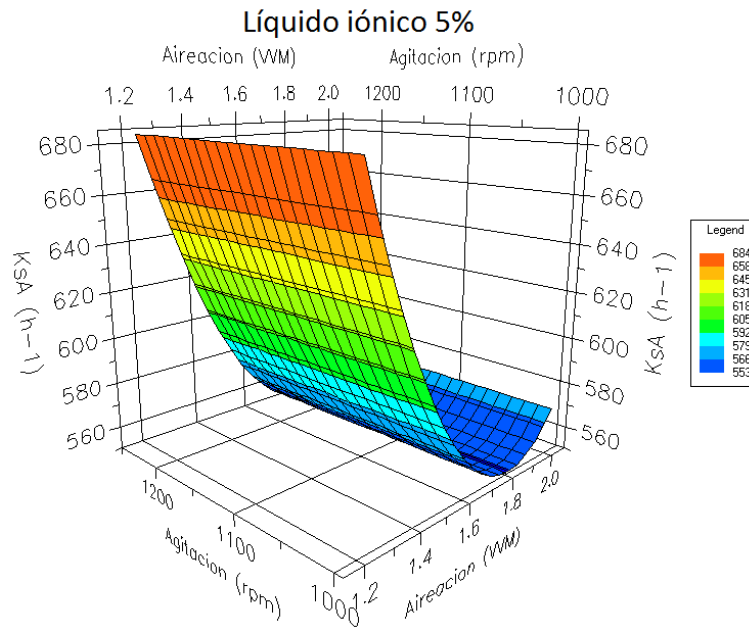
Figura 25. Perfil de concentración en el biorreactor de 100 mL a) sustrato ((biciclo[3.2.O]hept-2-3n-6-ona)) y b) producto (((-)-1(R),5(S)3-oxabicyclo[3.3.O]oct-6-en-2-ona)) a 1230 rpm y 20% de líquido iónico obtenidas en las simulaciones en COMSOL

### 4.7.3 Coeficientes globales de transferencia de sustrato y producto ( $k_{s,a}$ y $k_{p,a}$ )

Los diámetros de gota  $d_{32}$  obtenidos experimentalmente en el biorreactor de 100 mL se utilizaron para obtener los coeficientes volumétricos de transferencia de masa interfacial de sustrato y producto. Los coeficientes globales de transferencia de masa de sustrato y producto utilizados en este estudio fueron reportados mediante el uso de una celda de Lewis (Melgarejo, 2010). En las Figuras 26a y b se muestran los coeficientes volumétricos de transferencia de masa de sustrato, que van de 550 hasta 770  $\text{h}^{-1}$ , para 5 y 20 % de líquido iónico, respectivamente. En las Figuras 27a y b se muestran los coeficientes volumétricos de transferencia de producto que van desde 110 a 160  $\text{h}^{-1}$  para 5 y 20 % de líquido iónico, respectivamente.

En las Tablas 5 y 6 se presenta una comparación de los valores de  $k_{s,a}$  y  $k_{p,a}$ , y tiempos característicos obtenidos experimentalmente y por las simulaciones numéricas en los biorreactores de 1 L y 100 mL. Se observa que los valores de  $k_{s,a}$  obtenidos mediante simulaciones son similares a los calculados experimentalmente para el biorreactor de 1L. No obstante los valores de  $k_{s,a}$  obtenidos mediante simulaciones en el biorreactor de 100 mL no son similares a los experimentales. Los mismos resultados se observan para los valores de  $k_{p,a}$ . Lo anterior se puede relacionar con el hecho de que los valores de los parámetros obtenidos mediante simulaciones se obtienen del mismo sistema, mientras que los experimentales se obtienen en una celda de Lewis en donde la hidrodinámica y por consiguiente la transferencia de masa pueden ser diferentes al sistema de tanque agitado.

a)



b)

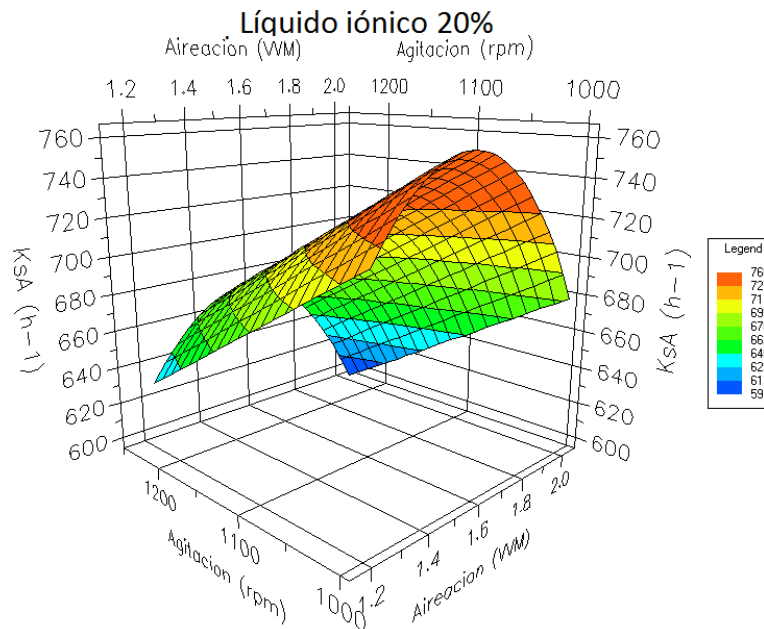


Figura 26. Coeficientes volumétricos de transferencia de sustrato ( $k_s a$ ) a diferentes condiciones de operación, a) 5 % de líquido iónico, b) 20% de líquido iónico.

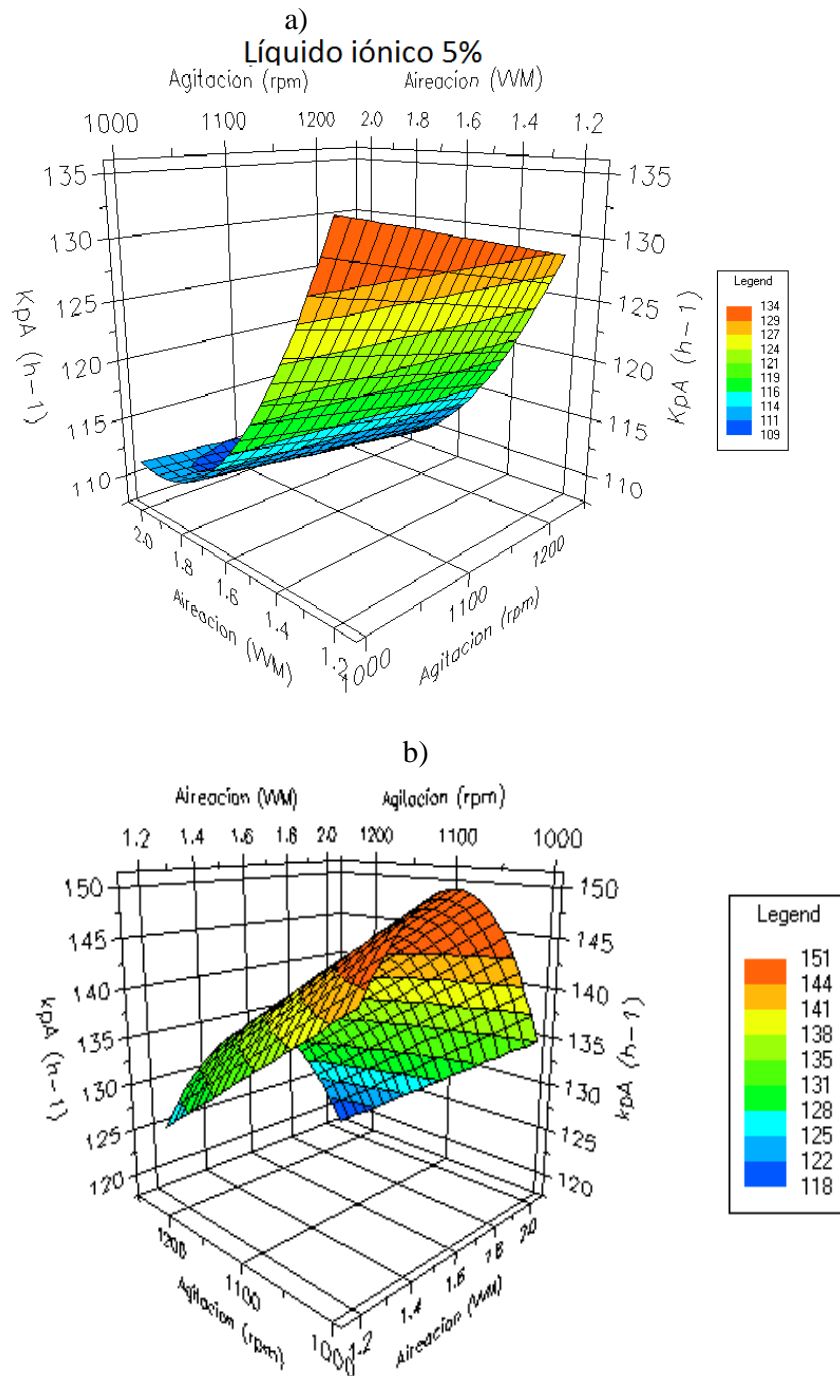


Figura 27. Coeficientes volumétricos de transferencia de producto ( $k_p a$ ) a diferentes condiciones de operación, a) 5 % de líquido iónico, b) 20% de líquido iónico.



Tabla 5. Comparación de  $k_{sa}$  y tiempos característicos obtenidos con simulaciones en COMSOL y datos experimentales en el biorreactor de 100 mL y 1 L.

$k_{sa}$ ( $h^{-1}$ )	Tiempo característico (segundos)	Referencias
<b>207-2174</b>	1.6-15	Simulación COMSOL Biorreactor de 1 L
<b>162-2470</b>	1.5-22	Experimental 1 L (Melgarejo, 2010)
<b>106-2065</b>	1.7-33.6	Simulación COMSOL Biorreactor de 100 mL
<b>550-760</b>	4.5-6.5	Experimental 100 mL

Tabla 6. Comparación de  $k_{pa}$  y tiempos característicos obtenidos con simulaciones en COMSOL y datos experimentales en el biorreactor de 100 mL y 1 L.

$k_{pa}$ ( $h^{-1}$ )	Tiempo característico (segundos)	Referencia
<b>41-411</b>	8.7-87	Simulación COMSOL Biorreactor de 1 L
<b>32-499</b>	7.5-112	Experimental 1L (Melgarejo, 2010)
<b>83-542</b>	6.7-43	Simulación COMSOL Biorreactor de 100 mL
<b>100-150</b>	24-36	Experimental 100 mL



# **CAPÍTULO 5**

## **CONCLUSIONES**

El biorreactor de 100 mL fue construido mediante relaciones geométricas, cumpliendo con el primer criterio de escalamiento similitud geométrica entre el biorreactor de 1 L y 100 mL.

El estudio hidrodinámico de una fase del sistema se pudo realizar mediante la ecuación de turbulencia  $k-\varepsilon$ , tanto en el biorreactor de 1 L y el biorreactor de 100 mL, obteniendo perfiles de velocidad similares, a si como tiempos de mezclado que está alrededor de 5 segundos.

El estudio de transporte de oxígeno se pudo realizar mediante el acoplamiento de tres diferentes modelos: modelo de turbulencia  $k-\varepsilon$ , el modelo de flujo burbujeante y el modelo de convección difusión, obteniendo valores de  $k_L a$  similares en el biorreactor de 1 L reportado por Melgarejo (2010) y Torres-Martínez et al. (2009), y el biorreactor de 100 mL en simulaciones en COMSOL y experimentalmente.

Para las dos fases líquidas inmiscibles se obtuvo su comportamiento de dispersión mediante modelo de turbulencia  $k-\varepsilon$  para mezcla de dos fases, y la transferencia de masa para sustrato y producto se acopló el modelo de difusión convección, obteniendo valores de coeficientes globales de transferencia de sustrato ( $k_{sa}$ ) y producto ( $k_{pa}$ ) iguales para el biorreactor de 1L y 100 mL en las simulaciones en COMSOL y experimentalmente.

Los números adimensionales, número de potencia ( $N_p$ ) y número de aireación ( $N_a$ ), permitieron calcular las condiciones de operación para el biorreactor de 100 mL, partiendo de las condiciones de operación utilizadas en el biorreactor de 1 L.

COMOSL resultó ser una herramienta útil para el escalamiento, ya que permite realizar previamente estudios hidrodinámicos y de transporte de masa a diferentes escalas y compararlos con el sistema original que se quiere escalar ya sea descendente o ascendente.

## 6. Bibliografía

1. Acevedo F., Gentina J., Alanis A. (2004), Fundamentos de Ingeniería Bioquímica, Segunda Edición, Ediciones Universitario de Valparaiso pag: 253-265.
2. Apreotesei L., Tudose B., Kadi H. (2003). Mass transfer resistance in liquid-liquid extraction with individual phase mixing. *Chemical Engineering and Processing*, 42: 909-916.
3. Betts J. I., Baganz F. (2006). Miniature bioreactors: current practices and future opportunities. *Microbial Cell Factories*, 5:21.
4. Bird R. B, Steward W. E, Lightfoot E. N. (2010). Fenómenos de Transporte. Segunda edición. Editorial: Limusa Wiley.
5. Casablanca F, G., Santino L. M. (2005). Ingeniería Bioquímica. Editorial Síntesis Villahermosa-Madrid.
6. Chang T.P.K., Dang T. (1986). Drop Breakup in turbulent Stirred-Tank contactors. Part 1: Effect of Dispersed-Phase Viscosity. *AICHE Journal*, 324(4): 657-666.
7. Clough, R.W. (1960). The finite element in plane stress analysis. Proceedings of the second ASCE Conference on Electronic Computation, Pittsburgh, PA, September.
8. Collins L. D., Daugulis A. J. (1997). Characterization and Optimization of a two-phase Partitioning bioreactor for the Biodegradation of phenol. *Appl Microbiol Biotechnol*. 48:18-22.
9. Daugulis A.J. (1997). Partitioning Bioreactors. *Current Opinion in Biotechnology*, 8:169-174.
10. Deen N., Solberg G., Hjertager T. (2002). Flow Generated by an Aerated Rushton Impeller: Two-Phase PIV Experiments and numerical Simulations. Chemical Engineering Laboratory. Aalborg University Esbjerg. Niels Bohrs Vej 8. DK-6700 Esbjerg Denmark.
11. Doig S. D., Pickering S.C.R., Lye G.J., Woodley J.M. (2002). The Use of Microscale Processing Technologies for Quantification of Biocatalytic Baeyer-Villiger Oxidation Kinetics, *Biotechnology and Bioengineering*, 80 (1): 42-49.
12. Donea, J. (1992). Méthode d'éléments finis pour les problèmes de convection-diffusion. *Revue Européenne des Éléments Finis*; 1(3):225-252. (in French)
13. Brucato A., Grisa P F., Montante G. (1998). Particle drag coefficients in turbulent fluids. *Chemical Engineering Science*, 53(18): 3295-3314.

14. Fasano A. (2001). The “volume Scattering” Effect in The Dynamics of Liquid-Liquid Dispersions. *SIAM News*, 34(4): 1-5.
15. Fogler H. S. (2001). *Elementos de Ingeniería de las Reacciones Químicas*, Tercera Edición. Editorial: Person Educación.
16. Fusch R., Dewey D., Humphery A. (1971). Effect of Surface Aeration on Scale up Procedures for Fermentation Process. *Ind. Eng. Chem. Process Des. Develop.* 10(2): 190-196.
17. Gryczka O., Heinrich S., Deen N.G., Kuipers J.A.M, Mörl L. (2009). Tree-Dimensional Computational Fluid Dynamics Modeling of a Prismatic Spouted. *Chem. Eng. Technol.* 3: 470-481.
18. Heniche M., Tanguy P.A. (2008). Finite Element Modeling of Viscous Mixing: A Review. *Chemical Product and Process Modeling*, 3:1-54.
19. Koizumi J., Aiba S. (1984). Reassessment of the Dynamic  $k_La$  Method. *Biotechnology and Bioengineering*, 26: 1131-1133.
20. Kostov, Y, Harms, P., Randers-Eichhorn L, Rao G. (2001). Low-cost microbioreactor for high-throughput bioprocessing *Biotechnology and Bioengineering*, 72 (3):346-52.
21. Kragl U., Eckstein M., Kaftzik N. (2002). Enzyme catalysis in ionic liquids. *Current Opinion in Biotechnology*, 13:565 – 571.
22. Krasnopolskaya, T.S., Meleshko, V.V., Peters, G.W.M., Meijer, H.E.H. (1999). Mixing in Stokes flow in an annular wedge cavity. *European Journal of Mechanics - B/ Fluids*; 18(5): 793-822
23. Lamping, S. R.; Zhang, H.; Allen, B.; Ayazi Shamlou, P. (2003). Design of a prototype miniature bioreactor for high throughput automated bioprocessing. *Chem. Eng. Sci.*, 58, 747-758.
24. Lilly, M.D., Dervakos G.A., Woodley J.M. (1990). Two-Liquid Phase Biocatalysis: Reactor Design. En “Biocatalysis” páginas: 337-355, Editorial: Van Nostrand Reinhold, New York.
25. Lobo O. R. *Principios de transferencia de masa*. (1997). Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, ISBN 970-620-894-1.
26. Malinowski J.J. (2001). Two-phase partitioning bioreactors in fermentation technology. *Biotechnology Advances*, 19:525-538.
27. Melgarejo Torres Rodrigo. (2010). Análisis de régimen en un biorreactor de partición de tres fases mediante la determinación de tiempos característicos. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana, México D.F.

28. Nielsen J., Villadsen J., Liden G. (2003). *Bioreaction Engineering Principles*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York-Boston-London.
29. Pfruender H., Amidjojo M., Kragl U., Weuster-Botz D. (2004). Efficient Whole-Cell Biotransformation in a Biphasic Ionic Liquid/Water System. *Angew. Chem. Int. Ed.* 43: 4529–4531
30. Pollard D. J., Woodley J. M. (2006). Biocatalysis for Pharmaceutical Intermediates: The Future is now. *TRENDS in Biotechnology*, 25 (2): 66-73
31. Puskeiler R, Kaufmann K, Weuster-Botz D. (2005). Development, parallelization, and automation of a gas-inducing milliliter-scale bioreactor for high-throughput bioprocess design (HTBD). *Biotechnology and Bioengineering*, 89:512-523.
32. Taghavi M., Zar Ghaffari R., Moghaddas J., Moghaddas Y. (2010). Experimental and CFD investigation of power consumption in a dual Rushton turbine stirred tank. *Chemical Engineering Research and Design*, doi 10.1016:1-11
33. Taylor, S., Hood, P.J. (1973). A numerical solution of the Navier-Stokes equations using the finite element technique. *Computers & Fluids*; 1(1):73-100.
34. Torres-Martínez. (2010). Biotransformación de cetonas cíclicas empleando líquidos iónicos en un biorreactor de partición. Tesis de Doctorado en Biotecnología, UAM-I
35. Torres-Martínez D., Melgarejo-Torres R, Gutiérrez-Rojas M., Aguilera-Vázquez L., Micheletti M., Lye G.J., Huerta-Ochoa S. (2009). Hydrodynamic and oxygen mass transfer studies in a three-phase (air–water–ionic liquid) stirred tank bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 45: 209–217
36. Yang Z., W. Pang. (2005). Ionic liquids: Green solvents for nonaqueous biocatalysis. *Enzyme and Microbial Technology*, 37:19-28.