



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA - IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
POSGRADO EN INGENIERIA QUIMICA

**DEGRADACION DE METANO EN
BIORREACTORES DE PARTICION DE DOS
FASES**

Tesis que presenta

M. en B. JOSÉ MARTINIANO ROCHA RIOS

Para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERÍA QUÍMICA)

Asesor: DR. SERGIO REVAH MOISEEV

Jurado Evaluador:

Presidente: DR. RAÚL MUÑOZ TORRE

UVa (España)

Secretario: DR. SERGIO REVAH MOISEEV

UAM-C (México)

Vocal: DRA. BLANCA ELENA JIMENEZ CISNEROS

IINGEN-UNAM (México)

Vocal: DR. LUIS BERNARDO FLORES COTERA

CINVESTAV-IPN (México)

Vocal: DR. JOSÉ JAVIER VALENCIA LÓPEZ

UAM-C (México)

México D.F. a 8 de Diciembre del 2010.

El Doctorado en Ingeniería Química de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT, y además cuenta con apoyo del mismo consejo.

Partes de esta tesis fueron realizadas con la colaboración de los departamentos de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente (Universidad de Valladolid, España) y de Biotecnología Ambiental (Delft University of Technology, Holanda).

Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad.

Albert Einstein

PADRES MÍOS:

*S*olo deseo expresarles, aunque sea en palabra escrita, lo que para la palabra hablada parecería complicado. Que han estado y están como siempre a mi lado, guiando mis pasos como maestros, amigos o consejeros. Que en cada acción que he realizado en la vida siempre los he consultado, quizás sin que ustedes lo imaginen siquiera; pero finalmente, siempre han sido sus consejos los que han dado una solución al menos parcial a todos mis problemas académicos, personales o existenciales. Yo sólo he proporcionado la pregunta, ¿Qué harían mis padres en una situación como esta?, la respuesta ha llegado siempre de su parte, y cuando he ignorado dicha respuesta las consecuencias me lo han cobrado con creces.

*D*ebo decirles además, que son mi mayor orgullo, que su honradez, rectitud, nobleza, serenidad, fortaleza e inteligencia sólo son una pequeña porción de atributos que podrían describirlos; reconozco que jamás podría soñar siquiera equipararme con ustedes en alguno de ellos.

*P*adres, soy tan sólo una sexta parte de los frutos que han cultivado, el más pequeño e insignificante; solo espero que a su criterio la cosecha haya sido productiva.

*T*odo lo que soy, y lo que pueda llegar a ser, es por ustedes. Agradezco infinitamente su apoyo y confianza, créanme, no los defraudaré.

Agradecimientos.

A Sergio Revah por su grandeza no sólo como investigador sino como persona, ya que gracias a su apoyo académico, moral y económico me permitió concluir satisfactoriamente mis estudios a pesar de situaciones personales muy adversas. Es un honor y privilegio trabajar contigo y más aún poder llamarte amigo.

A Raúl Muñoz por sus amplios conocimientos en el área de reactores de partición bifásicos pero sobre todo por su amistad fraternal y apoyo económico durante mi estancia en la UVa (España) proporcionado por el Ministerio Español de Educación y Ciencia a través del contrato RYC-2007-01667, así como los proyectos CTQ2009-07601 y CONSOLIDER-CSD 2007-00055.

A Bart Kraakman por su experiencia en sistemas biológicos de tratamiento de aire, su invaluable amistad así como el apoyo económico para mi estancia en TU-Delft (Holanda) proporcionado por la Organización Holandesa de Investigación Científica (NWO), Bioway International b.v., y la Universidad Tecnológica de Delft mediante el proyecto NWO-Casimir 018.002.019.

A Robbert, Michiel y Mark por sus valiosos consejos y enseñanzas durante mi estancia en TU-Delft y por su interés para futuras colaboraciones, siempre he pensado que trabajar con los mejores te hace ser mejor.

A mis hermanos Checo, Lety, Mary, Poche y Licho porque han sido un gran ejemplo a seguir de trabajo, esfuerzo y dedicación, así como a mi tía Berta y mis primos(as) Héctor, Gaby, Etelvina, Aurora y demás familiares que directa o indirectamente contribuyeron a que alcanzara esta meta.

A mis hijos José Miguel y Ángel Josué Rocha Flores porque todo lo que logre de aquí en adelante será por ustedes y les prometo recuperar todo el tiempo y todos los abrazos que no les haya brindado durante esta etapa de mi vida.

A mis amigos de la generación 2006-2008 de la Maestría en Ingeniería Química: Agustín, Alex, Dafnis, Eliseo, Ernesto, Gustavo, Luis, Matías y Vicky por haber sido mis hermanos durante un año y medio de desvelos.

A profesores, compañeros y amigos en la PPU4 y W107 de la UAM-Iztapalapa: Alma, Armando, Cristal, Gabriel, Guillermo, Juan, Marcia, Irmene, Sergio Hernández y a quienes sin querer este omitiendo con quienes he compartido grandes momentos. Así como a Guillermo Quijano y Fred Thalasso del CINVESTAV-IPN por su amistad y fructíferas colaboraciones.

A los integrantes de los departamentos de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente en la UVa (España) y de Biotecnología Ambiental en TU-Delft (Holanda) quienes me brindaron su amistad sincera y a quienes sería imposible listar en su totalidad.

Al CONACyT por la beca de doctorado número 205496 y el apoyo del proyecto con número de registro 50026.

Índice general.

Resumen	(1)
1. Introducción.	(5)
1.1 El metano como contaminante atmosférico y gas de efecto invernadero.	(5)
1.2 Biodegradación de metano.	(8)
1.3 Sistemas de partición de dos fases.	(11)
1.4 Incrementando la transferencia de masa en biorreactores.	(14)
1.5 Consumos de energía en biorreactores.	(17)
2. Definición del problema y justificación.	(20)
3. Hipótesis y objetivos.	(21)
3.1 Hipótesis.	(21)
3.1 Objetivo general.	(21)
3.3 Objetivos particulares.	(21)
4. Presentación de resultados y alcances de la tesis.	(23)
5. Demostración de concepto. Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.	(25)
5.1 Resumen.	(25)
5.2 Objetivo del estudio.	(25)
5.3 Materiales y métodos.	(26)
5.4 Resultados y discusión.	(29)
5.5 Conclusiones.	(33)
6. Efecto de la fracción de aceite de silicón y la velocidad de agitación sobre la degradación de metano en un reactor de tanque agitado.	(34)
6.1 Resumen.	(34)
6.2 Objetivo del estudio.	(35)
6.3 Fundamentos teóricos.	(35)
6.4 Materiales y métodos.	(39)
6.5 Resultados y discusión.	(41)
6.6 Conclusiones.	(49)
7. Efecto de la fracción de aceite de silicón y la velocidad de recirculación del líquido sobre la degradación de metano en un reactor de lecho escurrido.	(50)
7.1 Resumen.	(50)
7.2 Objetivo del estudio.	(50)

7.3 Materiales y métodos.	(50)
7.4 Resultados y discusión.	(52)
7.5 Conclusiones.	(55)
8. Biodegradación de metano en un reactor airlift de tubo concéntrico con dos fases de partición y recirculación del gas.	(56)
8.1 Resumen.	(56)
8.2 Objetivo del estudio.	(57)
8.3 Materiales y métodos.	(57)
8.4 Resultados y discusión.	(64)
8.5 Conclusiones.	(75)
9. Incrementando la degradación de metano en un biorreactor capilar con dos fases de partición.	(76)
9.1 Resumen.	(76)
9.2 Objetivo del estudio.	(77)
9.3 Materiales y métodos.	(77)
9.4 Resultados y discusión.	(81)
9.5 Conclusiones.	(90)
10. Contribuciones adicionales de la investigación doctoral (colaboraciones).	(92)
10.1 Determinando el efecto de vectores sólidos y líquidos sobre el área interfacial gaseosa y las velocidades de transferencia de oxígeno en biorreactores de partición de dos fases.	(92)
10.2 Transferencia de masa y tratamiento biológico de gases.	(93)
11. Discusión general y perspectivas.	(94)
11.1 Discusión general.	(94)
11.2 Conclusiones generales.	(101)
11.3 Perspectivas.	(103)
12. Referencias.	(105)
13. Apéndices.	(112)
13.1 Publicaciones.	(112)
13.2 Presentaciones en congresos.	(136)
13.3 Información curricular del autor.	(137)

Lista de tablas.

Tabla 1.1	Definiciones de carga del contaminante (L), conversión (X) y capacidad de eliminación (CE) usadas en la Tabla 1.2.	(9)
Tabla 1.2	Experimentos sobre biofiltración de metano reportados por diversos autores (tomada de Nikiema y col., 2007).	(9)
Tabla 1.3	Características y propiedades de varios sistemas convencionales de una fase usados para eliminación de COVs.	(13)
Tabla 1.4	Características y propiedades de varios sistemas de partición de dos fases (BPDFs) usados para eliminación de COVs.	(13)
Tabla 5.1	Variables de desempeño en el RTA y RLE con y sin vector de transferencia.	(29)
Tabla 6.1	Propiedades promedio y números de Reynolds (Re) usados para estimaciones del consumo de energía específico de agitación (P_g/V_L) en el RTA.	(45)
Tabla 6.2	Eficiencias de remoción (ER), capacidades específicas de eliminación de CH_4 (CE_{esp}) y velocidades específicas de producción de CO_2 (RCO_{2esp}) en el RTA.	(48)
Tabla 7.1	Velocidades de recirculación del líquido (F_{RL}) y fracciones del vector de transferencia (θ) analizadas durante la biodegradación continua de metano en el RLE.	(52)
Tabla 8.1	Velocidades de recirculación del gas (F_{RG}) y fracciones del vector de transferencia (θ) analizadas durante la biodegradación continua de metano en el RAL.	(62)
Tabla 8.2	Coefficientes de partición (K), toxicidad y biodegradabilidad de los vectores de transferencia.	(64)
Tabla 9.1	Flujos de gas (G) y líquido (L), presencia de flujo de Taylor en el sistema, y fracción de aceite (θ) durante los experimentos de biodegradación de metano en el RC.	(80)
Tabla 9.2	Velocidades promedio obtenidas durante los experimentos de biodegradación de metano en el RC.	(86)

Lista de figuras.

- Figura 1.1** Coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$, s^{-1}) como función del consumo de energía en el sistema (P/V , $W m^{-3}$) para contactores turbulentos [tanques agitados (\circ) y columnas burbujeadoras (\square)] y laminares [monolitos (\bullet)] (tomada de Kreutzer y col., 2005b). (19)
- Figura 5.1** Biomasa, capacidad de eliminación y producción de CO_2 específicas en el RTA y RLE durante la operación estacionaria con y sin adición de aceite de silicón. (31)
- Figura 6.1** Efecto del consumo de energía específico de agitación (P_g/V_L) sobre el $k_L a_{O_2}$ abiótico en el RTA para agua de grifo con: 0% de S200 ($-\diamond-$), 0% de S200 con $3 g L^{-1}$ de células inactivas ($- \times -$), 5% de S200 ($-\blacksquare-$) y 10% de S200 ($-\blacktriangle-$). (42)
- Figura 6.2** Efecto de la fracción de aceite de silicón (ϕ) sobre el $k_L a_{O_2}$ abiótico en el RTA a 200 ($-\diamond-$), 500 ($-\blacksquare-$) y 800 rpm ($-\blacktriangle-$). (44)
- Figura 6.3** Efecto de la fracción de aceite de silicón (ϕ) sobre el consumo de energía específico de agitación (P_g/V_L) en el RTA para 200 ($-\diamond-$), 500 ($-\blacksquare-$) y 800 rpm ($-\blacktriangle-$). (45)
- Figura 6.4** Evoluciones de la CE ($-\diamond-$) y RCO_2 ($-\blacksquare-$) en el RTA operado a diferentes fracciones de aceite de silicón y velocidades de agitación. (46)
- Figura 7.1** Evoluciones de CE ($-\diamond-$) y RCO_2 ($-\blacksquare-$) en el RLE operado a diferentes fracciones de aceite de silicón y velocidades de recirculación del líquido. (53)
- Figura 8.1** Ilustración esquemática del RAL. (61)
- Figura 8.2** Evolución en las concentraciones de CH_4 ($-\circ-$), O_2 ($-\diamond-$), CO_2 ($-\Delta-$) y X ($-\square-$) durante el experimento de biodegradación en botellas. El círculo cerrado ($-\bullet-$) representa la concentración de metano en las botellas control (sin células). (67)
- Figura 8.3** Influencia de la velocidad de recirculación del gas sobre $k_L a$ abiótico en el RAL con 10% de S200 ($-\square-$), 10% de D9370 ($-\Delta-$) y sin vector de transferencia ($-\diamond-$). (69)
- Figura 8.4** Evoluciones de la L ($-\Delta-$), la CE ($-\square-$) y RCO_2 ($-\circ-$) en el RAL operado a diferentes fracciones del vector de transferencia y velocidades de recirculación del gas. (71)
- Figura 9.1** Sistema experimental RC. (79)
- Figura 9.2** Velocidades superficiales de gas (U_{sg}) y líquido (U_{sl}) donde el flujo de Taylor (\diamond) u otros tipos de flujo (\square) fueron obtenidos en el capilar acrílico con 3 mm de diámetro interno. (82)
- Figura 9.3** Determinaciones abióticas de $k_L a$ en el sistema completo (\square), el separador gas-líquido (\square) y el capilar (\square) para dos flujos de Taylor y dos fracciones de S100 por el método del sulfito. (83)
- Figura 9.4** Características del flujo de Taylor para: a) $L=42.8$, $G=20$ y $\theta=0$; b) $L=42.8$, $G=20$ y $\theta=10\%$; c) $L=42.8$, $G=70$ y $\theta=0$; d) $L=42.8$, $G=70$ y $\theta=10\%$. (83)
- Figura 9.5** Evolución de las concentraciones de CH_4 ($-\circ-$), O_2 ($-\diamond-$) and CO_2 ($-\Delta-$) durante los experimentos de biodegradación de metano en el RC. (86)
- Figura 9.6** Dimensiones de la burbuja y slug para: a) $L=77.3$, $G=50$ y $\theta=0$; b) $L=77.3$, $G=150$ y $\theta=0$; c) $L=77.3$, $G=150$ y $\theta=5\%$; d) Biomasa adherida (fin del experimento con $\theta=5\%$); y e) biomasa preadaptada ($L=77.3$, $G=150$ y $\theta=10\%$). (89)

Resumen.

En este trabajo, se estudió el efecto de la adición de un vector de transferencia (aceite de silicón) sobre la degradación de metano por un consorcio metanótrofo en cuatro configuraciones de reactor; dos contactores turbulentos (tanque agitado, RTA y airlift, RAL) y dos contactores laminares (lecho escurrido, RLE y capilar, RC). Una parte importante del trabajo se empleó en investigar el efecto de la adición del vector sobre el incremento en el coeficiente volumétrico de transferencia de masa abiótico (k_La) en los diversos sistemas, comparando dicho efecto con el de otras variables propias de cada sistema, cuyo incremento puede aumentar también k_La (velocidad de agitación en el RTA, flujo de recirculación del líquido en el RLE, flujo de recirculación del gas en el RAL y flujo de recirculación de gas en el flujo de Taylor producido en el RC). La otra parte fundamental sobre la que se centró esta investigación fue analizar el efecto de la adición del vector y las variables propias consideradas en cada sistema sobre la degradación de metano por el consorcio metanótrofo.

En el RTA operado a una carga volumétrica de metano de $65 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, se obtuvo una mejora máxima del 50% (de 33 a $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) en la degradación de metano debido al incremento en la fracción del vector (de 0 a 10% v/v) a una velocidad de agitación de 800 rpm. A su vez, el máximo incremento en biodegradación de metano debido al incremento en la velocidad de agitación (de 200 a 800 rpm) fue del 700% (de 6 a $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) cuando la fracción del vector fue fijada en 10% (v/v). Ambos, la adición del vector y el incremento en la velocidad de agitación mostraron también incrementar k_La en este biorreactor turbulento. Los resultados indican que la principal variable que contribuyó a la transferencia de masa y consecuentemente a la degradación de metano fue la velocidad de agitación en el sistema, mientras que el efecto de la adición de aceite sólo fue apreciable por encima de 200 rpm, indicando la importancia del grado de dispersión del vector y la hidrodinámica del sistema.

En el RLE operado a una carga volumétrica promedio de metano de $144 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y un flujo de recirculación del líquido de $175 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}$, se determinó un incremento máximo en

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

degradación de metano de 131% (de 22 a 51 g m⁻³ h⁻¹) debido a la adición de 10% (v/v) del vector. Sin embargo, cuando la carga volumétrica promedio de metano fue sólo 74 g m⁻³ h⁻¹ no hubo efecto de la adición del vector (5 y 10% v/v) ni del incremento en la velocidad de recirculación del líquido a 275 mL min⁻¹ L_{emp}⁻¹ sobre la biodegradación de metano en este sistema. Una revisión de la literatura indicó que otros autores han reportado comportamientos similares en biofiltros donde el efecto del vector es despreciable a bajas cargas volumétricas del contaminante pero apreciable a cargas mayores.

En el RAL, el aumento en la velocidad de recirculación del gas de 0 a 1 vvm incrementó la degradación de metano un 47% (de 12 a 18 g m⁻³ h⁻¹). Sin embargo, a 1 vvm de recirculación no se apreció un efecto de la adición del 10% (v/v) del vector sobre la degradación de metano en el sistema, aún cuando la misma fracción del vector incrementó 100% el k_{La} abiótico durante determinaciones previas a dicho flujo de recirculación (1 vvm). Los resultados obtenidos sugieren que el sistema estuvo limitado por transferencia de masa sin recirculación, y limitado por la reacción biológica a 1 vvm. No obstante, experimentos adicionales son requeridos para clarificar este hallazgo particular, ya que muestras de biomasa tomadas del reactor para cinéticas de degradación de metano en botellas (por lote) presentaron velocidades de degradación superiores a las medidas en el RAL indicando una mayor capacidad degradatoria de los microorganismos. Otro aspecto adicional que debe ser estudiado en este sistema es la dispersión del vector ya que incluso a 1 vvm se observaron aglomerados de aceite entre el tubo concéntrico de flujo ascendente (riser) y el de flujo descendente (downcomer) que no recirculaban con el líquido.

En el RC, el incremento tanto de la fracción de aceite como del flujo de Taylor) incrementaron la biodegradación de metano. La máxima degradación de metano en el sistema capilar operado en lote fue de 2.8 g m⁻³ h⁻¹, que si se escala a un monolito de 250 canales capilares en continuo equivaldría a una capacidad de eliminación de hasta 125 g m⁻³ h⁻¹ que es más alta que la obtenida en el RTA pero con un consumo de energía menor.

Abstract.

In this work, the effect of a transfer vector addition (silicone oil) on methane biodegradation by a methanotrophic consortium was studied in four reactor's configurations, two turbulent contactors (stirred tank, STR and airlift, ALR) and two laminar contactors (trickling bed, TBR and capillary, CR). An important part of work was focused on to investigate the effect of the vector addition on the increase in the abiotic volumetric mass transfer coefficient (k_La) in the different systems considered, comparing this effect with the effects of increasing other own variables in each system, which may also increase k_La (stirring rate in STR, liquid flow recirculation in TBR, gas flow recirculation in ALR and gas flow recirculation in the Taylor flow produced in the CR). The other key part of this research was focused on the elucidation of the effect of oil addition and the own variables in each system on the methane biodegradation by the methanotrophic consortium.

In the STR, the maximum increase in methane degradation due to the increase in silicone oil fraction (from 0 to 10% v/v) was 50% at a stirring rate of 800 rpm, while the maximum increase in methane biodegradation due to the increase in stirring rate (from 200 to 800 rpm) was 700% when the oil fraction was fixed in 10% (v/v). Both, the presence of a vector and the increase in stirring rate also showed increasing k_La in this turbulent contactor. The results indicate that the main variable contributing to the mass transfer and consequently to the methane degradation was the stirring rate in this system, while the effect of the oil addition was only noticeable above 200 rpm indicating the importance of the vector's dispersion degree and the system hydrodynamics.

In the TBR, a maximum increase in methane degradation of 131% was obtained with the silicone oil addition (10% v/v) compared to a control system without a transfer vector during a first study with a liquid flow recirculation fixed in $175 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{pack}}^{-1}$ and an average volumetric methane load of $144 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. However, in a second study where the average volumetric methane load was only $74 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, no effect mediated by the addition of silicone oil (5 and 10% v/v) or by

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

increasing the liquid recirculation flow at $275 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{pack}}^{-1}$ on the biodegradation of methane in this system was observed. Other authors have reported similar behaviors in biofilters where the silicone oil effect was negligible at low pollutant's volumetric loads but notable at higher pollutant loads.

In the ALR, the increase in the gas recirculation up to 1 vvm increased the methane degradation by 47% from $12 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ to $18 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$; nevertheless, with a gas recirculation flow of 1 vvm none effect of the silicone oil addition (10% v/v) on methane degradation was observed in the system, even when the measured k_{LA} was increased with the vector addition at the same gas recirculation flow. The obtained results suggest that the system was limited by mass transfer without recirculation, and limited by the biological reaction at 1 vvm but additional experiments must be done to clarify this particular finding since biomass samples taken from the reactor to performance methane degradation kinetics in bottles (batch) showed degradation rates higher than those measured in the ALR. Another additional aspect to be considered is the vector dispersion in this system because even at 1 vvm oil's agglomerates not recirculating with the liquid were observed in the space between the riser and downcomer.

In the CR, the increase of both variables (oil fraction and Taylor flow) increased the methane biodegradation. The maximum methane degradation obtained during the batch degradation experiments in the capillary system was $2.8 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ which being extrapolated to a monolith package with 250 capillaries would produce a continuous methane elimination capacity of $125 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ which is higher than that obtained in the STR but with lower power consumption.

1. Introducción.

1.1. Metano como contaminante atmosférico y gas de efecto invernadero.

El aire es uno de los factores determinantes de la vida en la Tierra, diariamente todos los organismos dependemos de esta mezcla de gases. Nuestros pulmones filtran alrededor de 15 kg de aire atmosférico al día. El hombre en todo momento de su historia, ha emitido materiales que pueden considerarse como contaminantes atmosféricos (humo, vapores y partículas). Es a partir del desarrollo industrial que esta acción adquiere proporciones considerables, no sólo por la cantidad de contaminantes que llegan al aire, sino por la naturaleza y toxicidad de éstos. El conocimiento de los efectos nocivos que tienen estos contaminantes sobre el ambiente y la salud del hombre, ha obligado a las autoridades a desarrollar legislaciones estrictas en cuanto a la composición de los efluentes gaseosos. La meta a corto plazo es lograr que los procesos que producen dichos efluentes puedan ser modificados para disminuir la concentración de los contaminantes mediante sistemas de control. Los métodos fisicoquímicos convencionales de tratamiento (columnas de absorción, adsorción sobre carbón activado, oxidación catalítica e incineración térmica) han constituido sólo una solución parcial al problema de eliminación de contaminantes gaseosos debido a ciertas desventajas inherentes: *a)* los oxidantes químicos son costosos y en algunos casos peligrosos, *b)* en columnas de absorción o adsorción el contaminante sólo se transfiere de una fase a otra y queda el problema de disposición del agua o del carbón activado (este último requiere regeneración periódica), y *c)* en varias de éstas tecnologías se necesita un elevado consumo de agua, energía y combustibles, lo que lleva asociado altos costos de instalación y mantenimiento. Sin embargo, los métodos fisicoquímicos en algunos casos constituyen la única opción para el control de ciertas emisiones.

Una consecuencia directa de la emisión de contaminantes a la atmósfera es el calentamiento global del planeta. El Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC por sus siglas en

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

inglés), espera un aumento de la temperatura global del planeta entre 1.8 y 6.4 °C para el año 2100 (IPCC cuarto reporte de evaluación, 2007). El efecto invernadero es el principal responsable de los cambios climáticos y es provocado porque ciertas fracciones de radiación reflejadas por la superficie del planeta son retenidas por algunos gases presentes en la atmósfera, provocando la acumulación calorífica. El efecto invernadero siempre ha existido, de hecho este efecto hace que la temperatura promedio del planeta se mantenga templada. No obstante, con la creciente actividad industrial, los gases de efecto invernadero han venido acumulándose en la atmósfera provocando incrementos anuales en la temperatura troposférica que anteriormente se presentaban en décadas o incluso en siglos. Ante tal situación, los gobiernos del mundo han reconocido a este fenómeno como un problema fundamental de la humanidad tal como lo mencionaron textualmente durante la convención sobre cambio climático celebrada en Copenhague Dinamarca: “Hacemos hincapié en que el cambio climático es uno de los mayores desafíos de nuestro tiempo” (Copenhagen Accord, 2009).

El metano es un gas de efecto invernadero que contribuye 23 veces más que el CO₂ (a la misma concentración) al calentamiento global del planeta. Las emisiones de metano a la atmósfera constituyen 23% del total mundial de emisiones de gases con efecto invernadero sólo superadas por el CO₂ con un 70% (USEPA, 2006). Las principales fuentes de emisión de metano son por orden de importancia los rellenos sanitarios, las industrias del gas natural y petróleo, la actividad microbiana metanogénica proveniente directa o indirectamente de la ganadería, la quema de biomasa, la descomposición anaerobia de aguas residuales y los efluentes de las minas de carbón (USEPA, 1999). La concentración atmosférica de metano se incrementó desde un valor preindustrial de casi 0.715 ppm en el año de 1800 a 1.732 ppm al inicio de los 90's y alcanzó 1.774 ppm en 2005 (IPCC cuarto reporte de evaluación, 2007). Aunque el nivel de metano en la atmósfera es mucho menor en comparación al CO₂ (1.774 ppm vs. 379 ppm), su concentración actual está aumentando al doble de

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

la velocidad que el CO₂ y su persistencia promedio en la atmósfera es de 12 años (Scheehle y col., 2002). La problemática del calentamiento global ha orillado a los gobiernos del mundo a establecer políticas comunes para el tratamiento de las emisiones de gases con efecto invernadero. El protocolo de Kyoto (1997) exhorta a los países a reducir en 5% para el año 2012, sus emisiones de gases con efecto invernadero con respecto a los niveles de los 90's.

Una importante fuente de emisiones de metano con una concentración variable del 30 al 70% (v/v) es el biogás generado por ejemplo en rellenos sanitarios (Humer y Lechner, 1999; Nikiema y col., 2007). El empleo de metano a partir de emisiones de biogás para producción de energía es sólo factible cuando la concentración de metano es mayor de 30% v/v (durante los primeros 25 años de un relleno sanitario) y los flujos superan los 50 m³ h⁻¹ (Haubrichs y Widmann, 2006). Flujos de biogás entre 10 y 15 m³ h⁻¹ con concentraciones de metano superiores al 20%, se pueden quemar en mecheros (Haubrichs y Widmann, 2006). Sin embargo, la combustión de biogás por debajo de dichas concentraciones y flujos no es económicamente viable, como en el caso de las emisiones de biogás producidas por pequeños o viejos rellenos sanitarios, digestores anaerobios, alcantarillas, etc.

La oxidación biológica es una buena alternativa para reducir las emisiones atmosféricas de metano si la concentración está por debajo de su límite de explosividad en aire (5% v/v) (Du Plessis y col., 2003; Nikiema y col., 2007). Es realizada mediante un grupo de bacterias aerobias llamadas metanótrofas que pueden utilizar el metano como fuente de carbono y de energía (Hanson y Hanson, 1996).

1.2. Biodegradación de metano.

Una limitante de los sistemas biológicos se presenta cuando se tratan corrientes con altas concentraciones de contaminantes muy solubles (hidrofílicos) como el etanol que pueden ser tóxicas para los microorganismos, o cuando se tratan bajas concentraciones de compuestos poco solubles (hidrofóbicos) como el hexano que no están disponibles para los microorganismos en la fase acuosa produciendo bajas tasas de degradación (Van Groenestijn y Hesselink, 1993; Kennes y Veiga, 2001). Los compuestos poco solubles exhiben altos coeficientes de partición mientras que los compuestos muy solubles presentan valores bajos ($K = C_G/C_L$), así por ejemplo hexano y etanol presentan valores de 74 y 0.0002 respectivamente (Sander, 1999). En el caso particular de metano con $K = 33.5$ a 30 °C (similar al O₂ con un $K = 31.2$) la biofiltración ha sido extensamente utilizada para aplicaciones de tratamiento de aire. Nikiema y col. (2007) publicaron una revisión completa sobre el tema. Sin embargo, la principal desventaja para la biofiltración de metano han sido los largos tiempos de residencia del gas que oscilan de varios minutos a horas requeridos para obtener biodegradaciones aceptables (Du Plessis y col., 2003; Nikiema y col., 2007) que contrastan con los tiempos de residencia típicos para la remoción de compuestos orgánicos volátiles (COVs) reportados entre 30 y 120 segundos (Shareefdeen y Singh, 2005). Los tiempos de residencia más largos requeridos para la biofiltración de metano son una consecuencia de subaja solubilidad en agua, y como los microorganismos requieren para su supervivencia de un entorno acuoso, el desempeño de los biofiltros para degradación de metano ha sido generalmente pobre debido a limitaciones por transferencia de masa a la fase acuosa, donde todas las reacciones biológicas toman lugar (Mohseni y Allen, 2000).

En la Tabla 1.2 (tomada de Nikiema y col., 2007) se presentan los resultados de biofiltración de metano obtenidos por diversos autores y en la Tabla 1.1 se definen las variables reportadas en la Tabla 1.2.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Tabla 1.1 Definiciones de carga del contaminante (L), conversión (X) y capacidad de eliminación (CE) usadas en la Tabla 1.2.	
L : Carga de contaminante volumétrica (g m ⁻³ d ⁻¹)	$L = \frac{F_G}{V_R} (C_{CH_4,0}^G)$
L : Carga de contaminante superficial (g m ⁻² d ⁻¹)	$L = \frac{F_G}{A_S} (C_{CH_4,0}^G)$
ER : Eficiencia de remoción (%)	$ER = \frac{C_{CH_4,0}^G - C_{CH_4}^G}{C_{CH_4,0}^G} * 100$
CE: Capacidad de eliminación (g m ⁻³ d ⁻¹ ó g m ⁻² d ⁻¹)	$CE = L \left(\frac{X}{100} \right)$
TRLV: Tiempo de residencia de lecho vacío (h)	$TRLV = \frac{V_R}{F_G}$

Dónde F_G es el flujo volumétrico del gas, V_R es el volumen del reactor, A_S es la sección transversal del lecho en el biofiltro y $C_{CH_4}^G$ es la concentración de metano en el gas.

Tabla 1.2. Experimentos sobre biofiltración de metano reportados por diversos autores (tomada de Nikiema y col., 2007).				
Lecho del biofiltro	Condiciones de operación	L	CE	Autores
Composta y tierra Arcilla y tierra de relleno sanitario Tierra y arena Tierra	Aireado por arriba, mezcla 45% v/v CH ₄ , 45% v/v CO ₂ , condiciones óptimas de humedad.	202 g m ⁻² d ⁻¹	80-90 g m ⁻² d ⁻¹ 40-50 g m ⁻² d ⁻¹ 15-20 g m ⁻² d ⁻¹ 5-7 g m ⁻² d ⁻¹	Bajic y Zeiss (2001)
Multicapas: Composta + arena	Aireado por arriba, mezcla 50% v/v CH ₄ , 50% v/v CO ₂	288 g m ⁻² d ⁻¹	164-283 g m ⁻² d ⁻¹	Berger y col. (2005)
Tierra agrícola Tierra de relleno sanitario		214 g m ⁻² d ⁻¹ 368 g m ⁻² d ⁻¹	171 g m ⁻² d ⁻¹ 240 g m ⁻² d ⁻¹	De Visscher y col. (1999)
Composta de corteza de pino	Aireado en el fondo	< 420 g m ⁻² d ⁻¹ TRLV > 0.85 h	ER ≥ 70%	Du Plessis y col. (2003)
Multicapas: Humus, arena, grava y arcilla	Biofiltro abierto escala piloto	0-6000 g m ⁻³ d ⁻¹	≤ 1900 g m ⁻³ d ⁻¹ ER = 62% (anual)	Gebert y Groengroeft (2006)
Composta	Aireado en el fondo (3 niveles entrada de aire) Mezcla 30% v/v CH ₄ , 70% v/v CO ₂	590 g m ⁻² d ⁻¹	530-590 g m ⁻² d ⁻¹	Haubrichs y Widmann (2006)
Bolitas de papel reciclado		105 g m ⁻² d ⁻¹	47 g m ⁻² d ⁻¹	
Composta + bolitas de papel reciclado		105-485 g m ⁻² d ⁻¹	47 g m ⁻² d ⁻¹	
Composta y trocitos de madera		485 g m ⁻² d ⁻¹	475 g m ⁻² d ⁻¹	
Composta de hojas Composta de residuos municipales Composta de residuos de jardín Composta de trocitos de madera	Aireado por arriba CH ₄ puro, 99% v/v	500 g m ⁻² d ⁻¹	325-400 g m ⁻² d ⁻¹ 200-250 g m ⁻² d ⁻¹ 200-250 g m ⁻² d ⁻¹ < 50 g m ⁻² d ⁻¹	Hettiaratchi y Stein (2001); Wilshusen y col. (2004)
Turba	Aireado por arriba, humedad óptima	160-320 g m ⁻² d ⁻¹	< 186 g m ⁻² d ⁻¹	Hettiaratchi y col. (2000)
Tierra 1 (arena 70%, arcilla 15%, silica 15%)	Aireado por arriba, mezcla 60% v/v CH ₄ , 40% v/v CO ₂	95 g m ⁻² d ⁻¹ 345 g m ⁻² d ⁻¹	62 g m ⁻² d ⁻¹ 121 g m ⁻² d ⁻¹	
Tierra 2 (arena 70%, arcilla 25%, silica 5%)		95 g m ⁻² d ⁻¹ 435 g m ⁻² d ⁻¹	49 g m ⁻² d ⁻¹ 87 g m ⁻² d ⁻¹	

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Tabla 1.2. Experimentos sobre biofiltración de metano reportados por diversos autores (continuación).				
Lecho del biofiltro	Condiciones de operación	L	CE	Autores
Tierra de relleno sanitario	Aireado por arriba, contenido de agua 15% p/p, mezcla 50% v/v CH ₄ , 50% v/v CO ₂	281 g m ⁻² d ⁻¹	125-140 g m ⁻² d ⁻¹ (máxima) 42-55 g m ⁻² d ⁻¹ (operación estable)	Hilger y col. (2000a,b)
Composta fresca	Aireado por arriba, temperatura: 18°C	135-170 g m ⁻² d ⁻¹ $F_G = 4-5 \text{ mL min}^{-1}$	ER = 60% días 25-50 ER = 100% después de 55 días ER = 100% después de 15 días ER = 30-40% días 10-50	Humer y Lechner (1999)
Composta madura				
Composta de residuos municipales	Aireado por arriba, temperatura: 18-20°C	235 g m ⁻² d ⁻¹	188 g m ⁻² d ⁻¹	Humer y Lechner (2001)
Composta de lodos activados		$F_G = 4-7 \text{ mL min}^{-1}$	175-190 g m ⁻² d ⁻¹	
Tierra			82 g m ⁻² d ⁻¹	
Tierra de relleno sanitario			95 g m ⁻² d ⁻¹	
Tierra de jardín			175 g m ⁻² d ⁻¹	
Composta madura	In situ	2400 L _{biogás} m ⁻² d ⁻¹	ER = 100%	Hupe y col. (1998)
Composta de material inorgánico	Aireado por el fondo 7000-7500 ppmv CH ₄	1700 g m ⁻² d ⁻¹	700 g m ⁻² d ⁻¹ 300 g m ⁻² d ⁻¹	Nikiema y col. (2004)
Tierra	Aireado por arriba, CH ₄ puro, condiciones óptimas	525 g m ⁻² d ⁻¹	435 g m ⁻² d ⁻¹	Park y col. (2002)
Tubos de vidrio	Aireado en el fondo Percolación (0.25-1.0% v/v CH ₄)	200 g m ⁻² d ⁻¹ 750 g m ⁻² d ⁻¹	ER = 96-98% ER = 27-28%	Sly y col. (1993)
Turba	Aireado por arriba	320 g m ⁻² d ⁻¹	96-120 g m ⁻² d ⁻¹	Stein y Hettiaratchi (2001)
Tierra de relleno sanitario	CH ₄ puro	320 g m ⁻² d ⁻¹	64-130 g m ⁻² d ⁻¹	
Tierra agrícola	Contenido de humedad 10% p/p	310 g m ⁻² d ⁻¹	93-155 g m ⁻² d ⁻¹	
Composta + material de relleno sanitario	Biofiltro abierto in situ	18500-42800 g m ⁻³ d ⁻¹	ER ≥ 90%	Straka y col. (1999)
Composta	Biofiltro abierto de escala comercial	288-3120 g m ⁻³ d ⁻¹	1500 g m ⁻³ d ⁻¹ 960 g m ⁻³ d ⁻¹	Streese y Stegmann (2003)
Composta + turba + fibras de madera			720 g m ⁻³ d ⁻¹	
Multicapas	Biofiltro abierto de escala comercial	288-3120 g m ⁻³ d ⁻¹	960 g m ⁻³ d ⁻¹ 480 g m ⁻³ d ⁻¹	
Composta				
Composta + turba + fibras de madera				
Tierra 1	Aireado por arriba, mezcla	Variable	40-100 g m ⁻² d ⁻¹	Visvanathan y col. (1999)
Tierra 2	60% CH ₄ , 40% CO ₂ (v/v)		75-100 g m ⁻² d ⁻¹	

Del total de 50 experimentos considerados en la Tabla 1.2, un 80% reportó capacidades de eliminación entre 5 y 200 g m⁻² d⁻¹, 5 trabajos reportaron valores entre 200 y 350 g m⁻² d⁻¹ y sólo 5 reportan valores superiores a 350 g m⁻² d⁻¹. Lo anterior implica que en general las capacidades de eliminación de metano obtenidas en estos sistemas son bajas en comparación a otros COVs más

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

solubles en agua como etanol, acetona y tolueno. Los soportes de biofiltración más adecuados para biofiltración de metano han sido de tipo inorgánico y compostas (Tabla 1.2).

Como una estrategia para alcanzar mayores capacidades de eliminación de metano en sistemas biológicos, en este trabajo proponemos la adición de una fase orgánica más compatible por el contaminante (y el oxígeno) que el agua, con la finalidad de incrementar su solubilidad y disponibilidad para los microorganismos.

1.3 Sistemas de partición de dos fases.

La adición de fases orgánicas inmiscibles a reactores biológicos se utilizó a partir de los 70's tanto para la extracción de productos como los antibióticos del medio de cultivo (Ratledge, 1977), como para la bioconversión de sustratos tóxicos a productos de interés comercial (Wubbolts y col., 1996). Posteriormente, se ha aplicado esta tecnología para el tratamiento de contaminantes en fase líquida (Guieysse y col., 2001) y en fase gas (Yeom y Daugulis, 2000; Davison y Daugulis, 2003; Arriaga y col., 2006). La fase orgánica mejora la transferencia del contaminante hidrófobo y el oxígeno a las células y puede también reducir la exposición a concentraciones inhibitorias de compuestos más solubles como tolueno, ya que la mayor parte del contaminante puede acumularse en dicha fase para posteriormente difundirse a la fase acuosa conforme es requerido por los microorganismos mediante el equilibrio termodinámico (Muñoz y col., 2007). Los biorreactores complementados con la fase orgánica son llamados de forma genérica biorreactores de partición de dos fases (BPDFs) y la fase orgánica es conocida como *vector de transferencia*. Los BPDFs han mostrado mejorar las remociones de tolueno (Daugulis y Boudreau, 2003) y hexano (Arriaga y col., 2006), la velocidad de transferencia de oxígeno (Cesário y col., 1997; Quijano y col., 2009; Rocha-Rios y col., 2010a), así como mejorar el desempeño bajo condiciones transitorias (Déziel y col., 1999; Muñoz y col., 2007). Tradicionalmente las fases orgánicas han sido líquidas; los aceites de silicón, hidrocarburos de cadena larga como tetradecano o hexadecano y fluorocarbonos como $C_{10}F_8$ han sido las más utilizadas (Muñoz y col., 2007).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

El aceite de silicón, el cual no es biodegradable, ha favorecido consistentemente la capacidad de eliminación de diversos compuestos hidrofóbicos (Arriaga y col., 2006, Muñoz y col., 2007) sin efectos tóxicos para los microorganismos. Sin embargo, el aceite de silicón presenta ciertas desventajas como vector de transferencia, ya que es relativamente caro (Quijano y col., 2010a) y su recuperación del medio de cultivo puede ser complicada debido a la formación de emulsiones estabilizadas por surfactantes y/o emulsificantes producidos por los microorganismos (McLeod y Daugulis, 2005) lo que encarece el proceso.

Trabajos recientes (Amsden y col., 2003; Daugulis y col., 2003; Prpich y Daugulis, 2004 y 2005) han mostrado que la fase orgánica líquida puede ser reemplazada por polímeros sólidos (plásticos) particulados. Una ventaja de usar el polímero es que no puede ser degradado por los microorganismos como sí puede serlo por ejemplo el tetradecano. En otros trabajos (Schumack y Chow, 1987; David y col., 1989; El-Shahawi, 1994) se ha demostrado que los polímeros absorben moléculas de interés poco solubles de forma análoga a los solventes orgánicos. Algunas ventajas adicionales de emplear polímeros plásticos como fase orgánica en biorreactores son: su completa recuperación desde la fase líquida para su reutilización (Amsden y col., 2003); pueden ser adaptados y/o modificados mediante selección de monómeros, funcionalización, copolimerización, ligamiento cruzado y procesado polimérico para adecuar sus propiedades de sorción y desorción a distintos contaminantes (Prpich y Daugulis, 2004), y finalmente, algunos de ellos como el tereftalato de polietileno (PET) o el Nylon son hasta cien veces más económicos que los solventes líquidos (Daugulis y Boudreau, 2003; Amsden y col., 2003; Prpich y Daugulis, 2004). Los principales inconvenientes de los polímeros sólidos es que las difusividades de los contaminantes gaseosos a través de ellos son en general un orden de magnitud inferior que en los líquidos así como los elevados consumos de energía de agitación para distribuirlos homogéneamente en el seno del líquido.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

En las Tablas 1.3 y 1.4 (tomadas de Muñoz y col., 2007) se presentan algunos trabajos en donde la adición del vector ha incrementado la degradación biológica de COVs de baja solubilidad con respecto a sistemas convencionales de una fase.

Tabla 1.3. Características y propiedades de varios sistemas convencionales de una fase usados para eliminación de COVs.

Biorreactor	Microorganismo	L^a	[COV] ^b	ER ^c	CE ^d	Referencia
Benceno						
Biofiltro de composta	Consortio bacteriano	25	0.4	81	20	Zilli y col. (2005)
Biofiltro de Turba	<i>Pseudomonas</i> sp.	30	0.5	85	26	Zilli y col. (2004)
Tolueno						
Biorreactor air-lift	<i>Pseudomonas putida</i>	35	15	100	35	Harding y col. (2003)
Columna de burbujeo	Consortio bacteriano	30	10	97	29	Neal y Loehr (2000)
Biofiltro composta y perlita	Consortio bacteriano	29	0.8	97	28	Neal y Loehr (2000)
Biofiltro empaque cerámico	Consortio bacteriano	46	0.8	100	46	Song y Kinney (2005)
Biorreactor de membrana	<i>Pseudomonas</i> sp.	238	3.2	84	198	Jacobs y col. (2004)
Biofiltro fúngico	<i>Scedosporium apiospermum</i>	255	6	98	250	García-Peña y col. (2001)
Hexano						
Biofiltro fúngico	<i>Aspergillus niger</i>	100	4	100	50	Spigno y col. (2003)
Biofiltro fúngico (perlita)	<i>Fusarium solani</i>	160	3	66	100	Arriaga y Revah (2005)
Biofiltro bacteriano	Lodos activados	290	2	20	60	Kibazohi y col. (2004)
Biorreactor air-lift	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.2	1.2	100	0.2	Oliveira y de Franca (2005)
Estireno						
Lecho escurrido	Consortio bacteriano	473	1	98.3	464	Djeribi y col. (2005)

^a Carga volumétrica del contaminante ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$), ^b Diferencia de concentración entre la entrada y la salida (g m^{-3}), ^c Eficiencia de remoción (%), ^d Capacidad de eliminación ($\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$).

Tabla 1.4. Características y propiedades de varios sistemas de partición de dos fases (BPDFs) usados para eliminación de COVs.

Biorreactor	Microorganismo	L^b	[COV] ^a	ER ^b	CE ^b	Referencia
Benceno						
Tanque agitado (33% hexadecano)	<i>Alcaligenes xylooxidans</i>	140	6	95	133	Davison y Daugulis (2003a)
Tanque agitado (33% hexadecano)	<i>Achromobacter xylooxidans</i>	1240	60	99	1200	Nielsen y col. (2005)
Tolueno						
Tanque agitado (33% hexadecano)	<i>Alcaligenes xylooxidans</i>	235	9	99	233	Davison y Daugulis (2003b)
Tanque agitado (33% hexadecano)	<i>Alcaligenes xylooxidans</i>	748	15	97	727	Daugulis y Boudreau (2003)
Hexano						
Lecho escurrido (5% aceite de silicón)	Lodos activados	100	10	90	90	Van Groenestijn y Lake (1999)
BPDFs (10% aceite de silicón)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	180	3	77	140	Muñoz y col. (2006)
BPDF fúngico (10% aceite de silicón)	<i>Fusarium solani</i>	180	3	67	120	Arriaga y col. (2006)
Biofiltro fúngico (1% aceite de silicón)	<i>Fusarium solani</i>	180	3	90	160	Arriaga y col. (2006)

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Tabla 1.4. Características y propiedades de varios sistemas de partición de dos fases (BPDFs) usados para eliminación de COVs (continuación).

<i>Estireno</i>						
Lecho escurrido (20% aceite de silicón)	Consorcio bacteriano	555	1	96.8	537	Djeribi y col. (2005)

^a Concentración inicial del COV (g m^{-3}), ^b Definidas como en la Tabla 1.3.

La Tabla 1.4 muestra que la adición de una fase orgánica puede incrementar notablemente la degradación biológica de compuestos hidrófobos con respecto a los sistemas sin adición de dicha fase reportados en la Tabla 1.3.

1.4 Incrementando la transferencia de masa en biorreactores.

No hay un consenso en la información experimental disponible del efecto de la adición de vectores sobre la transferencia de masa, ya que mientras diversos autores han reportado mejoras, otros no han observado un efecto, o incluso han determinado una reducción (Dumont y Delmas, 2003; Clarke y Correia, 2008). Más aún, no existe hasta el momento un modelo que permita predecir el posible efecto de la adición de un vector sobre la degradación de un compuesto hidrofóbico como el metano.

En BPDFs la transferencia de metano y oxígeno desde el gas a las células puede ocurrir teóricamente a través de cinco vías actuando de forma simultánea: gas-vector-agua-células, gas-agua-vector-células, gas-vector-células, gas-agua-células y gas-células (Galaction y col., 2004a). La determinación teórica o experimental de la contribución de cada vía a la transferencia global es una tarea difícil debido a la complejidad del sistema tetrafásico. Por lo anterior, los estudios de transferencia de masa en BPDFs se han enfocado en la determinación del coeficiente volumétrico (o global) de transferencia de masa, $k_L a$, el cual considera múltiples factores que pueden impactar la transferencia de masa como son: características geométricas y operacionales del biorreactor,

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

composición del medio (por ejemplo, fuerza iónica), concentración de biomasa, y fracción del vector entre otros (Galaction y col., 2004b).

En biorreactores turbulentos (tanque agitado y airlift) la adición de un vector como el aceite de silicón puede incrementar la degradación del contaminante debido a: 1) el incremento en la fuerza impulsora para la transferencia de masa como resultado de la mayor solubilidad del contaminante en la emulsión, 2) el incremento en el área interfacial de contacto gas/agua propiciado por el rompimiento de las burbujas de gas al chocar las gotas de aceite así como por la reducción en la tensión interfacial (Galindo y col., 2000; Quijano y col., 2010b), y 3) posible consumo directo del contaminante desde la fase orgánica por microorganismos adheridos a su superficie mediante la pared celular hidrófoba (McLeod y Daugulis, 2005). Sin embargo, son requeridos más estudios del efecto de la viscosidad del vector sobre la hidrodinámica del sistema, la difusividad efectiva del contaminante en la emulsión y el espesor de la película líquida alrededor de las burbujas, todos impactando k_L , a fin de predecir si la adición del vector tendrá realmente un efecto positivo sobre la biodegradación. Diversos trabajos (Clarke y Correia, 2008) han mostrado que la eficacia del vector en estos contactores turbulentos depende de su grado de dispersión en la fase líquida, la cual es una función del consumo de energía en el sistema, conduciendo a incrementos en los costos de operación y reduciendo la aplicabilidad de estos sistemas a escala comercial.

En biorreactores laminares (biofiltros y lechos escurridos) el consumo de energía es relativamente bajo y eficiencias típicas de remoción para compuestos solubles en agua son superiores al 90% (Adler, 2001). Sin embargo, cuando estos sistemas son utilizados para la remoción de compuestos poco solubles (a cargas similares del contaminante), la eficiencia de remoción puede ser tan baja como un 40% (Rocha-Ríos y col., 2009). La adición de un vector de transferencia en estos contactores laminares de empaques no estructurados (con poros distribuidos aleatoriamente en el lecho) ha estado caracterizada por una dispersión no homogénea (debido a la

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

falta de turbulencia) en el lecho y los resultados del efecto del vector sobre la biodegradación en estos sistemas no son concluyentes (Fazaelipoor y Shojaosadati, 2002).

Otra estrategia para incrementar la transferencia de masa gas-líquido es el reactor monolítico. Los reactores monolíticos están siendo ampliamente utilizados como contactores multifásicos considerando las ventajas que ofrecen para diversos procesos en comparación a los reactores convencionales empacados o de suspensión. Estas ventajas incluyen bajas caídas de presión, altas velocidades de transferencia de masa gas-líquido, menores consumos de potencia que los contactores turbulentos, mínima dispersión axial (flujo pistón) y no presentan zonas muertas por canalización debido a la configuración de estructura única en los múltiples canales que integran el monolito (Liu y col., 2005; Kreutzer y col., 2005a). En esencia, un bloque monolítico está formado por una serie de canales paralelos uniformemente estructurados, a menudo de geometría cuadrada o circular, que normalmente tienen diámetros hidráulicos entre 1 y 5 mm. Así, el monolito puede ser visto como una estructura que se compone de muchos elementos repetidos y donde el componente básico es un sólo canal. Es considerado que los datos obtenidos de estudios en un sólo canal, que puede ser llamado simplemente un capilar, pueden ser utilizados para el escalamiento del reactor monolítico considerando que una distribución uniforme de gas y líquido (como la obtenida en un solo capilar) se presenta en todo el bloque monolítico (Heibel y col., 2001). El empaque monolítico es construido de zeolita mediante extrusión, y su principal inconveniente es su alto costo de fabricación, por lo que otros materiales alternativos están siendo desarrollados.

Entre varios patrones posibles de flujo en capilares, el flujo segmentado (flujo de Taylor o también conocido como tren de burbujas), proporciona las mejores propiedades de transferencia de masa (Hatziantoniou y col., 1986). En este patrón de flujo, secciones de líquido (conocidas como slugs) se desplazan a través del capilar bien separadas entre sí por distintas burbujas de gas. Este desplazamiento produce una recirculación interna en los slugs que aumenta la transferencia de masa

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

del gas al líquido (Irandoost y Andersson, 1988). El flujo de Taylor en capilares permite obtener coeficientes de transferencia de masa equivalentes a tanques agitados, pero con un consumo de energía un orden de magnitud menor (Kreutzer y col., 2005b).

En reactores monolíticos es interesante analizar si la adición de un vector de transferencia es capaz de incrementar adicionalmente al flujo de Taylor la transferencia de masa y biodegradación de sustratos poco solubles como metano, y determinar a su vez el impacto que dicho vector (sobre todo su viscosidad) pueda tener sobre la hidrodinámica del flujo de Taylor en el capilar.

1.5 Consumos de energía en biorreactores.

Debido a que el oxígeno es un gas poco soluble la operación de biorreactores frecuentemente está limitada por la transferencia de este compuesto a los microorganismos, incluso en contactores turbulentos como los reactores de tanque agitado. El análisis de distintos contactores gas-líquido debe considerar la cantidad de energía que se necesita para generar el área interfacial de contacto.

Es prácticamente un axioma de la ingeniería química que la transferencia de masa requiere energía. Naturalmente, dicho axioma se deriva del adelgazamiento de las capas límite al incrementar la velocidad del líquido así como por el incremento en la ruptura de burbujas por micro-remolinos turbulentos o *eddies* en los sistemas multifásicos. De hecho, la turbulencia es un método eficaz para lograr delgadas capas límite y burbujas pequeñas, pero no es la alternativa más eficiente en términos energéticos. La mayor parte de la energía suministrada a un sistema turbulento es disipada en forma de remolinos que no contribuyen a la transferencia de masa o de calor (Kreutzer y col., 2006). Como resultado, muy pocas operaciones unitarias industriales operan en condiciones altamente turbulentas. El ingeniero de reactores puede intentar escalar el intenso contacto gas-líquido obtenido en reactores de laboratorio a unidades industriales, pero los requerimientos de energía para lograrlo serán el principal impedimento.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

En biorreactores turbulentos, el tamaño de la burbuja es determinado por su ruptura y coalescencia. En esencia, se puede establecer un balance entre (1) *la tensión superficial*, la cual resiste la deformación de la forma convexa de la burbuja que conduce a su ruptura, y (2) *los microremolinos turbulentos (eddies)*, transfiriendo masa en la interfase. La energía de los *eddies* rompe las burbujas y reduce la capa límite alrededor de las mismas; sin embargo, el acoplamiento de la disipación de energía y la transferencia de masa obstaculiza obtener la intensificación del proceso, ya que mientras altas velocidades de transferencia de masa pueden ser obtenidas reduciendo el tamaño del reactor, el equipo auxiliar necesario para alcanzar un contacto gas-líquido adecuado (sea agitador, bomba, eyector venturi, o compresor) crecerá en requerimientos de energía.

En biorreactores laminares, para separar el acoplamiento entre disipación de energía y transferencia de masa, es necesario considerar un mecanismo diferente para el contacto gas-líquido. Si cambiamos a flujo laminar, se debe utilizar una estructura externa para crear o mantener el área superficial, por ejemplo, en un reactor de película descendente, el área de contacto gas-líquido es aproximadamente igual al área de la pared.

En los biorreactores laminares de empaque aleatorio (lecho escurrido y biofiltros), el área superficial dependerá de la porosidad (macro y microporos) del empaque así como de la tortuosidad o grado de curvatura de dichos poros.

En los biorreactores laminares de empaque estructurado (monolíticos) a velocidades moderadas de gas y líquido, el patrón predominante es el flujo de Taylor. En el flujo de Taylor, las burbujas de gas son demasiado grandes para conservar su forma esférica y son por tanto estiradas para adaptarse al diámetro del canal. La tensión superficial empuja la burbuja hacia la pared del canal, permaneciendo sólo una fina película de líquido entre la burbuja y la pared. El espesor de la película es principalmente debido a los esfuerzos viscosos. En estos sistemas los extremos laterales de las burbujas (con mayor superficie que los extremos verticales en contacto con los slugs) se

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

desplazan a través de la película líquida en la pared del canal generando una alta área de contacto gas-líquido al mismo tiempo que el espesor de la película líquida es reducido por la tensión superficial sin requerimientos adicionales de energía. Esto hace que los reactores monolíticos sean eficientes para incrementar la transferencia de masa sin requerimientos elevados de energía. Kreutzer y col. (2005b) compararon la transferencia de masa y el consumo de energía de reactores monolíticos y contactores turbulentos (columnas de burbujeo y tanques agitados) encontrando que en los reactores monolíticos pueden obtenerse k_La un orden de magnitud superiores que en los contactores turbulentos para el mismo consumo de potencia (Figura 1.1).

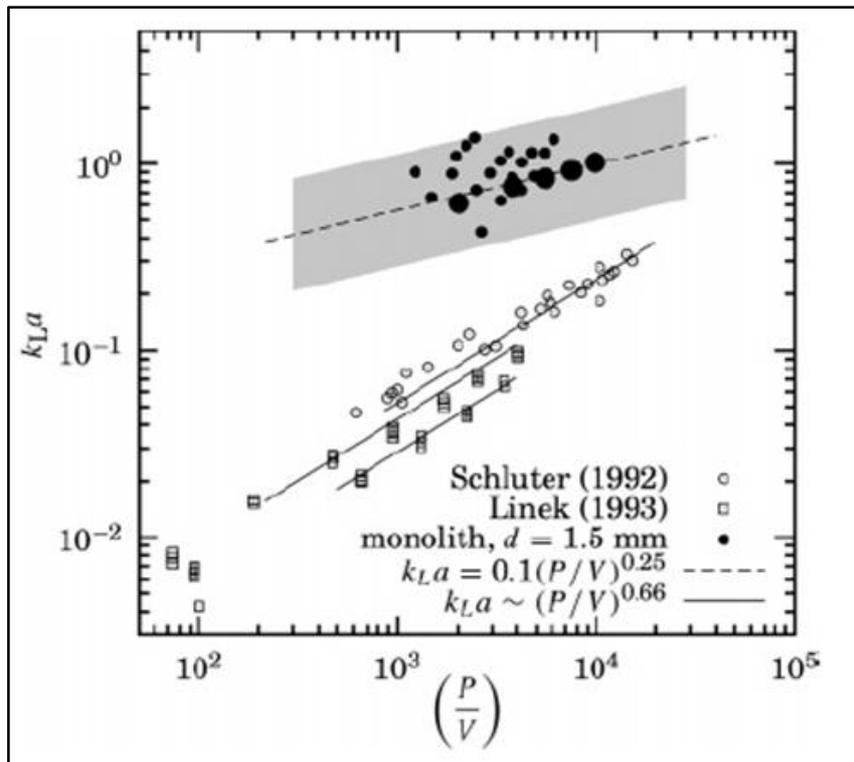


Figura 1.1 Coeficiente volumétrico de transferencia de masa (k_La , s^{-1}) como función del consumo de energía en el sistema (P/V , $W m^{-3}$) para contactores turbulentos [tanques agitados () y columnas burbujeadoras (□)] y laminares [monolitos ()] (tomada de Kreutzer y col., 2005b).

2. Definición del problema y justificación.

Por todo lo hasta aquí expuesto, es claro que el control de los efluentes atmosféricos de metano es crítico y que una alternativa adecuada para concentraciones por debajo de su límite de explosividad es el tratamiento biológico. Sin embargo, el principal problema para la degradación biológica de metano es su baja solubilidad en la fase acuosa donde están los microorganismos. Debido a ello, proponemos la adición de una fase orgánica inmiscible (aceite de silicón) más compatible con el metano (y el oxígeno) que el agua y desde donde puedan estar disponibles para las células conforme sean requeridos.

La adición del aceite de silicón ha permitido incrementar la degradación de compuestos poco solubles en biorreactores; sin embargo, no se ha estudiado el efecto de su viscosidad sobre la hidrodinámica y el incremento en el consumo de energía del sistema. Por lo anterior, en este trabajo se analiza si la adición de este vector de transferencia permite incrementar ambos, la transferencia de masa y la biodegradación de metano en distintos sistemas (contactores laminares y turbulentos) con distintos requerimientos de energía.

Los resultados de este estudio permitirán avanzar a sistemas con mayor desempeño disminuyendo los costos de operación del proceso e incrementando las bajas capacidades de eliminación de metano obtenidas hasta el momento en reactores biológicos.

3. Hipótesis y objetivos.

3.1 Hipótesis.

La adición de una fase orgánica inmisible más compatible con metano y oxígeno que el agua incrementará la degradación biológica de metano por un consorcio microbiano en distintos reactores con respecto a controles sin fase orgánica debido a tres aspectos, (1) un mayor coeficiente global de transferencia de masa entre las fases gas-líquido, (2) el incremento en la fuerza impulsora para la transferencia debido a una mayor solubilidad de metano en la emulsión que en el agua y, (3) al posible consumo directo del contaminante por las células desde la fase orgánica.

3.2 Objetivo general.

Estudiar el efecto de la adición de una fase orgánica sobre la degradación de metano por un consorcio microbiano en distintas configuraciones de reactor y describir como se produce dicho efecto a partir de los mecanismos de transferencia de masa y la reacción biológica.

3.3 Objetivos particulares.

- Aislar, seleccionar y enriquecer un cultivo de bacterias metanótrofas.
- Montar y operar cuatro reactores, dos turbulentos (tanque agitado y airlift) y dos laminares (lecho escurrido y capilar) con adición de la fase orgánica.
- Comparar el desempeño de los reactores adicionados con la fase orgánica contra controles acuosos.
- Determinar los coeficientes globales de transferencia de masa ($k_L a$) en los reactores a distintas fracciones de fase orgánica y variaciones en otras variables propias de cada sistema como son velocidad de agitación en el RTA, flujo de recirculación del líquido en el RLE,

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

flujo de recirculación del gas en el RAL y flujo de recirculación de gas del flujo de Taylor en el RC para determinar el impacto de cada variable sobre la transferencia de masa.

- Analizar el impacto de la adición de la fase orgánica sobre la hidrodinámica del sistema y el consumo de energía.
- Discutir sobre los mecanismos a través de los cuales la fase orgánica puede incrementar la biodegradación en cada sistema.

4. Presentación de resultados y alcances de la tesis.

La investigación fue dividida en dos partes principales:

1) Estudiar el efecto de la adición del vector sobre el k_La en los biorreactores turbulentos y laminares considerados, comparando dicho efecto con el de otras variables propias de cada sistema, cuyo incremento puede aumentar también k_La .

2) Analizar el efecto de la adición de aceite y las variables propias de cada sistema sobre la degradación de metano por el consorcio metanótrofo.

A continuación se indica como están reportados los resultados a través de la tesis.

En el capítulo 5 se presentan los resultados de un experimento para validar la hipótesis de que la adición de la fase orgánica podía incrementar la biodegradación de metano en ambos, un contactor turbulento (tanque agitado) y uno laminar (lecho escurrido). Por lo tanto, este experimento fue diseñado como una demostración de concepto.

En el capítulo 6, se investigó el efecto de distintas fracciones del vector y distintas velocidades de agitación en el contactor turbulento (tanque agitado) sobre la transferencia de masa y biodegradación de metano así como el impacto de la viscosidad del vector de transferencia sobre la hidrodinámica del sistema.

En el capítulo 7, se diseñaron experimentos similares a los reportados en el capítulo 6 para el contactor laminar (lecho escurrido) pero ahora además de la fracción del vector se varió el flujo de recirculación del líquido.

El capítulo 8, muestra los efectos de las variaciones en la fracción de aceite y el flujo de recirculación del gas en otro contactor turbulento (airlift de tubo concéntrico) sobre la transferencia de masa y biodegradación de metano. En este sistema fue estudiado adicionalmente el empleo de fases orgánicas alternativas como polímeros plásticos (sólidos) para su empleo en biotecnología ambiental.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

En el capítulo 9 se presentan los resultados del efecto de variaciones en la fracción de aceite y en la velocidad de recirculación del gas sobre la transferencia de masa y la biodegradación de metano en otro contactor laminar (reactor capilar), con la finalidad de analizar el potencial de los reactores monolíticos para tratamiento de aire.

En el capítulo 10 se indican colaboraciones con otros grupos de investigación desarrolladas durante la realización de esta tesis.

Finalmente, en el capítulo 11 se analizan de forma general todos los resultados obtenidos y se resaltan las principales conclusiones generales obtenidas así como las perspectivas para seguir profundizando en la investigación.

5. Demostración de concepto. Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Rocha-Rios J, Bordel S, Hernández S y Revah S*.

5.1 Resumen.

En este capítulo se comparó la degradación biológica de metano por un consorcio metanótrofo con y sin la adición de un vector de transferencia (aceite de silicón), en dos configuraciones de reactor (RTA y RLE) operados en estado estacionario. La adición de aceite de silicón (10% v/v) aumentó la capacidad de eliminación volumétrica promedio de metano 41% en el RTA hasta $106 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y 131% en el RLE hasta $51 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Las capacidades de eliminación específicas mostraron una mayor degradación por unidad de biomasa (69% en el RTA y 98% en el RLE), sugiriendo un incremento en la disponibilidad de metano para los microorganismos. Las capacidades de eliminación obtenidas en ambos reactores con la adición de aceite fueron superiores a la mayoría de los valores reportados para biofiltración de metano.

Palabras clave: Biorreactores de partición de dos fases, aceite de silicón; biodegradación de metano, reactor de tanque agitado, reactor de lecho escurrido.

5.2 Objetivo del estudio.

El objetivo de este capítulo fue evaluar la degradación de metano por un consorcio de bacterias metanótrofas en dos configuraciones de biorreactor (tanque agitado y lecho escurrido) adicionados con una fase orgánica (aceite de silicón 10% v/v) en comparación con las degradaciones obtenidas en el sistema acuoso.

Los resultados de este capítulo han sido publicados en el artículo Methane degradation in two-phase partition bioreactors. Chem Eng J (2009);152:289-292.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

5.3 Materiales y métodos.

Microorganismos y condiciones de cultivo.

Un consorcio metanótrofo obtenido a partir de una muestra de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UAM-Iztapalapa (México). Un litro de lodo activado fue filtrado a través de un papel filtro (con retención de partículas 8 μm ; Whatman, UK), el filtrado se centrifugó y las células se suspendieron en 0.5 L de medio mineral salino descrito por Aaronson (1970). Una corriente de gas con 1% (v/v) de metano fue burbujeadado a través del cultivo durante 4 semanas con cambio semanal de medio antes de usarlo para inocular el reactor.

La composición del medio mineral (g L^{-1}) es: NaNO_3 , 2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10^{-3} ; Na_2HPO_4 , 0.2; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.09; $\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5×10^{-6} ; H_3BO_3 , 10^{-5} ; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10^{-5} ; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 7×10^{-5} ; MoO_3 , 10^{-5} ; KCl , 0.04; CaCl_2 , 0.015. El pH final del medio fue de 7.

Reactivos.

El gas metano (99.9% v/v) fue obtenido de Praxair (México). El aceite de silicón (polidimetilsiloxano con una viscosidad cinemática de 200 cSt) fue obtenido de Sigma-Aldrich (USA). Una fracción de vector del 10% (v/v) fue seleccionada basado en reportes previos (Arriaga y col., 2006; Muñoz y col., 2007). El aceite de silicón ha mostrado no ser tóxico ni biodegradable por los microorganismos (Arriaga y col., 2006).

Coefficiente de partición de metano en el aceite de silicón.

Se utilizaron botellas serológicas de vidrio de 0.125 L selladas con válvulas de mininert (Supelco, USA) a las que se añadieron 10 mL de aceite de silicón así como 1, 2, 3, 4 y 5 ml de metano, respectivamente. Las botellas por triplicado se colocaron en un agitador rotatorio a 30 °C. Una vez alcanzado el equilibrio de partición (cuando la concentración de metano en el gas fue

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

constante durante dos muestreos consecutivos con una separación de dos horas), 0.1 mL de gas fueron extraídos de cada botella para cuantificación de metano por cromatografía de gases. El coeficiente de partición de metano se obtuvo mediante un balance de masa.

Reactor de tanque agitado (RTA).

Un fermentador de 3.5 L (BioFlo III New Brunswick, USA) con un volumen de operación de 2 L y un sistema de agitación con dos turbinas Rushton operado a 800 rpm fue utilizado para la degradación de metano en suspensión. El flujo de gas a través del sistema fue de 0.42 L min^{-1} (correspondiente a 0.21 vvm o un $TRLV$ de 4.8 min) y la carga promedio de metano fue de $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (con una concentración de metano promedio de 15.9 g m^{-3}). El medio mineral fue introducido continuamente, con una tasa de dilución de 0.1 d^{-1} (0.2 L día^{-1}).

Reactor de lecho escurrido (RLE).

Este sistema fue una columna de vidrio cilíndrico de 1 m de longitud con un diámetro interior de 0.08 m empacado con 1 L de espuma de poliuretano (EDT, Alemania) con una porosidad de 0.97, un área específica de $600 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ y una densidad de 35 kg m^{-3} . El flujo de recirculación del líquido fue establecido en $175 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}$. Un sistema de agitación magnética en el fondo de la columna permitió el mezclado continuo del líquido (0.3 L) previo a la recirculación. El flujo de entrada de gas en el sistema fue a contracorriente a 0.21 L min^{-1} equivalentes a un $TRLV$ de 4.8 min con una carga promedio de metano de $144 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (la concentración influente promedio de metano promedio fue 11.1 g m^{-3}). Al igual que en el RTA, medio mineral fresco fue introducido continuamente con una tasa de dilución de 0.1 d^{-1} . El estado estacionario se considero en ambos reactores cuando la CE y la concentración de biomasa fueron constantes por al menos 10 días.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Variables de desempeño.

El desempeño del proceso fue descrito en ambos sistemas por la carga volumétrica de metano $L = C_{Gin} \cdot Q \cdot V_R^{-1}$; la capacidad volumétrica de eliminación $CE = (C_{Gi} - C_{Gf}) \cdot F_G \cdot V_R^{-1}$, la producción volumétrica de CO₂ $RCO_2 = (C_{CO_2i} - C_{CO_2f}) \cdot F_G \cdot V_R^{-1}$, la eficiencia de remoción %ER = $100 \cdot \left\{ \frac{C_{Gi} - C_{Gf}}{C_{Gi}} \right\}$, y la capacidad de eliminación gaseosa $CE_g = CE/\alpha$. Donde C_{Gi} , C_{CO_2i} , C_{Gf} y C_{CO_2f} , son las concentraciones influente y efluente de CH₄ y CO₂ (g m⁻³); F_G es el flujo volumétrico de gas (m³ h⁻¹), V_R es el volumen de operación del reactor (m³) y α es el gas hold-up (RTA) o la porosidad (RLE).

Procedimientos analíticos.

Las concentraciones de metano en la fase gaseosa se midieron utilizando un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6890N, USA) equipado con una columna AT-WAX 25 m × 0.25 mm × 0.2 μm (Alltech, USA) y un detector FID. Las concentraciones de CO₂ se midieron utilizando el mismo cromatógrafo con una columna Porapak Q 80/100 6' x 1/8" y un detector TCD. Los flujos de He (acarreador), H₂ y aire fueron 7, 25 y 250 mL min⁻¹, respectivamente. Las temperaturas del inyector, horno y ambos detectores se mantuvieron en 200, 70 y 250 °C, respectivamente. Las mediciones en cada biorreactor se llevaron a cabo diariamente por triplicado.

La biomasa en el líquido de ambos reactores se determinó a partir del contenido de proteínas en muestras periódicas utilizando el método de Lowry (kit de BioRad, USA) y un contenido proteínico promedio del 50% en la célula el cual fue obtenido experimentalmente a través de mediciones independientes de peso seco contra contenido de proteína. Las muestras por triplicado fueron centrifugadas a 13000 rpm durante 10 min para separar la biomasa del medio de cultivo previo a la determinación de proteínas. Al final de la operación del RLE, la biomasa ligada al empaque fue disuelta en una solución de NaOH (0.5 M a 70 °C) durante dos horas utilizando un limpiador

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

ultrasónico. La solución obtenida se homogenizó y el contenido de proteína se determinó con el método de Lowry.

5.4 Resultados y discusión.

El coeficiente de partición de metano en aceite de silicón a 30 °C fue determinado en 3.2 ± 0.3 ; es decir, aproximadamente 10 veces menor que el valor en agua de 33.5 (Zenhao y col., 1992). Este coeficiente de partición y el hecho de que el aceite no es tóxico ni biodegradable por el consorcio metanótrofo confirmaron su efectividad como un vector de transferencia para metano. La Tabla 5.1 muestra los resultados del desempeño en estado estacionario de ambos reactores.

	RTA		RLE	
	Sin vector	Con vector	Sin vector	Con vector
L (g m ⁻³ h ⁻¹)	209±26	187±11	157±15	131±9
CE (g m _{reactor} ⁻³ h ⁻¹)	75±6	106±7	22±3	51±7
RCO_2 (g m ⁻³ h ⁻¹)	80±8	109±12	36±2	69±5
ER (%)	34±5	57±4	15±3	40±4
CE_G (g m _{gas} ⁻³ h ⁻¹)	500±40	707±47	24±3	57±8

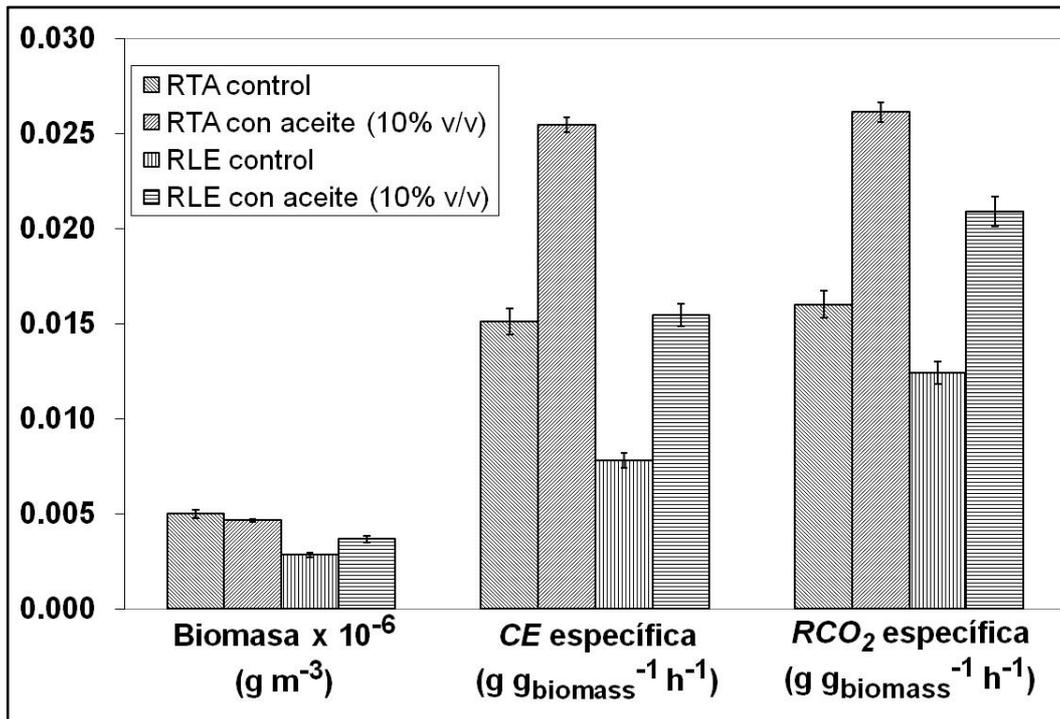
Los incrementos en las CE con la adición del aceite de silicón (10% v/v) fueron de 41 y 131% para RTA y RLE respectivamente, con las mejoras correspondientes en ER y RCO_2 , a pesar de que la carga promedio fue ligeramente menor para los experimentos con la adición de aceite. Las capacidades de eliminación superficial promedio (expresadas por área de sección transversal del reactor) para el RTA y RLE fueron estimadas en 344 y 214 g m⁻² d⁻¹, respectivamente, las cuales son superiores a la mayoría de las reportadas en los experimentos de biofiltración de metano revisados por Nikiema y col. (2007).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Más aún, de forma similar a Arriaga y col. (2006) las CE se expresaron por unidad de volumen de gas contenido en cada reactor (considerando los valores determinados experimentalmente de gas hold-up en el RTA y porosidad del lecho en el RLE de 0.15 y 0.9, respectivamente). Las CE_G (resumidas en la Tabla 5.1), que son equivalentes a las velocidades de transferencia global en el estado estacionario, fueron notablemente más altas para el RTA que para el RLE (21 y 12 veces más para el control y el sistema adicionado con aceite, respectivamente). Esta importante diferencia puede explicarse considerando la energía de agitación empleada en el RTA que promueve tanto los coeficientes de película (k_L) de O_2 y CH_4 y el área interfacial gas-agua (a). Además, en el RTA la agitación reduce la coalescencia de las partículas de aceite evitando la consecuente disminución del área interfacial acuosa-orgánica.

En el RLE, además del largo tiempo de residencia requerido, la transferencia de masa puede ser reducida por el taponamiento o la canalización del flujo de gas en el soporte debido a la formación heterogénea de biopelícula (Arriaga y col., 2006). Para evaluar las tasas específicas (por gramo de células), se midió la concentración de biomasa en cada reactor y se correlacionó con los valores de eliminación volumétricos. La Figura 5.1 muestra la concentración de biomasa así como los valores específicos en capacidades de eliminación y producción de CO_2 durante la operación en estado estacionario para cada experimento. Para el RLE la biomasa reportada en la Figura 5.1 considera el valor total (empaquete más suspensión).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.



*Las barras de error representan el error estándar. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado. La concentración de biomasa fue referida al volumen total del reactor, incluyendo la fracción de aceite de silicón contenida en el líquido.

Figura 5.1. Biomasa, capacidad de eliminación y producción de CO₂ específicas en el RTA y RLE durante la operación estacionaria con y sin adición de aceite de silicón.

Los resultados en la Figura 5.1 indican que las capacidades específicas de eliminación de metano aumentaron 70% en el RTA y 100% en el RLE cuando el aceite estuvo presente. Las capacidades específicas de eliminación de metano obtenidas fueron superiores a la mayoría de los valores reportados en la literatura los cuales están entre 10⁻⁶ y 10⁻² g g_{biomass}⁻¹ h⁻¹ (Watanabe y col., 1997; Chu y Alvarez-Cohen, 1998). Del mismo modo, las tasas específicas de producción de CO₂ se incrementaron con la mayor degradación específica de metano. Los rendimientos de producción de CO₂ por gramo de metano consumido fueron 1.04 ± 0.02 gCO₂ gCH₄⁻¹ (0.378 gC gC⁻¹) y 1.35 ± 0.1 gCO₂ gCH₄⁻¹ (0.491 gC gC⁻¹) para el RTA y RLE, respectivamente; estos valores son similares a los reportados para las bacterias metanótrofas por otros autores (Börjesson y col., 1998; Acha y col., 2002).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Considerando los coeficientes de partición para O_2 y CH_4 mencionados previamente y una concentración de metano para el RTA con aceite de silicón de 6.6 g m^{-3} (concentración efluente promedio y mezclado perfecto), la concentración en la fase acuosa sería de 0.197 g m^{-3} y de 2.06 g m^{-3} en la fase oleosa con $3.5 \times 10^{-4} \text{ g}$ de metano disueltos en 1.8 L de agua y los restantes $4.1 \times 10^{-4} \text{ g}$ de metano disueltos en sólo 0.2 L de aceite de silicón. Por lo tanto, en 10% (v/v) de aceite de silicón se estimó una concentración de metano casi 10 veces mayor que la correspondiente en el agua así como 1.2 veces más metano disponible para las células que en el restante 90% de agua. El balance de masa en estado estacionario para el RTA indicó 1.4 veces más metano disponible para las células en el sistema con aceite así como 2.3 veces más en el RLE con respecto al control sin aceite.

La mejora en el desempeño de los biorreactores de partición de dos fases puede atribuirse a una mayor disponibilidad de metano en la fase líquida debido a, 1) una mejor transferencia del oxígeno y el contaminante desde la fase gas a las células y, 2) el posible consumo directo de los sustratos (oxígeno y metano) adsorbidos y/o absorbidos en la fase orgánica por adhesión de las células a las gotas de aceite. Con respecto al incremento en la transferencia de masa, no se ha encontrado una relación consistente entre el coeficiente volumétrico de transferencia de masa ($k_L a$) y la adición de la fase orgánica como discuten Clarke y Correia (2008). Para el aceite de silicón, Morao y col. (1999) reportaron que hay una "fracción crítica" a partir de la cual una mejora en $k_L a$ puede ser obtenida. El efecto neto de la adición de la fase orgánica sobre la transferencia de masa es el resultado primero sobre el coeficiente de película (k_L), el cual es afectado debido a la presencia de una resistencia adicional a la transferencia de masa hacia las células y por el incremento en la viscosidad del líquido (emulsión) lo cual afecta la difusividad de los sustratos; por otro lado, dicho coeficiente es beneficiado por el incremento en la fuerza impulsora causado por la mayor solubilidad de los sustratos en la emulsión que en el agua. En segundo lugar, la adición del aceite reduce la tensión superficial entre el gas y el agua favoreciendo burbujas más pequeñas y en

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

consecuencia una mayor área específica de transferencia de masa (a). Como resultado de estos efectos actuando simultáneamente el incremento en k_La reportado por diversos autores en biorreactores ha sido inferior al 20%, que es significativamente inferior a los incrementos en las CE de metano obtenidas en este estudio, 41% en el RTA y 131% en el RLE.

Estos resultados sugieren que un posible consumo directo de metano por células adheridas a las gotas de aceite puede ser un factor importante del incremento en CE en BPDFs debido a la mayor concentración de metano y oxígeno en la fase orgánica, tentativamente hasta diez veces como se deduce de los coeficientes de partición induciendo mayores velocidades de crecimiento específico y consumo de metano.

5.5 Conclusiones.

La adición de 10% (v/v) de aceite de silicón aumentó significativamente la biodegradación de metano en dos reactores, uno de tanque agitado y otro de lecho escurrido. Esto muestra que los biorreactores de partición de dos fases son una alternativa promisoría para incrementar la eliminación de metano en biorreactores limitados por la transferencia de masa a las células. El incremento en las capacidades específicas de eliminación de metano (por gramo de biomasa) en ambos sistemas, sugiere que un consumo directo de oxígeno y metano por células adheridas a las gotas de aceite puede presentarse en forma simultánea al mecanismo tradicional de consumo de sustratos desde la fase acuosa.

Las capacidades de eliminación obtenidas en este trabajo son superiores a la mayoría de los experimentos de biofiltración de metano reportados en la literatura, la investigación se enfocará ahora a la selección de fases orgánicas alternativas así como a la determinación de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa (k_La).

6. Efecto de la fracción de aceite de silicón y la velocidad de agitación sobre la degradación de metano en un reactor de tanque agitado.

Rocha-Rios J, Muñoz R y Revah S*.

6.1 Resumen.

El metano es un gas de efecto invernadero importante y su oxidación biológica constituye una alternativa rentable para emisiones de baja concentración. Sin embargo, debido a su baja solubilidad acuosa (similar al oxígeno), el paso limitante en la degradación biológica de metano es a menudo la transferencia de masa de gas. Los biorreactores de partición de dos fases han sido propuestos para incrementar la biodegradación de compuestos poco solubles. En este capítulo se estudiaron los efectos de la velocidad de agitación y fracción de aceite de silicón sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a_{O_2}$) y sobre la capacidad de eliminación de metano, por un consorcio metanótrofo en un tanque agitado.

En condiciones abióticas, el $k_L a_{O_2}$ se incrementó al aumentar ambos factores. Sin embargo, un efecto negativo sobre $k_L a_{O_2}$ fue observado con aceite de silicón a la velocidad de agitación más alta (800 rpm). Durante los experimentos de biodegradación de metano, la *CE* también se incrementó al aumentar ambos factores, pero contrario al $k_L a_{O_2}$ abiótico, no fue afectada por la presencia del aceite a la velocidad de agitación más alta. La velocidad de agitación fue la variable con más influencia sobre la biodegradación de metano, mientras que el efecto de la fracción de aceite sólo fue significativo por encima de 200 rpm. Una mejora máxima de 700% en *CE* fue obtenida al incrementar la velocidad de agitación de 200 a 800 rpm (con 10% v/v de aceite de silicón).

Los resultados obtenidos sugieren que $k_L a$ no es suficiente para predecir adecuadamente el efecto de un vector sobre la transferencia de masa en BPDFs, debido a que otros factores deben ser

Los resultados de este capítulo han sido publicados en el artículo Effect of silicone oil fraction and stirring rate on methane degradation in a stirred tank reactor. J Chem Technol Biotechnol (2010);85:314-319.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

considerados como el contacto interfacial entre las diferentes fases y las propiedades físico-químicas de la fase orgánica.

Palabras clave: biodegradación de metano; aceite de silicón; coeficiente de transferencia de masa; biorreactor de partición de dos fases.

6.2 Objetivo del estudio.

El objetivo de este capítulo fue estudiar los efectos del incremento en la velocidad de agitación y en la fracción de aceite de silicón sobre el $k_L a$ abiótico y sobre la degradación de metano en un reactor de tanque agitado.

6.3 Fundamentos teóricos.

Determinación experimental de $k_L a_{O_2}$

Los valores experimentales de $k_L a_{O_2}$ fueron obtenidos usando el método estático de acuerdo a Moo-Young y col. (1985). Este método puede aplicarse a distintos medios de cultivo y no involucra reacciones químicas que puedan afectar la precisión de la medición experimental. En nuestras determinaciones, el reactor abiótico se burbujeó con N_2 a 0.2 L min^{-1} a cada velocidad de agitación estudiada a manera de reducir la concentración de oxígeno a valores cercanos a cero. La aireación se reinició luego a 0.2 L min^{-1} (flujo utilizado en todos los experimentos abióticos y bióticos) y la concentración de oxígeno disuelto en la dispersión (C_{O_2}) fue monitoreada hasta la saturación. Sin embargo, el método estático sólo es adecuado para los sistemas sin consumo biológico de oxígeno (condiciones abióticas).

En un sistema abiótico la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) se pueden obtener de la ecuación (6.1)

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

$$VTO = \frac{dC_{O_2}}{dt} = k_L a_{O_2} (C_{O_2}^* - C_{O_2}) \quad (6.1)$$

donde $C_{O_2}^*$ y C_{O_2} son las concentraciones de saturación y de oxígeno disuelto en la fase líquida, respectivamente.

La estimación de la concentración de saturación de oxígeno en la emulsión ($C_{O_2}^*$) puede ser descrita por una función volumétrica promedio (Ho y col., 1990).

$$C_{O_2}^* = \theta C_{O_2aq}^* + \phi C_{O_2org}^* \quad (6.2)$$

donde θ y ϕ son las fracciones volumétricas de agua y la fase orgánica, respectivamente.

La solución de la ecuación (6.1) es:

$$\ln \left(1 - \frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*} \right) = -k_L a_{O_2} t \quad (6.3)$$

Por lo tanto, $-k_L a_{O_2}$ puede ser obtenido de la pendiente de la curva $\ln \left(1 - \frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*} \right)$ versus t .

Correlaciones empíricas de $k_L a_{O_2}$.

Para cuantificar el papel de los diferentes factores que afectan $k_L a_{O_2}$ en BPDFs, numerosas correlaciones empíricas han sido desarrolladas (Clarke y Correia, 2008). Las más comunes correlacionando $k_L a_{O_2}$ con el consumo específico de energía (P_g/V_L), la velocidad superficial del gas (v_s), la fracción de fase orgánica (ϕ), y la concentración de biomasa (X) (Moo-Young y Blanch, 1981; Nielsen y Villadsen, 1994; Gomes y col., 2007; Amaral y col., 2008).

$$k_L a_{O_2} = \alpha \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^\beta (v_s)^\gamma (1 - \phi)^\delta (X)^\varepsilon \quad (6.4)$$

donde α , β , γ , δ y ε son constantes que deben determinarse a partir de los datos experimentales.

El término (P_g/V_L) es muy importante en la ecuación (6.4), ya que considera todas las características geométricas del impulsor y los factores hidrodinámicos de la dispersión heterogénea líquido-líquido en BPDFs, e indica el nivel de turbulencia y la hidrodinámica del medio en el

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

biorreactor. Para sistemas no-aireados con una sola turbina Rushton, el cálculo del consumo de energía para agitación (P) se basa en el número de potencia (Np). El Np en biorreactores sin deflectores con fluidos newtonianos homogéneos es una función de los números de Reynolds (Re) y Froud (Fr) donde Re considera las fuerzas inerciales y viscosas del movimiento del líquido y el Fr las fuerzas gravitatorias que provocan vórtice en la ausencia de deflectores.

$$Np = f(Re, Fr^m) \quad (6.5)$$

con Re y Fr definidos como sigue:

$$Re = \frac{D_i^2 N \rho_L}{\mu_L} \quad (6.6) \quad Fr = \frac{D_i^2 N}{g} \quad (6.77)$$

donde D_i , N , ρ_L , μ_L y g son el diámetro del impulsor (m), la velocidad de agitación (rps), la densidad (kg m^{-3}) y viscosidad del líquido ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$) así como la constante de aceleración gravitacional (m s^{-2}), respectivamente.

El Np como una función del Re se puede obtener gráficamente de acuerdo a McCabe y col. (1991) para una turbina Rushton estándar de seis palas en un reactor con deflectores y corregido para el sistema sin deflectores multiplicando por Fr^m , donde el exponente m es también una función del Re :

$$m = \frac{x - \log Re}{y} \quad (6.8)$$

Para turbinas Rushton estándar x e y son 1 y 40, respectivamente (McCabe y col., 1991). El consumo de energía no-aireado (P) puede ser luego obtenido a partir del Np usando la ecuación (6.9).

$$P = (Np)(\rho_L N^3 D_i^5) \quad (6.9)$$

Por último, el consumo de energía aireado (P_g) puede estimarse a partir de P usando la correlación de Hughmark (1980).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

$$\frac{P_g}{P} = 0.10 \left(\frac{g w_i V_L^{2/3}}{N D_i^4} \right) \left(\frac{N V_L}{F_G} \right)^{0.25} \quad (6.10)$$

donde w_i , V_L and F_G son la altura del impulsor (m), el volumen de líquido (m^3) de gas y la velocidad de flujo volumétrico ($m^3 s^{-1}$), respectivamente.

Cuando el sistema de agitación está integrado por dos turbinas Rushton separadas convenientemente, P_g duplica su valor. Más aún, cuando la turbina superior está localizada cerca de la superficie del líquido, la formación del vórtice es severamente reducida.

Las correlaciones empíricas para $k_L a_{O_2}$ fueron obtenidas a 30 °C por medio del ajuste de la curva obtenida con la ecuación (6.4) mediante regresión no-lineal utilizando el software NCSS® para las condiciones siguientes:

- 1) Agua de grifo ($N = 200, 500, 800$ rpm; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} m s^{-1}$).
- 2) Agua de grifo con 5% (v/v) de aceite ($N = 200, 500, 800$ rpm; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} m s^{-1}$).
- 3) Agua de grifo con 10% (v/v) de aceite ($N = 200, 500, 800$ rpm; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} m s^{-1}$).
- 4) Células inactivas a una concentración de $3 g L^{-1}$ esterilizadas a 121 °C durante 20 minutos con agua del grifo ($N = 200, 500, 800$ rpm; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} m s^{-1}$).

Las propiedades físicas de las dispersiones resultantes (células inactivas, 5 y 10% de aceite de silicón) se estimaron por medio de funciones de volumétricas promedio de acuerdo con la ecuación (6.2). Esta aproximación ha sido satisfactoriamente usada en estudios previos para la estimación de las propiedades físicas de dispersiones similares (Cesario y col., 1997).

Finalmente, $k_L a_{CH_4}$ puede relacionarse con $k_L a_{O_2}$ a partir de la correlación obtenida por Yu y col. (2006).

$$k_L a_{O_2} = 1.169 k_L a_{CH_4} \quad (6.11)$$

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

La ecuación (6.11) obtenida a partir de la relación de difusividades entre metano y oxígeno (usando estimaciones de Chapman-Enskog), indica que $k_L a_{CH_4}$ es 14.5% menor que el correspondiente para oxígeno.

6.4 Materiales y métodos.

Microorganismos y condiciones de cultivo.

El consorcio metanótrofo utilizado en este experimento se obtuvo de una muestra de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UAM-Iztapalapa (México). El mantenimiento del cultivo y la preparación del inóculo se realizaron como se ha descrito previamente (Rocha-Rios y col., 2009).

Reactivos.

El gas metano (99.9% v/v) fue adquirido de Praxair (México). El aceite de silicón (polidimetilsiloxano, 200 cSt) se obtuvo de Sigma-Aldrich (USA).

Reactor de tanque agitado (RTA).

El sistema experimental fue un fermentador de 3.5 L (BioFlo III New Brunswick, USA) con un volumen de trabajo de 2 L y un sistema de agitación con dos turbinas Rushton separadas 0.08 m ($D_i = 0.057$ m y $w_i = 0.011$ m) operado a tres velocidades de agitación (200, 500 y 800 rpm) y con tres fracciones de aceite de silicón (0, 5 y 10% v/v).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Determinación experimental de $k_L a_{O_2}$.

Los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno abióticos fueron determinados en el RTA para las condiciones de agitación y fracción de aceite mencionadas previamente. Cada experimento se realizó por duplicado y el error estándar calculado.

Biodegradación continua de metano.

El metano a 5.5 g m^{-3} (en aire) fue introducido al sistema a 0.42 L min^{-1} a través de un anillo perforado (cuatro orificios de 1 mm cada uno). Este flujo de gas equivale a 0.21 vvm o un *TRLV* de 4.8 minutos y resultó en una carga volumétrica de metano promedio de $65 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. El medio mineral (preparado de acuerdo a Rocha-Rios y col., 2009) se agregó continuamente a una velocidad de dilución de 0.05 d^{-1} (0.1 L día^{-1}) a fin de mantener una concentración constante de bacterias de 3 g L^{-1} . La temperatura (T) y el pH se controlaron a 30 °C y 7.0 , respectivamente. C_{O_2} , pH, T y N fueron monitoreadas en línea utilizando el software Fermentor Control Program® versión 4.3 (FoxyLogic, Dinamarca).

Variables de desempeño.

El desempeño del reactor fue descrito por la carga volumétrica de metano

$$L = C_{CH_4e} \cdot F_G \cdot V_R^{-1} \quad (6.12)$$

La capacidad de eliminación volumétrica

$$CE = (C_{CH_4e} - C_{CH_4s}) \cdot F_G \cdot V_R^{-1} \quad (6.13)$$

La velocidad volumétrica de producción de CO_2

$$RCO_2 = (C_{CO_2e} - C_{CO_2s}) \cdot F_G \cdot V_R^{-1} \quad (6.14)$$

Y la eficiencia de remoción

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

$$\%ER = 100 \cdot \left[\frac{C_{CH_4e} - C_{CH_4s}}{C_{CH_4e}} \right] \quad (6.15)$$

donde C_{CH_4e} , C_{CO_2e} , C_{CH_4s} y C_{CO_2s} son las concentraciones gaseosas de entrada y salida de CH₄ y CO₂ (g m⁻³), respectivamente.

Procedimientos analíticos.

La concentración gaseosa de metano se midió con un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6890N; Agilent Technologies USA) equipado con una columna AT-WAX 25m × 0.25 mm × 0.2 μm (Alltech, USA) y un detector FID. La concentración de dióxido de carbono se midió en el mismo cromatógrafo empleando una columna Porapak Q 80/100 de 6 pies x 1/8 de pulgada y un detector TCD de forma análoga a Rocha-Rios y col. (2009).

La concentración de biomasa en el sistema fue estimada a partir de determinaciones de proteína empleando el método de Lowry (kit BioRad, USA) y considerando un contenido celular de proteínas del 50%. Todas las determinaciones (cromatografía de gases y biomasa) fueron hechas por triplicado. La concentración de oxígeno disuelto se monitoreo empleando un electrodo Inpro6820 (Mettler-Toledo, México). Debido a que los valores de $k_L a_{O_2}$ fueron en todos los casos inferiores a 0.03 s⁻¹, se considero que la respuesta del electrodo a las variaciones en la concentración de oxígeno fue lo suficientemente rápida para no afectar la precisión de la determinación (Galaction y col., 2005).

6.5 Resultados y discusión.

Efecto de la velocidad de agitación sobre el $k_L a_{O_2}$ abiótico.

La Figura 6.1 muestra la influencia de P_g/V_L sobre el $k_L a_{O_2}$ abiótico experimental bajo las condiciones previamente descritas empleando el método estático.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

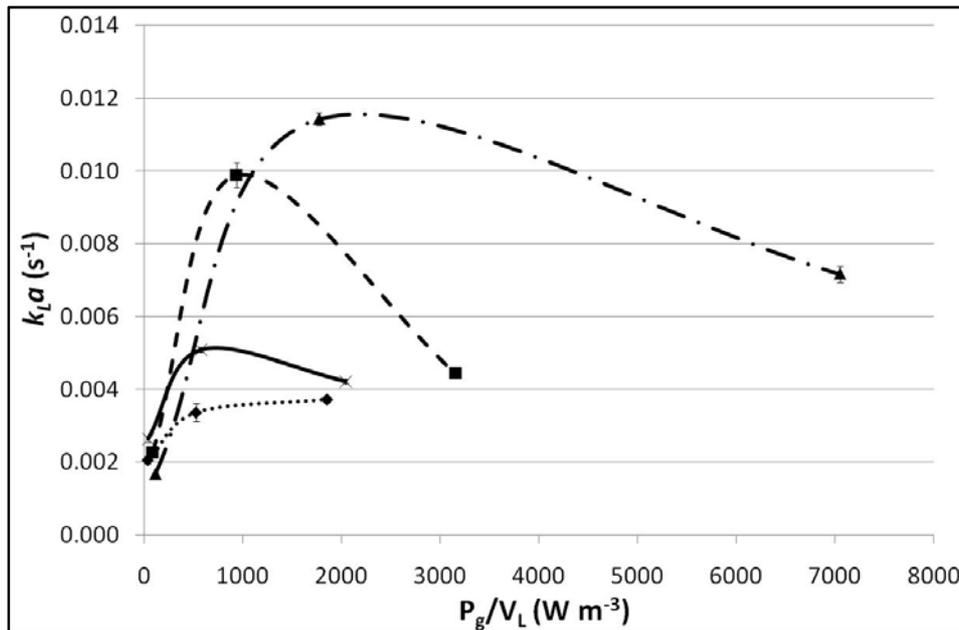


Figura 6.1. Efecto del consumo de energía específico de agitación (P_g/V_L) sobre el $k_L a_{O_2}$ abiótico en el RTA para agua de grifo con: 0% de S200 (-♦-), 0% de S200 con 3 g L^{-1} de células inactivas (-x-), 5% de S200 (-■-) y 10% de S200 (-▲-).

El $k_L a_{O_2}$ en el agua del grifo (ausencia de fase orgánica y microorganismos) se incrementó con el aumento en el consumo de energía (Figura 6.1). La correlación empírica obtenida para $k_L a_{O_2}$ (s^{-1}) en el agua del grifo derivada de la ecuación (6.4) se indica en la ecuación (6.16) con su correspondiente coeficiente de determinación (cuadrado del coeficiente de correlación).

$$k_L a_{O_2} = 0.67 \pm 0.002 \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^{0.15 \pm 0.001} (v_s)^{0.826 \pm 0.004} \quad r^2 = 0.9628 \quad (6.16)$$

Los valores de $k_L a_{O_2}$ se incrementaron con la adición de células inactivas (3 g L^{-1}) y aceite de silicón (5 y 10% v/v) en comparación con los valores obtenidos en el agua del grifo como se aprecia en la Figura 6.1. Sin embargo, una reducción en $k_L a_{O_2}$ se observó con el aumento de P_g/V_L (incremento en velocidad de agitación de 500 a 800 rpm) en los sistemas con células inactivas o aceite de silicón. Este efecto fue menos significativo con la presencia de células inactivas pero notablemente marcado con el aumento en la fracción de aceite (Figura 6.1). Por lo tanto, el modelo

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

empírico de la ecuación (6.4) no fue capaz en estos casos de describir con precisión la reducción de $k_L a_{O_2}$ con el aumento de P_g/V_L (de 500 a 800 rpm) en la presencia de las células inactivas o fase orgánica.

Una revisión detallada de la literatura disponible revela que otros autores también han reportado reducciones similares en $k_L a_{O_2}$ al incrementar los valores de P_g/V_L en presencia de células (Galaction y col., 2004a; Galaction y col., 2004b; Galaction y col., 2005; Gomes y col., 2007) y de fases orgánicas (Nielsen y col., 2003; Galaction y col., 2004a; Nielsen y col., 2005; Galaction y col., 2005; McLeod y Daugulis, 2005; Clarke y Correia, 2008). Estos autores (Galaction y col., 2004a; Galaction y col., 2005) sugirieron que esta reducción se debe al bloqueo de la transferencia de oxígeno como resultado de una adsorción de las células o del vector orgánico a las burbujas de aire promovido por la agitación. La menor difusividad del oxígeno en el vector orgánico viscoso que en el agua puede obstaculizar gravemente la transferencia de oxígeno desde el gas a la fase acuosa, donde el electrodo de oxígeno está localizado. Este bloqueo en la transferencia de oxígeno aumentaría con el incremento en la velocidad de agitación como resultado de la disminución del diámetro de las gotas de aceite así como por la mayor frecuencia de colisiones entre el vector y las burbujas de aire. Así, a velocidades de agitación similares se ha observado una disminución en $k_L a_{O_2}$ al incrementar la concentración de biomasa (Galaction y col., 2004a; Galaction y col., 2004b; Galaction y col., 2005; Gomes y col., 2007); del mismo modo, Nielsen y col. (2005) observaron una disminución en $k_L a_{O_2}$ con n-hexadecano al aumentar su concentración al 33% (v/v) a velocidades de agitación de 600 y 800 rpm así como un máximo en $k_L a_{O_2}$ con una fracción del 10% a la inferior velocidad de agitación de 400 rpm. Anteriormente, los mismos autores (Nielsen y col., 2003) reportaron una disminución de $k_L a_{O_2}$ a 400 rpm, así como también a

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

600 y 800 rpm sugiriendo que otros factores debían ser considerados para entender el efecto del vector sobre $k_L a_{O_2}$.

Efecto de la fracción de aceite de silicón sobre el $k_L a_{O_2}$ abiótico.

Los resultados en la Figura 6.2 indican que $k_L a_{O_2}$ se incrementó con el aumento de las fracciones de aceite. Este efecto fue más notorio a las velocidades de agitación superiores a 200 rpm. De forma análoga a los resultados presentados en la Figura 6.1, los valores experimentales más altos de $k_L a_{O_2}$ fueron obtenidos a 500 y no a 800 rpm (Figura 6.2).

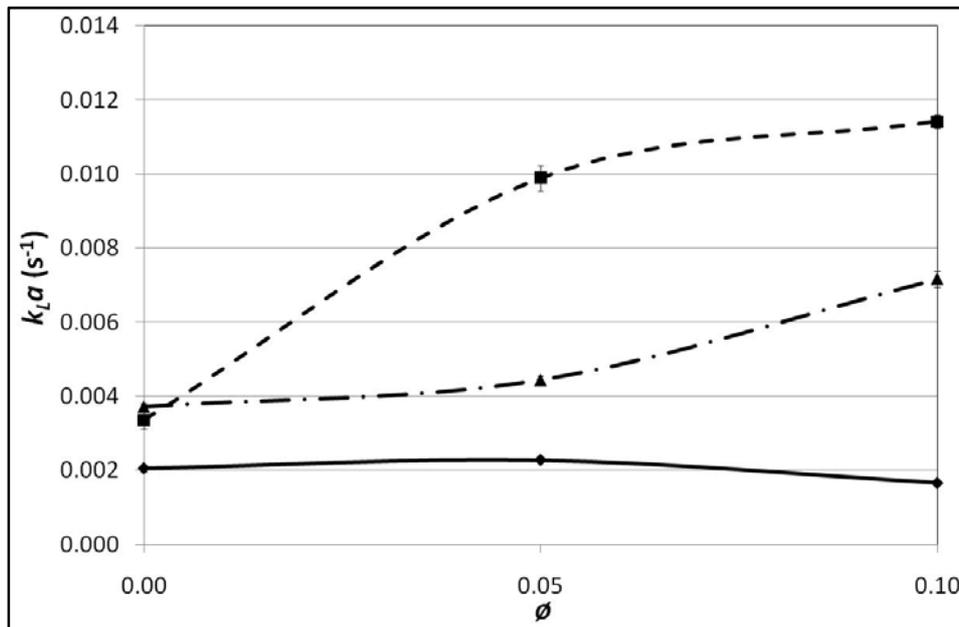


Figura 6.2. Efecto de la fracción de aceite de silicón (ϕ) sobre el $k_L a_{O_2}$ abiótico en el RTA a 200 (-♦-), 500 (-■-) y 800 rpm (-▲-).

Adicionalmente, debe subrayarse que la adición de aceite de silicón modificó significativamente la estimación de las propiedades físicas de la fase líquida, particularmente la viscosidad, la cual impactó fuertemente los valores calculados de P_g/V_L (Figura 6.3).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

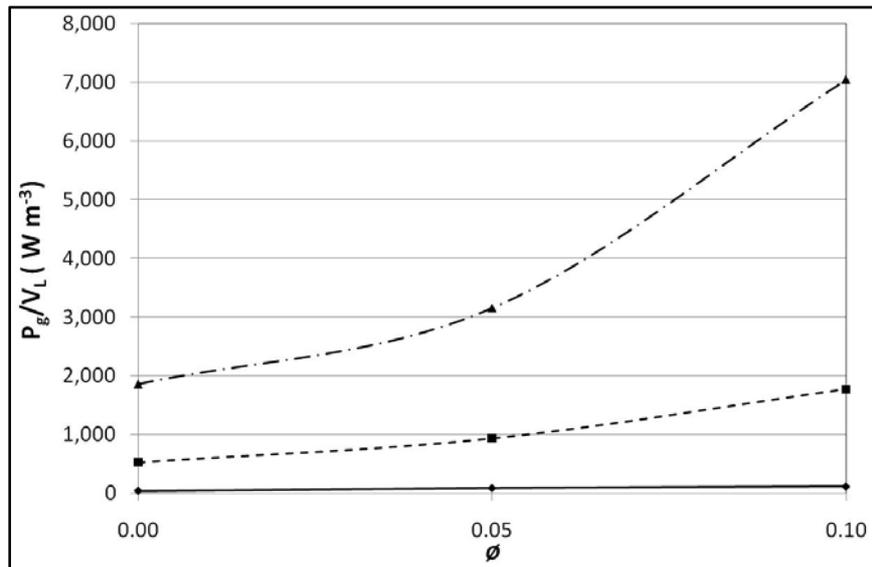


Figura 6.3. Efecto de la fracción de aceite de silicón (ϕ) sobre el consumo de energía específico de agitación (P_g/V_L) en el RTA para 200 (-♦-), 500 (-■-) y 800 rpm (-▲-).

La Tabla 6.1 presenta los valores de las propiedades promedio utilizadas en el cálculo del número de Reynolds (Re) el cual determina el nivel de turbulencia en la fase líquida. Este número fue severamente afectado por la adición de aceite, debido a los grandes incrementos estimados en la viscosidad del líquido. Para una turbina Rushton, los patrones de flujo obtenidos como una función del Re son (McCabe y col., 1991): (1) para $Re < 10$, laminar; (2) para $10 < Re < 10^4$, transición; y (3) para $10^4 < Re$, turbulento.

Tabla 6.1. Propiedades promedio y números de Reynolds (Re) usados para estimaciones del consumo de energía específico de agitación (P_g/V_L) en el RTA.

Propiedades promedio			Re		
ϕ (%)	ρ_L ($kg m^{-3}$)	μ_L ($kg m^{-1} s^{-1}$)	200 rpm	500 rpm	800 rpm
0	1000	0.0008	13537 (3)*	33843 (3)	54150 (3)
5	999	0.01076	1005 (2)	2513 (2)	4022 (2)
10	998	0.02072	53 (2)	132 (2)	212 (2)
0 (Células inactivas $3 g L^{-1}$)	1100	0.00144	8272 (2)	20682 (3)	33091 (3)

* Los números en paréntesis representan el patrón de flujo, (1) laminar, (2) transición y (3) turbulento.

Sólo patrones de flujo turbulento fueron estimados para agua (sin adición del vector) en el biorreactor para todas las velocidades de agitación consideradas. La adición de 5 y 10% (v/v) de

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

aceite de silicón resultó en patrones de flujo de transición y casi laminar, con el subsiguiente incremento en P_g/V_L para obtener mismo grado de turbulencia en el sistema. Del mismo modo, la presencia de células en el medio redujo también la turbulencia en comparación con el sistema exclusivamente con agua.

Puede ser considerado que el comportamiento de $k_L a_{CH_4}$ en el reactor fue similar al $k_L a_{O_2}$ durante los incrementos en velocidad de agitación y fracción del vector como se deduce de la ecuación (6.11).

Experimentos de biodegradación de metano.

La biodegradación de metano se realizó con una concentración de biomasa pseudoestable de 3 g L⁻¹ aproximadamente, y una carga volumétrica de metano promedio igual a 65±4 g m⁻³ h⁻¹.

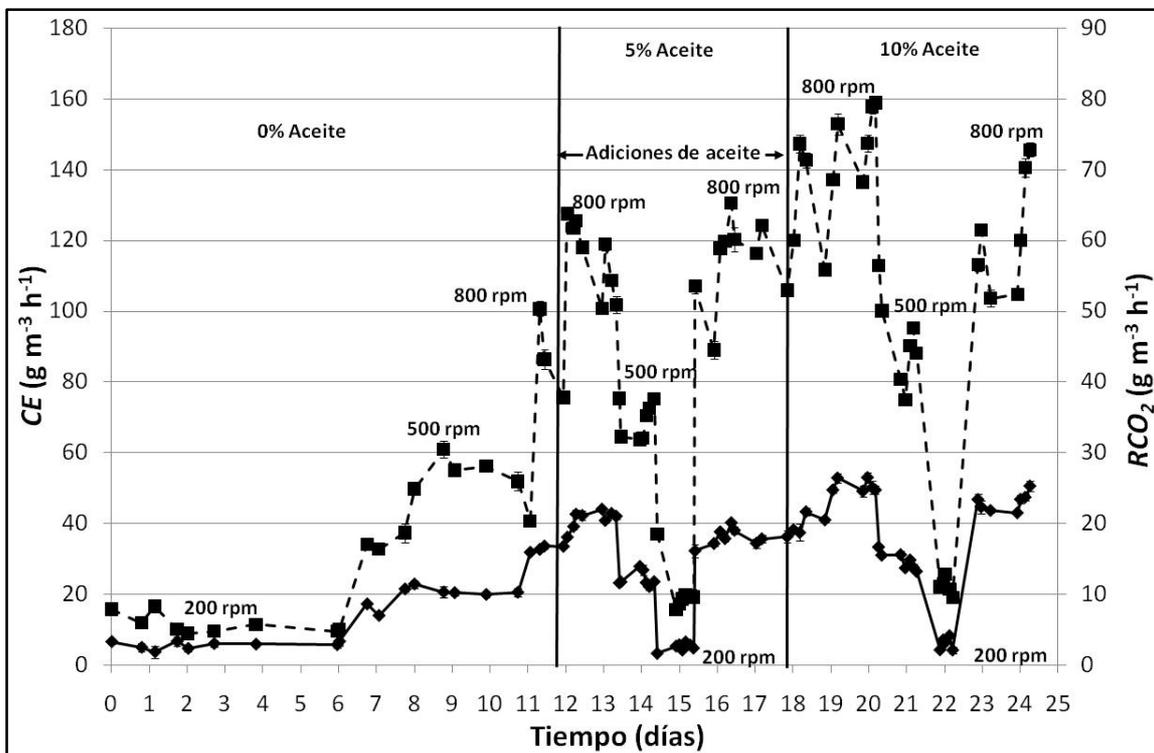


Figura 6.4. Evoluciones de la CE (-◆-) y RCO₂ (-■-) en el RTA operado a diferentes fracciones de aceite de silicón y velocidades de agitación.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Un estado estacionario fue alcanzado para cada condición operacional estudiada como lo demuestran los resultados de CE y RCO_2 (Figura 6.4). El proceso fue iniciado en la ausencia de aceite de silicón a 200 rpm. Durante este periodo, el proceso fue caracterizado por unas CE y RCO_2 extremadamente bajas ($6\pm 1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $7\pm 2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente). El día 6, la velocidad de agitación fue incrementada a 500 rpm lo que resultó en mayores CE y RCO_2 ($20\pm 3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $24\pm 6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente). Al día 10, la velocidad de agitación fue incrementada a 800 rpm con un incremento adicional en CE y RCO_2 ($33\pm 1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $39\pm 2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente). Al día 12, la fracción de aceite de silicón se incrementó a 5% con una subsiguiente mejora en el desempeño del proceso (CE y RCO_2 de $41\pm 3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, y $54\pm 4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente). Disminuciones posteriores en la velocidad de agitación con 5% de aceite de silicón resultaron en disminuciones en CE y RCO_2 (Figura 6.4). Al día 16, la velocidad de agitación se incrementó de nuevo a 800 rpm antes de iniciar la operación con 10% de aceite de silicón. Esta nueva adición de aceite incrementó CE a $48\pm 4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y RCO_2 a $75\pm 5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Del mismo modo que con 5% de aceite, la disminución en la velocidad de agitación provocó la reducción en la CE ($30\pm 3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a 500 rpm y $6\pm 2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a 200 rpm). Por consiguiente ambos, la CE y RCO_2 aumentaron al incrementar la velocidad de agitación y la fracción de aceite. La velocidad de agitación fue la variable dominante que determinó el desempeño de biodegradación de metano mientras que el efecto de la fracción de aceite sólo fue significativo sobre 200 rpm. Sin embargo, a diferencia de la determinación del $k_L a_{O_2}$ abiótico, ni la CE ni RCO_2 disminuyeron cuando la velocidad de agitación se incrementó de 500 a 800 rpm (con 5 y un 10% de aceite de silicón). Esto podría explicarse por la adhesión de células a las interfases gas-aceite y gas-células debido a la naturaleza hidrofóbica de la pared celular (McLeod y Daugulis, 2005), lo que incrementa las biodisponibilidades de oxígeno y metano como resultado de las concentraciones más altas presentes en la fase orgánica (tentativamente hasta 10 veces mayor como estimaron Rocha-Rios y col., 2009), así como el posible consumo directo de

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

dichos sustratos desde las burbujas de gas o gotas de aceite. En este contexto, las capacidades específicas de eliminación de metano (por gramo de biomasa) se incrementaron 48.5 y 47% con las fracciones del 5 y 10%, respectivamente a 800 rpm. Un balance de masa para el oxígeno a 800 rpm con adición de aceite (5 y 10%) indicó que el oxígeno transferido a máximo gradiente (calculado con el $k_L a_{O_2}$ experimental abiótico), no fue suficiente para satisfacer los requerimientos de oxígeno necesarios para obtener las CE observadas sugiriendo que vías alternativas pueden presentarse, incluyendo el contacto directo de las células con el aceite. Por lo tanto, no fue posible obtener una correlación directa entre el $k_L a$ y la CE en el sistema porque los efectos interfaciales en el sistema (una fase continua y tres fases dispersas), así como las propiedades fisicoquímicas del vector orgánico desempeñan un papel importante en el proceso. Una conclusión similar han sido propuesta por otros autores (Dumont y Delmas, 2003; Clarke y Correia, 2008; Nielsen y col., 2005; McLeod y Daugulis, 2005). Además, es importante considerar que una reducción de $k_L a$ no implica forzosamente una reducción en la CE , ya que los incrementos en $C_{O_2}^*$ y en $C_{CH_4}^*$ incrementan la fuerza impulsora a la transferencia (gradiente).

Tabla 6.2. Eficiencias de remoción (ER), capacidades específicas de eliminación de CH_4 (CE_{esp}) y velocidades específicas de producción de CO_2 (RCO_{2esp}) en el RTA.

N (rpm)	ER			$CE_{esp} \times 10^3$ ($g\ g_{biom}^{-1}\ h^{-1}$)			$RCO_{2esp} \times 10^3$ ($g\ g_{biom}^{-1}\ h^{-1}$)		
	0%	5%	10%	0%	5%	10%	0%	5%	10%
200	8±2	8±2	9±2	1.9±0.4	1.8±0.1	2.2±0.2	1.9±0.1	3.1±0.1	3.7±0.0
500	28±2	38±3	44±1	6.6±0.3	7.2±0.2	9.8±0.2	7.9±0.2	10.9±0.1	15.3±0.1
800	59±3	65±2	70±2	11.5±0.2	14.1±0.3	16.9±0.5	15.4±0.2	18.7±0.2	24.7±0.3

Un máximo incremento en la CE específica de 700% fue obtenido con una fracción de aceite de 10% incrementando la velocidad de agitación de 200 a 800 rpm (Tabla 6.2). Del mismo modo, el máximo incremento específico en la CE debido a la adición del aceite de silicón fue del 50% a velocidades de agitación de 500 y 800 rpm ($\phi = 10\%$). Los incrementos máximos en la RCO_2 específica fueron alrededor del 580% (con $\phi = 10\%$) incrementando la velocidad de agitación de

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

200 a 800 rpm y del 92% al aumentar la fracción de aceite de 0 a 10% ($N = 500$ rpm, Tabla 6.2). En un estudio previo usando el mismo consorcio bacteriano (Rocha-Rios y col., 2009), el incremento en la CE específica fue 70% con la adición de 10% (v/v) de aceite de silicón ($N = 800$ rpm) con una carga promedio de metano de $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ($ER = 57\%$), mientras que en este trabajo, el incremento correspondiente fue del 50%, pero con una carga promedio de metano de $65 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ($ER = 70\%$). Las capacidades específicas de eliminación de metano obtenidas en ambos estudios fueron superiores a la mayoría de los valores reportados en la literatura que están en el orden de 10^{-6} a $10^{-2} \text{ g g}_{\text{biom}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Nikiema y col., 2007).

6.6 Conclusiones.

El $k_L a_{O_2}$ abiótico se incrementó con la adición de aceite de silicón o células inactivas frente a los sistemas exclusivamente con agua. Sin embargo, un incremento en la velocidad de agitación de 500 a 800 rpm redujo $k_L a_{O_2}$ con la adición de aceite de silicón o células inactivas en el reactor, por lo que nuevos experimentos son necesarios para comprender el mecanismo de este hallazgo particular. Fue determinado que la adición de aceite así como la presencia de células inactivas impacta el consumo específico de energía en el sistema, por el incremento en la viscosidad del líquido. El aumento tanto de la velocidad de agitación como de la fracción de aceite incrementó la capacidad de eliminación de CH_4 y la velocidad de producción de CO_2 del biorreactor. En este sentido, el incremento en las CE y RCO_2 específicas al aumentar la velocidad de agitación de 500 a 800 rpm contrario a lo observado durante las determinaciones del $k_L a_{O_2}$ abiótico, sugieren una mayor biodisponibilidad de oxígeno y metano para las células, debido al posible consumo de estos compuestos directamente desde las gotas de aceite o burbujas de aire.

7. Efecto de la fracción de aceite de silicón y la velocidad de recirculación del líquido sobre la degradación de metano en un reactor de lecho escurrido.

Rocha-Rios J y Revah S*.

7.1 Resumen.

En este capítulo se estudiaron los efectos de los incrementos en la fracción de aceite de silicón (200 cSt de viscosidad cinemática) y del flujo del líquido de recirculación sobre la biodegradación de metano por un consorcio metanótrofo en un reactor de lecho escurrido. Los resultados indicaron que ni la fracción de aceite ni la velocidad de flujo del líquido a través del empaque permitieron incrementar el desempeño del sistema lo cual fue atribuido a una limitación por transferencia de masa causada por una baja concentración influente de metano al sistema, que se tradujo en una baja concentración de metano al equilibrio en el líquido disponible para los microorganismos así como a la carencia de agitación mecánica en estos sistemas afectando la dispersión del vector.

7.2 Objetivo del estudio.

El objetivo de este capítulo fue determinar los efectos de la fracción de aceite de silicón y la velocidad de recirculación del líquido sobre la degradación de metano por un consorcio metanótrofo en un reactor de lecho escurrido.

7.3 Materiales y métodos.

Microorganismos y condiciones de cultivo.

El consorcio metanótrofo, las condiciones de cultivo y la composición del medio mineral fueron previamente descritas en el capítulo 5.

Los resultados de este capítulo serán publicados próximamente en una revista de arbitraje internacional.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Reactivos.

El gas metano (99.9% v/v) fue obtenido de Praxair (México). El aceite de silicón (polidimetilsiloxano con una viscosidad cinemática de 200 cSt) de Sigma-Aldrich (USA).

Reactor de lecho escurrido (RLE).

El sistema experimental y el material de empaque fueron previamente descritos (capítulo 5). El flujo de entrada de gas en el sistema fue de 0.21 L min^{-1} equivalente a un *TRLV* de 4.8 min con una carga promedio de metano de $74 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (la concentración influente promedio de metano promedio fue 5.5 g m^{-3}). Medio mineral fresco fue introducido continuamente al sistema con una tasa de dilución de 0.05 d^{-1} . El experimento fue conducido comparando el desempeño del RLE en estado estacionario bajo tres fracciones de aceite de silicón (0, 5 y 10% v/v) y tres velocidades de recirculación del líquido (0, 175 y $275 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}$). Es importante destacar que cuando el RLE fue operado sin recirculación del líquido el sistema funcionó simplemente como un biofiltro pero la operación bajo esta configuración fue por periodos breves de tiempo a fin de evitar pérdidas de humedad importantes en el empaque. Primeramente, el sistema fue operado con una velocidad de recirculación del líquido de $175 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}$ y sin aceite de silicón hasta que una degradación estable fue alcanzada en el sistema (después de 12 días de operación). Una vez alcanzado dicho estado estacionario, las concentraciones de CH_4 y CO_2 fueron periódicamente monitoreadas (tres veces al día) durante un total de 22 días en la que se variaron progresivamente las velocidades de recirculación del líquido y la fracción de aceite para identificar su impacto sobre la degradación de metano. Las condiciones operacionales estudiadas son resumidas en la Tabla 7.1.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Tabla 7.1. Velocidades de recirculación del líquido (F_{RL}) y fracciones del vector de transferencia (θ) analizadas durante la biodegradación continua de metano en el RLE.

Intervalo de tiempo (días)	Condiciones de operación
0-2	$F_{RL} = 175 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta = 0\%$
2-5	$F_{RL} = 275 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta = 0\%$
5-6.5	$F_{RL} = 0 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta = 0\%$
6.5-8.5	$F_{RL} = 175 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta_{S200} = 5\%$
8.5-12	$F_{RL} = 275 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta_{S200} = 5\%$
12-14	$F_{RL} = 0 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta_{S200} = 5\%$
14-16	$F_{RL} = 175 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta_{S200} = 10\%$
16-20	$F_{RL} = 275 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta_{S200} = 10\%$
20-22	$F_{RL} = 0 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}; \theta_{S200} = 10\%$

Variables de desempeño.

Las variables de desempeño (L , CE , RCO_2 y ER) en el RLE han sido definidas previamente (capítulo 5).

Procedimientos analíticos.

Al igual que las variables de desempeño, las determinaciones analíticas de las concentraciones de CH_4 , O_2 , CO_2 y biomasa en el RLE fueron previamente descritas en el capítulo 5. La temperatura del sistema y el pH fueron controlados a 30 °C y 7, respectivamente.

7.4 Resultados y discusión.

Las evoluciones en CE y RCO_2 a lo largo del experimento bajo las diferentes condiciones operacionales consideradas (Tabla 7.1) son presentadas en la Figura 7.1.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

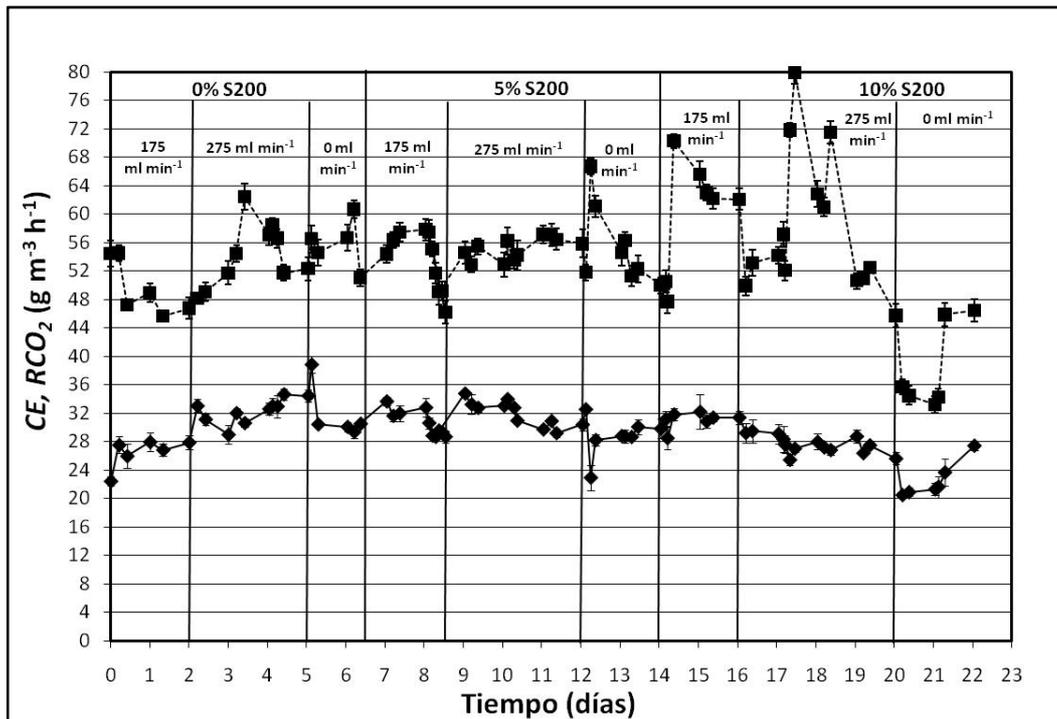


Figura 7.1. Evoluciones de la CE (-◆-) y RCO₂ (-■-) en el RLE operado a diferentes fracciones de aceite de silicón y velocidades de recirculación del líquido.

Los resultados en estado estacionario (con una concentración de biomasa promedio en el líquido de recirculación de 1.1 g L⁻¹) mostrados en la Figura 7.1 indican que no se apreciaron diferencias significativas en CE debido a las variaciones en el flujo del líquido recirculado (0, 175 ó 275 mL min⁻¹ L_{emp}⁻¹) o la fracción de aceite (0, 5 y 10% v/v); aún cuando en el experimento previo (capítulo 5) una mejora en biodegradación de metano del 131% fue obtenida en este sistema con la adición del 10% (v/v) de aceite de silicón. La máxima CE para este sistema fue de 30 g m⁻³ h⁻¹ a una carga volumétrica promedio de 74 g m⁻³ h⁻¹ mientras que en el primer estudio, la máxima CE fue de 51 g m⁻³ h⁻¹ a una L promedio de 144 g m⁻³ h⁻¹, esto se tradujo en concentraciones influente de metano de 5.5 y 11.1 g m⁻³, respectivamente y eficiencias máximas de remoción del 40% en ambos casos, indicando que quizás el grado de dispersión del vector en este sistema no permitió obtener mejoras superiores a dicho valor. Fazaelpoor y Shojoasadati (2002) observaron en un

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

biofiltro para la degradación de una mezcla de compuestos hidrófobos con hexano como componente principal (80% v/v), que a bajas cargas del contaminante ($0-13 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) no había mejora con la adición del aceite de silicón (20% v/v); sin embargo, cuando la carga fue incrementada por arriba de este intervalo, una mejora en *CE* del 10% fue obtenida con la presencia del vector de transferencia. En un estudio posterior, estos mismos autores (Fazaelipoor y col., 2006) reportaron que no hubo diferencia significativa en degradación de hexano entre los dos biofiltros hasta cargas de $30 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ pero al incrementar dicha carga hasta $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ una mejora del 45% en *CE* fue obtenida con la adición del aceite de silicón. Esto muestra la importancia de la concentración influente (y por ende la concentración de equilibrio en la biopelícula) del contaminante en estos sistemas laminares carentes de agitación mecánica.

Al final del experimento, la concentración de biomasa adherida al empaque fue de 2.1 g L^{-1} que adicionados a la concentración promedio en el líquido de recirculación (1.1 g L^{-1}) dan un valor total de 3.2 g L^{-1} , que es inferior a la obtenida en el primer estudio (5 g L^{-1}). Diversos autores han estudiado las contribuciones de la biomasa suspendida y adherida al empaque en reactores de lecho escurrido. Así por ejemplo, Cox y col. (1998) encontraron que la biodegradación de tolueno en el líquido de recirculación fue un 22% de la degradación total aún cuando la biomasa suspendida fue sólo 1% de la inmovilizada. La comparación de las actividades específicas indicó que las células suspendidas fueron 20 veces más activas que las inmovilizadas mostrando que la biodegradación en fase líquida que suele ser despreciada en éstos sistemas puede ser muy importante.

Otro aspecto importante a considerar para un mayor entendimiento de los reactores de lecho escurrido es el impacto del líquido de escurrimiento sobre la transferencia de masa. Gai y Baumann (2001) reportaron que la película de escurrimiento puede actuar simultáneamente como: (1) un acarreador de sustratos para los microorganismos, (2) una barrera para la transferencia de masa a la biopelícula y, (3) un espacio de reacción adicional. Por lo anterior, dichos autores concluyeron que

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

la operación de un RLE limitado por transferencia de masa presentará uno de los siguientes regímenes, a) régimen de biopelícula o, b) régimen de película escurrida.

En nuestro sistema los resultados indican que a diferencia de lo reportado por Cox y col. (1998) la biomasa suspendida no contribuyó prácticamente en nada a la biodegradación de metano incluso con la presencia de aceite de silicón. Los resultados aquí reportados sugieren que el sistema pudo haber estado limitado por la transferencia de metano a la fase acuosa debido a la baja concentración influente de metano utilizada en este experimento (5.5 g m^{-3}) a diferencia de un primer estudio donde dicha concentración fue mayor (11.1 g m^{-3}).

Experimentos novedosos que permitan una determinación precisa de la transferencia de masa en estos sistemas son necesarios para analizar con mayor detalle este hallazgo particular.

7.5 Conclusiones.

No se observaron efectos del incremento en la fracción de aceite de silicón o del incremento del flujo recirculación del líquido sobre la degradación de metano en un reactor de lecho escurrido. Los resultados obtenidos a partir de dos experimentos con distintas cargas de metano en este biorreactor sugieren que el efecto positivo del aceite de silicón depende de la concentración influente de metano. Del mismo modo, el incremento en el flujo de recirculación del líquido a través del empaque sin un incremento en la degradación de metano, indica que las células en suspensión no contribuyeron a la remoción de metano en el sistema.

8. Biodegradación de metano en un reactor airlift de tubo concéntrico con dos fases de partición y recirculación del gas.

Rocha-Rios J, Quijano G, Thalasso F, Revah S* y Muñoz R.

8.1 Resumen.

El potencial de diversos vectores orgánicos (líquidos y sólidos) para incrementar la transferencia de CH₄ fue estudiado en un reactor airlift de tubo concéntrico con dos fases de partición operado con recirculación del gas bajo condiciones abióticas y bióticas. Un análisis preliminar de los solventes líquidos más comunes (aceite de silicón 20 cSt, aceite de silicón 200 cSt y 2,2,4,4,6,8,8-heptametilnonano) así como de los polímeros sólidos (Kraton® G6157, Desmopan® DP9370A y Elvax® 880) resultó en la selección del aceite de silicón 200 cSt (S200) y Desmopan DP9370A (D9370) para posterior investigación en el biorreactor debido a sus altas afinidades por CH₄, biocompatibilidad y no-biodegradabilidad.

Bajo condiciones abióticas, el incremento en la recirculación del gas de 0 a 1 vvm en ausencia de un vector de transferencia incrementó el coeficiente global de transferencia de masa de oxígeno (k_{La}) en un 195%. La presencia de S200 y D9370 al 10% (v/v) durante la operación a 1 vvm de recirculación del gas indujo incrementos en k_{La} del 100 y 136%, respectivamente. Del mismo modo, el incremento en la recirculación del gas de 0 a 1 vvm en la ausencia de un vector de transferencia, así como en la presencia de S200 durante los experimentos continuos de biodegradación de metano, resultó en aumentos de las velocidades de eliminación de CH₄ y producción de CO₂ de 47 y 36%, respectivamente. Sin embargo, no se observó una mejora considerable en la eliminación de CH₄ debido a la presencia de 10% (v/v) de D9370 o S200 durante la operación a 1 vvm.

Los resultados de este capítulo han sido publicados en el artículo Methane biodegradation in a two-phase partition internal loop airlift reactor with gas recirculation. Paper in press, accepted in J Chem Technol Biotechnol (2010b) DOI:10.1002/jctb.2523.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Los resultados sugieren que la actividad microbiana más que la transferencia de masa pudiera ser el paso limitante de la remoción biológica de CH₄ en este sistema, contrario a lo observado en un estudio previo empleando un reactor de tanque agitado donde la adición de la fase orgánica incrementó la capacidad de eliminación de metano.

Palabras clave: CH₄, tratamiento de gas, limitación por transferencia de masa, aceite de silicón, polímeros sólidos, BPDFs.

8.2 Objetivo del estudio.

El objetivo de este capítulo fue estudiar los efectos del incremento en la velocidad de aireación y de distintos vectores de transferencia sobre el k_{La} abiótico y sobre la degradación de metano en un reactor airlift (RAL) operado con recirculación del gas para desacoplar el tiempo de retención de los sustratos gaseosos (oxígeno y metano) de la turbulencia del líquido dentro del reactor.

8.3 Materiales y métodos.

Microorganismos y condiciones de cultivo.

El consorcio metanótrofo utilizado en este experimento se enriqueció a partir de una muestra de lodo activado de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UAM-Iztapalapa (México, D.F.). El mantenimiento del cultivo y la preparación del inóculo se llevaron a cabo como se ha descrito previamente. El medio mineral empleado durante la experimentación estuvo compuesto por (g L⁻¹): NaNO₃, 2; MgSO₄·7H₂O, 0.2; FeSO₄·7H₂O, 10⁻³; Na₂HPO₄, 2; NaH₂PO₄·H₂O, 0.9; CoSO₄·5H₂O, 5×10⁻⁶; H₃BO₃, 10⁻⁵; MnSO₄·5H₂O, 10⁻⁵; ZnSO₄·7H₂O, 7×10⁻⁵; MoO₃, 10⁻⁵; KCl, 0.04; CaCl₂, 0.015. El pH final del medio fue 7.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Reactivos.

El gas metano a concentraciones del 99.99% y del 4% (v/v) en aire se compraron a Abello Linde (España). Los vectores líquidos (aceites de silicón con viscosidades cinemáticas de 20 (S20) y 200 (S200) cSt, así como 2,2,4,4,6,8,8-heptametilnonano (HMN)) se obtuvieron de Sigma-Aldrich (España). Los polímeros sólidos Kraton® G6157 (K6157), Desmopan® DP9370A (D9370) y Elvax® 880 (E880), con un diámetro promedio de partícula de 0.003 m, fueron suministradas amablemente por polímeros Kraton (España), Bayer (Francia) y Dupont (España), respectivamente.

Selección de la fase orgánica: coeficientes de partición de metano.

Botellas serológicas de 125 mL conteniendo 60 mL de las fases orgánicas estudiadas fueron selladas con septos de butilo y adicionadas con 4 y 8 mL de CH₄. Las botellas se mantuvieron a 30 °C y 250 rpm (agitador orbital) y la concentración de CH₄ en el gas fue monitoreada periódicamente hasta la saturación de los vectores. Los coeficientes de partición (definidos como $K = C_g/C_v$, donde C_g y C_v representan las concentraciones de CH₄ en el gas y en el vector, respectivamente) se estimaron a través de un balance de metano basado en la determinación experimental de C_g . Las pruebas se realizaron por duplicado.

Selección de la fase orgánica: pruebas de biodegradabilidad y toxicidad.

La biodegradabilidad de los vectores de transferencia bajo estudio fue evaluada en botellas serológicas de vidrio de 125 mL conteniendo 20 mL del medio mineral, 2 mL del vector y 1 mL de inóculo bacteriano fresco. Las botellas se sellaron con septos de butilo y se incubaron en un agitador rotatorio a 250 rpm y 30 °C durante 30 días con la finalidad de permitir la aclimatación bacteriana (OECD, 1993). Las botellas empleadas como control se prepararon e incubaron bajo las mismas condiciones experimentales pero sin la presencia del vector de transferencia para considerar

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

la respiración endógena bacteriana. Las concentraciones de CO₂ y O₂ en el gas fueron periódicamente monitoreadas mediante GC-TCD. Un vector de transferencia fue considerado biodegradable si la concentración de CO₂ en las botellas de prueba fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que en las botellas control (Quijano y col., 2010a). Las pruebas se realizaron por duplicado.

Las pruebas de toxicidad fueron preparadas en forma análoga a las de biodegradabilidad pero las botellas fueron además adicionadas con glucosa, extracto de levadura y peptona (a 1, 0.02 y 0.02 g L⁻¹, respectivamente) como fuentes de carbono y energía fácilmente biodegradables. Botellas preparadas de forma similar pero sin el vector de transferencia fueron empleadas como control. Muestras gaseosas de cada botella fueron analizadas en duplicado por GC-TCD cada 12 horas durante 3 días. La fase orgánica se considero tóxica si la concentración de CO₂ en las botellas de prueba fue significativamente menor ($p < 0.05$) que en las botellas control. Las pruebas se realizaron por duplicado.

En base a su biocompatibilidad y mayor afinidad por metano, dos polímeros (uno líquido y otro sólido) se seleccionaron para su posterior aplicación durante los experimentos continuos de degradación de metano en el RAL.

Biodegradación de metano en botellas.

El principal objetivo de este experimento fue la estimación de los parámetros estequiométricos (rendimientos) característicos del consorcio metanótrofo en la ausencia de limitación por transferencia de masa (a velocidades intrínsecas). En botellas de vidrio estériles de 1250 mL se adicionaron 295 mL de medio mineral estéril y 5 ml de inóculo, lo que resultó en una concentración inicial de biomasa de 4.8 mg L⁻¹. Posteriormente, 65 mL de aire fueron extraídos de cada botella y sustituidos por el mismo volumen de CH₄ para obtener una concentración inicial de 50 g m⁻³ (7.2% v/v). Estos sistemas fueron incubados a 200 rpm (agitación magnética) y 30 °C durante 170 h. Las

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

botellas control que fueron preparadas en ausencia de inóculo bacteriano y adicionadas con 1 ml de ácido sulfúrico concentrado para evitar el crecimiento microbiano fueron incubadas en forma análoga. Las evoluciones en las concentraciones gaseosas de CH₄, O₂ y CO₂ fueron periódicamente monitoreadas mediante GC-TCD. Adicionalmente, muestras líquidas de 1 mL fueron periódicamente extraídas para monitorear la concentración de biomasa mediante determinaciones de densidad óptica a 600 nm. Todas las pruebas fueron realizadas por duplicado.

Sistema experimental.

El RAL de recirculación interna consistió de una columna enchaquetada de vidrio con un diámetro interno de 0.09 m y una altura de 0.42 m (con un volumen de trabajo de 2 L). El tubo concéntrico (riser) tiene un diámetro interno de 0.055 m, una altura de 0.295 metros y fue colocado a 0.035 m del fondo del reactor. Un difusor metálico poroso (con un diámetro de poro promedio de 10 μm) ubicado en la base del riser fue utilizado para la distribución del gas. Un compresor de membrana (ElectroAD, España), fue conectado a la salida del biorreactor para recircular parte de la corriente gaseosa a través del sistema con la finalidad de desacoplar el tiempo de residencia de lecho vacío (*TRLV*) de la turbulencia en el líquido (Figura 8.1). Todas las velocidades de flujo fueron controladas usando rotámetros calibrados (Aalborg, USA). El sistema experimental fue siempre operado a 30 °C.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

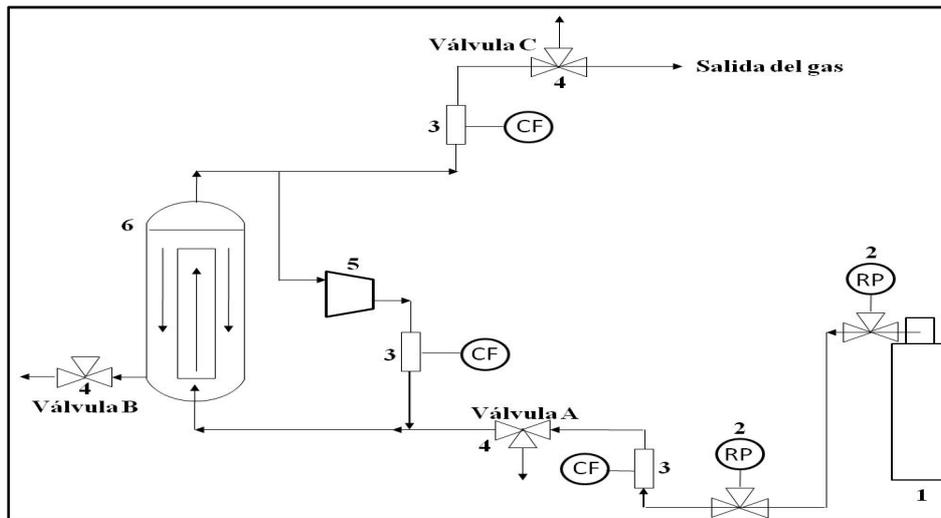


Figura 8.1. Ilustración esquemática del RAL. 1, cilindro de gas conteniendo CH₄ al 3%; 2, reguladores de presión (RP); 3, controladores de flujo (CF); 4, puertos de muestreo del gas (válvulas A y C) y de líquido (B); 5, compresor; 6, reactor airlift.

Determinación abiótica de k_{LaO_2} .

El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{LaO_2}) en presencia del 10% de los vectores seleccionados fue obtenido experimentalmente a partir de mediciones en la velocidad de transferencia de oxígeno a varios flujos de recirculación del gas (0, 0.5 y 1 vvm) usando el método de oxidación del sulfito de sodio (Quijano y col., 2010a). Determinaciones de k_{La} a los tres flujos de recirculación mencionados del gas pero sin el vector de transferencia fueron utilizadas como controles. Cada experimento se realizó por duplicado.

Biodegradación continua de metano.

La capacidad de los vectores seleccionados para incrementar la biodegradación de metano en un RAL continuo operado con recirculación del gas fue evaluada para una concentración influente promedio de 20 g m⁻³ (4% v/v) y un $TRLV$ de 7.3 minutos. Esto resultó en una velocidad de carga de metano promedio (L) de 171 g m⁻³ h⁻¹. El sistema fue operado a una velocidad de dilución de 0.05 días⁻¹ reemplazando 100 ml del medio de cultivo por medio mineral fresco. El RAL fue

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

inicialmente operado en ausencia de un vector de transferencia y sin recirculación a fin de alcanzar una concentración estable de biomasa de aproximadamente 3 g L^{-1} . Una vez que dicha concentración de biomasa fue obtenida, diferentes condiciones de flujo de recirculación del gas y de fracción del vector (Tabla 8.1) fueron analizadas para determinar su efecto sobre la biodegradación de metano.

Tabla 8.1. Velocidades de recirculación del gas (F_{RG}) y fracciones del vector de transferencia (θ) analizadas durante la biodegradación continua de metano en el RAL.

Intervalo de tiempo (días)	Condiciones de operación
0-9	$F_{RG} = 0 \text{ vvm}; \theta = 0\%$
9-21.5	$F_{RG} = 1 \text{ vvm}; \theta = 0\%$
21.5-27	$F_{RG} = 1 \text{ vvm}; \theta_{D9370} = 10\%$
27-29	$F_{RG} = 1 \text{ vvm}; \theta = 0\%$
29-35	$F_{RG} = 0 \text{ vvm}; \theta = 0\%$
35-38	$F_{RG} = 1 \text{ vvm}; \theta = 0\%$
38-42	$F_{RG} = 1 \text{ vvm}; \theta_{S200} = 10\%$
42-45	$F_{RG} = 2 \text{ vvm}; \theta_{S200} = 10\%$
45-53	$F_{RG} = 0 \text{ vvm}; \theta_{S200} = 10\%$

Muestras de gas de $250 \mu\text{L}$ fueron periódicamente extraídas de las válvulas A y C (Figura 8.1) para monitorear las concentraciones gaseosas de CH_4 y CO_2 , mientras que la concentración de biomasa fue estimada diariamente por mediciones de densidad óptica a 600 nm ($\text{DO}_{600\text{nm}}$) a partir de muestras líquidas obtenidas de la válvula B (Figura 8.1). Adicionalmente, muestras líquidas de 15 mL fueron semanalmente extraídas del sistema para determinaciones de carbono orgánico total (COT). El pH del medio fue mantenido a 7 por adición diaria de ácido clorhídrico. Agua destilada fue diariamente añadida al sistema para minimizar las pérdidas de agua por evaporación.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Variables de desempeño durante la biodegradación continua de metano.

El desempeño del RAL fue descrito por la carga volumétrica de metano (L), la capacidad volumétrica de eliminación de metano (CE), la velocidad volumétrica de producción de CO_2 (RCO_2) y la eficiencia de remoción (ER) que son definidas mediante las ecuaciones 8.1-8.4:

$$L = C_{CH_4e} \cdot F_G \cdot V_L^{-1} \quad (8.1)$$

$$CE = (C_{CH_4e} - C_{CH_4s}) \cdot F_G \cdot V_L^{-1} \quad (8.2)$$

$$RCO_2 = (C_{CO_2e} - C_{CO_2s}) \cdot F_G \cdot V_L^{-1} \quad (8.3)$$

$$ER = 100 \cdot \left\{ \frac{C_{CH_4e} - C_{CH_4s}}{C_{CH_4e}} \right\} \quad (8.4)$$

donde C_{CH_4e} , C_{CO_2e} , C_{CH_4s} y C_{CO_2s} , son las concentraciones gaseosas de CH_4 y CO_2 ($g\ m^{-3}$) en la entrada (válvula A) y salida (válvula C) generales del sistema, respectivamente. F_G y V_L son el flujo volumétrico del gas ($m^3\ h^{-1}$) y el volumen del líquido en el sistema (m^3), respectivamente.

Procedimientos analíticos.

Las concentraciones gaseosas de CH_4 , CO_2 y O_2 se midieron con un GC-TCD (Agilent Technologies 6890N, USA) equipado con una columna Porapak N, 80/100 ($3\ m \times 1.8$) (Tecknokroma, USA) y un tamiz molecular de $13 \times 45/60$ ($0.9\ m \times 1/8$) (Tecknokroma, USA). Helio fue utilizado como gas acarreador a un flujo de $5.4\ mL\ min^{-1}$. Las temperaturas del detector y del inyector se mantuvieron a 200 y 150 °C, respectivamente. La temperatura del horno fue inicialmente de 40 °C durante 3 minutos e incrementada a razón de $40\ °C\ min^{-1}$ hasta alcanzar 100 °C donde se mantenía otros 1.5 min antes de concluir el programa de control. Estándares externos permitieron la cuantificación de CH_4 , CO_2 y O_2 .

La concentración de biomasa en el reactor fue estimada mediante determinaciones de absorbencia del cultivo empleando un espectrofotómetro HITACHI U200 UV/visible (Hitachi Ltd.,

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Japón). El pH en el RAL se monitoreo periódicamente con un pH-metro (Eutech pH510, Singapur).

El carbono orgánico total (COT) se midió con un TOC-VCSH (Shimadzu, Japón) de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Tratamiento estadístico.

Todos los resultados de este capítulo son reportados como el valor promedio con su error estándar correspondiente. Para determinar diferencias significativas en k_La (durante los experimentos abióticos) o en la CE (durante los experimentos biológicos), causadas por los incrementos en el flujo de recirculación del gas o en la fracción del vector, los resultados fueron analizados usando ANOVA con una significancia de $p \leq 0.05$. El paquete estadístico de Excel (Microsoft, USA) fue utilizado para el tratamiento de los datos.

8.4 Resultados y discusión.

Selección de la fase orgánica.

Los coeficientes de partición de CH_4 de los vectores de transferencia líquidos ($1.8 < K < 2.1$) fueron significativamente menores que los correspondientes para los polímeros sólidos ($4 < K < 9.7$) (Tabla 8.2).

Tabla 8.2. Coeficientes de partición (K), toxicidad y biodegradabilidad de los vectores de transferencia.

<i>Transfer vector:</i>	$K = C_g/C_v$	<i>Toxicity</i>	<i>Biodegradability</i>
S200	2.0 ± 0.1	-	-
S20	1.8 ± 0.1	-	-
HMN	2.1 ± 0.1	-	-
D9370	5.4 ± 0.2	-	-
E880	9.7 ± 1.5	-	-
K6157	4.0 ± 0.7	-	-

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

En general, el metano fue aproximadamente 10 veces más soluble en la fase orgánica que en el agua, donde el coeficiente de partición adimensional a 30 °C es 33.5 ± 2.3 (Rocha-Rios y col., 2009). Estos valores son similares a los reportados por Quijano y col. (2010a) en los mismos vectores para oxígeno (un compuesto que posee una partición similar en agua), pero fueron mucho más altos que los K determinados para hexano o alfa-pineno (0.006 y 0.00005 en S200, respectivamente). Estos coeficientes de partición relativamente altos anticiparon un incremento limitado en la transferencia de CH_4 a la fase acuosa debido a un incremento en el gradiente de concentraciones, debido a que sólo factores máximos de mejora de 5 fueron registrados para las transferencias de hexano y alfa-pineno con el S200 a pesar de exhibir coeficientes de partición de 3 a 5 órdenes de magnitud inferiores. De hecho, la mejora en la biodegradación de CH_4 observada por Rocha-Rios y col. (2009) se atribuyó a un posible consumo directo de CH_4 desde las gotas de aceite de silicón (donde la mayor concentración de CH_4 en la fase orgánica propició mayores velocidades de crecimiento de biomasa y por ende, mayor consumo de CH_4) más que por una mejora en la transferencia del sustrato a la fase acuosa. Los polímeros sólidos requirieron más tiempo para alcanzar el equilibrio que los vectores líquidos, sugiriendo que la menor difusividad de CH_4 en las fases sólidas puede conducir a menores coeficientes de transferencia de masa. Este menor desempeño de los vectores sólidos en comparación con los solventes orgánicos líquidos ha sido recientemente señalado por Hernández y col. (2010) empleando hexano como compuesto modelo para estudios de transferencia.

Ninguno de los vectores de transferencia analizados fue biodegradable o tóxico para el consorcio metanótrofo, como lo demostró la comparación de las concentraciones de CO_2 producido en las botellas de prueba con respecto a las botellas control. A pesar de que estos resultados pudieron ser anticipados considerando el hecho de que los polímeros considerados habían mostrado previamente una extraordinaria biocompatibilidad y resistencia en presencia de

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

cepas de *Pseudomonas* degradando hexano y alfa-pineno, estas pruebas son siempre requeridas cuando se emplea un nuevo microorganismo (Muñoz y col., 2008; Hernández y col., 2010). En nuestro caso particular, una caracterización preliminar de la población bacteriana en el consorcio reveló que *Methylobacterium organophilum* fue el género dominante. Finalmente, debe ser subrayado que los criterios básicos de selección de fases orgánicas tales como una baja presión de vapor e inmiscibilidad fueron también satisfechos por los polímeros analizados como fue demostrado en un estudio previo (Quijano y col., 2010a). Los polímeros sólidos aquí estudiados fueron en general dos órdenes de magnitud más baratos que los vectores líquidos, con precios oscilando de los 3 a los 7 € L⁻¹.

A pesar de que todos los vectores líquidos presentaron biocompatibilidades y afinidades similares para CH₄, S200 fue elegido como un vector líquido modelo para comparar el desempeño del RAL con estudios previos donde S200 ha sido utilizado como vector de transferencia en otras configuraciones de reactor (Rocha-Rios y col., 2009). Del mismo modo, D9370 fue seleccionado como el vector sólido modelo debido a que la adherencia electrostática de K6157 a la pared de vidrio del RAL impedía su adecuada dispersión en el líquido así como por su valor de *K* menor (mayor afinidad) que el correspondiente a E880.

Biodegradación de metano en botellas.

La biodegradación CH₄ en las botellas estuvo caracterizada por una fase de adaptación inicial de 5 horas seguida por un periodo lineal en crecimiento de biomasa, consumos de CH₄ y O₂, así como en producción de CO₂ por aproximadamente 74 horas (Figura 8.2).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

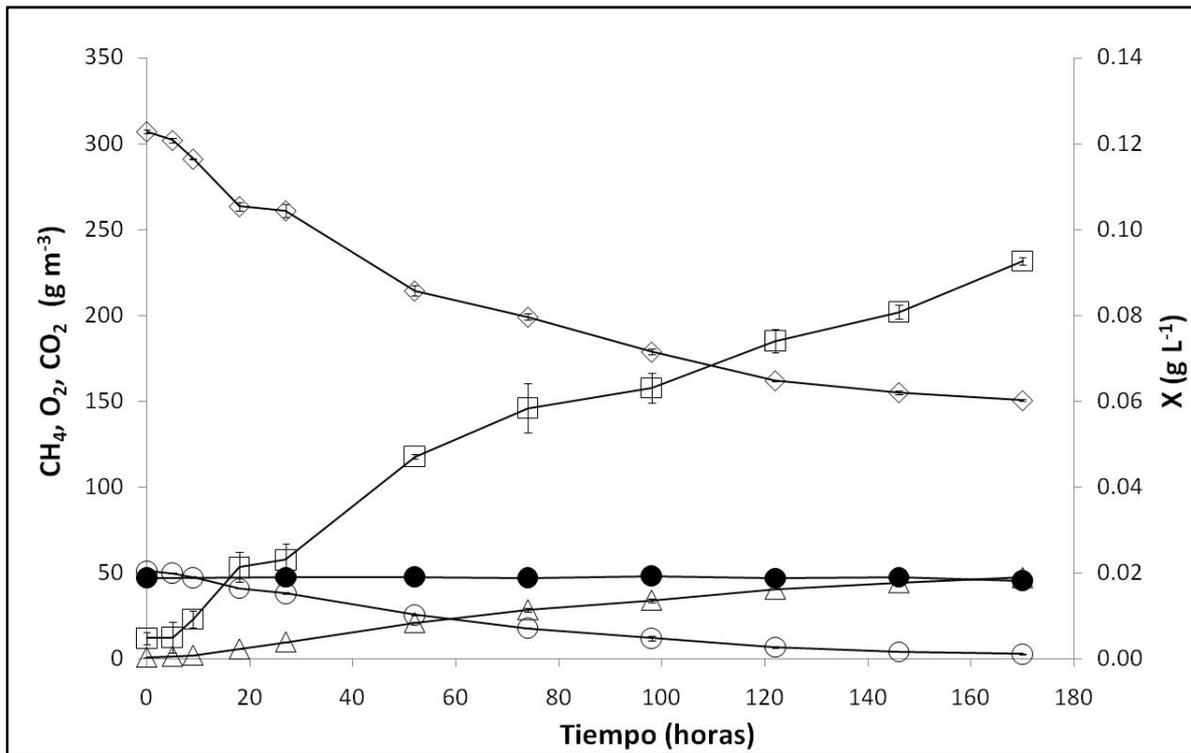


Figura 8.2. Evolución en las concentraciones de CH₄ (-○-), O₂ (-◇-), CO₂ (-△-) and X (-□-) durante el experimento de biodegradación en botellas. El círculo cerrado (-●-) representa la concentración de metano en las botellas control (sin células).

La disminución en la concentración gaseosa de CH₄ resultó en una disminución de la actividad microbiana, como fue indicado por la desaceleración en las velocidades de consumo de CH₄ y O₂. Esta disminución en la remoción de CH₄ causada por una menor concentración gaseosa es explicada considerando la reducción en el gradiente de concentraciones disponible para la transferencia de masa, la cual es típica de procesos limitados por transporte involucrando sustratos gaseosos con altos valores de la constante de Henry. Una velocidad específica promedio de biodegradación de metano de $0.0676 \text{ gCH}_4 \text{ g}_{\text{biom}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ fue determinada en el sistema para concentraciones de 10 a 20 g m⁻³ de metano la cual está dentro del intervalo de las tasas específicas reportadas en la literatura de 10^{-2} a $10^{-6} \text{ gCH}_4 \text{ g}_{\text{biom}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Nikiema y col., 2007). Estas bajas tasas de biodegradación específica de metano en comparación con velocidades específicas típicas para

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

consumo de O₂ (por ejemplo 0.14 gO₂ g_{biom}⁻¹ h⁻¹) para *Pseudomonas aeruginosa* reportada por Beyenal y col. (2003) sugiere que la biodegradación de CH₄ puede algunas veces ser limitada por la actividad microbiana. Rendimientos de producción de biomasa y consumo de O₂ estimados en 0.49±0.02 g_{biom} gCH₄⁻¹ y 3.35±0.01 gO₂ gCH₄⁻¹ respectivamente, fueron estimados para este consorcio metanótrofo. Las botellas control confirmaron la ausencia de mecanismos abióticos de remoción de CH₄ así como la hermeticidad de los sistemas experimentales.

Experimentos abióticos de transferencia de masa.

La introducción de la recirculación del gas durante la operación del RAL incrementó k_{LaO_2} de 0.0093 a 0.0186 s⁻¹ a 0.5 vvm de recirculación del gas y a 0.0274 s⁻¹ a 1 vvm (Figura 8.3). Una rigurosa determinación de k_{LaO_2} debe considerar la dilución del oxígeno debido a la recirculación del aire (el contenido de oxígeno del aire recirculado disminuye por la reacción con sulfito de sodio en presencia de Co⁺²; Ruchti y col., 1985). Sin embargo, en nuestro caso particular la disminución de la concentración de oxígeno en el aire de recirculación fue despreciable y no afectó significativamente la estimación de k_{LaO_2} a partir del *VTO*. Esto fue confirmado por la linealidad del ajuste ($R^2 > 0.95$) en el procedimiento utilizado para estimar *VTO*.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

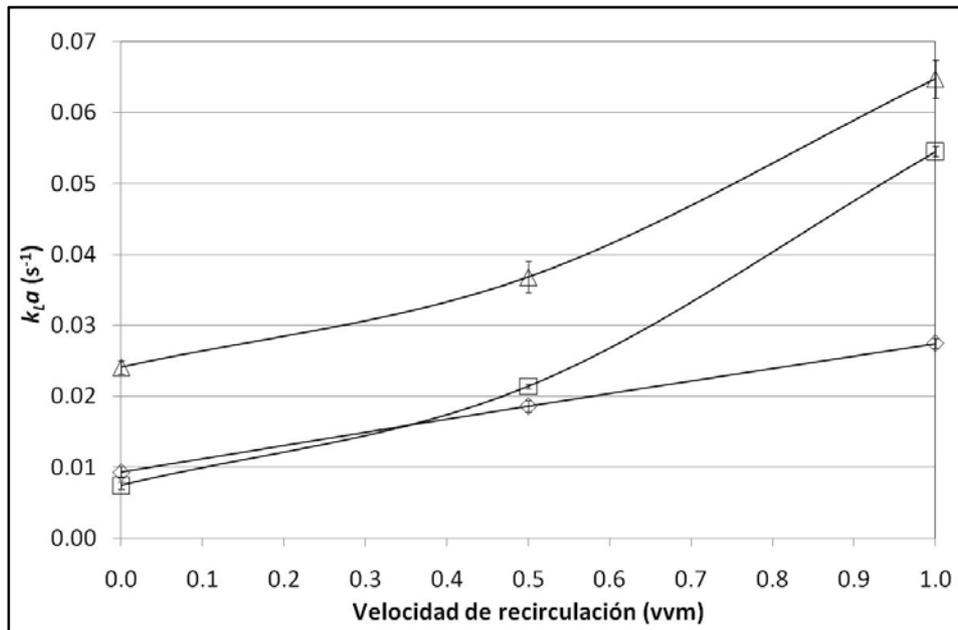


Figura 8.3. *Influencia de la velocidad de recirculación del gas sobre k_{La} abiótico en el RAL con 10% de S200 (-□-), 10% de D9370 (-Δ-) y sin vector de transferencia (-◇-).*

Estos valores coinciden con los reportados por Quijano y col. (2010a), quienes registraron valores de k_{LaO_2} de 0.035 s^{-1} en un RAL similar operado sin recirculación de gas y con un $TRLV$ de 2.5 minutos. El empleo de la recirculación del gas en el interior del RAL permitió desacoplar el $TRLV$ de la velocidad superficial del gas a través del sistema, esto es importante considerando que en un RAL la velocidad de circulación del líquido (y por lo tanto la turbulencia) están directamente relacionadas con la velocidad superficial del gas (Chisti y Moo-Young, 1985; Chisti, 1989). Esta separación entre turbulencia y tiempo de residencia en el RAL es crucial en el tratamiento de contaminantes muy hidrófobos, ya que estos contaminantes necesitan un tiempo razonable para difundirse en la fase acuosa lo cual implica bajos flujos de gas y bajas velocidades de recirculación del líquido lo que finalmente se traduce en bajos valores de k_{La} . En nuestro caso, el uso de la recirculación del gas a 1 vvm resultó en un incremento de k_{LaO_2} del 195%. Littlejohns y Daugulis (2009) reportaron eficiencias de remoción bajas de BTEX ($RE \approx 72\%$) en un RAL operado a 3.7 minutos de $TRLV$ y con una carga volumétrica de $20 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (sin recirculación del gas). Esta carga

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

de BTEX fue sin embargo removida totalmente en un RTA operado a un $TRLV$ aún más bajo indicando la importancia del grado de turbulencia en el sistema.

La presencia de 10% de S200 en ausencia de recirculación y a un flujo de 0.5 vvm no incrementó significativamente el $k_L a_{O_2}$ (Figura 8.3). Fue apreciable que las bajas velocidades de recirculación del líquido a 0 y 0.5 vvm junto con la baja densidad del aceite (0.98 kg L^{-1}) y su alta viscosidad (200 cSt) no permitieron la dispersión adecuada de este vector coalesciendo en forma de grandes gotas localizadas principalmente en la parte superior del RAL. Sin embargo, cuando la velocidad de recirculación del gas fue incrementada a 1 vvm, una mejora del 100% en comparación con el control (sin S200) fue registrada debido a una mejor dispersión del vector a esta última condición. Por otro lado, la adición de D9370 siempre resultó en un incremento de $k_L a_{O_2}$ aún en la ausencia de recirculación; los incrementos estimados fueron de 159, 98 y 136% a 0, 0.5 y 1 vvm, respectivamente, en comparación con los controles correspondientes (Figura 8.3). El fuerte impacto de D9370 sobre $k_L a_{O_2}$, fue posiblemente causado por la acumulación de una gran parte del polímero sólido en la parte superior del RAL, lo que causaba la ruptura de las burbujas de gas al ascender en el riser al mismo tiempo que incrementaba su velocidad de recirculación a través del downcomer.

Un comportamiento similar fue observado por Littlejohns y Daugulis (2009) así como por Quijano y col. (2010a), quienes reportaron este efecto de los polímeros sólidos como un mecanismo eficiente para romper burbujas en RALs.

Biodegradación continua de metano en el RAL.

La biodegradación continua de CH_4 en un RAL de recirculación interna operado a una carga volumétrica promedio de $171 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ($TRLV$ de 7.3 min), con la ausencia de un vector de transferencia y con una velocidad de dilución de 0.05 d^{-1} estuvo caracterizada por un periodo extremadamente largo de arranque (60 días para alcanzar una concentración estable de biomasa de

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

3 g L⁻¹). Esto debió ser una consecuencia del bajo rendimiento de biomasa (0.49±0.02 gbiom gCH₄⁻¹) y de la baja velocidad específica de crecimiento para este consorcio metanótrofo, que junto con la limitación en la transferencia de metano durante el arranque (sin recirculación del gas y sin vector de transferencia) propició el periodo tan largo de arranque. La Figura 8.4 muestra la evolución temporal de *L*, *CE* y *RCO₂* exclusivamente durante la operación a concentraciones de biomasa estable (a partir del día 64 de operación que corresponde al día 0 en el gráfico).

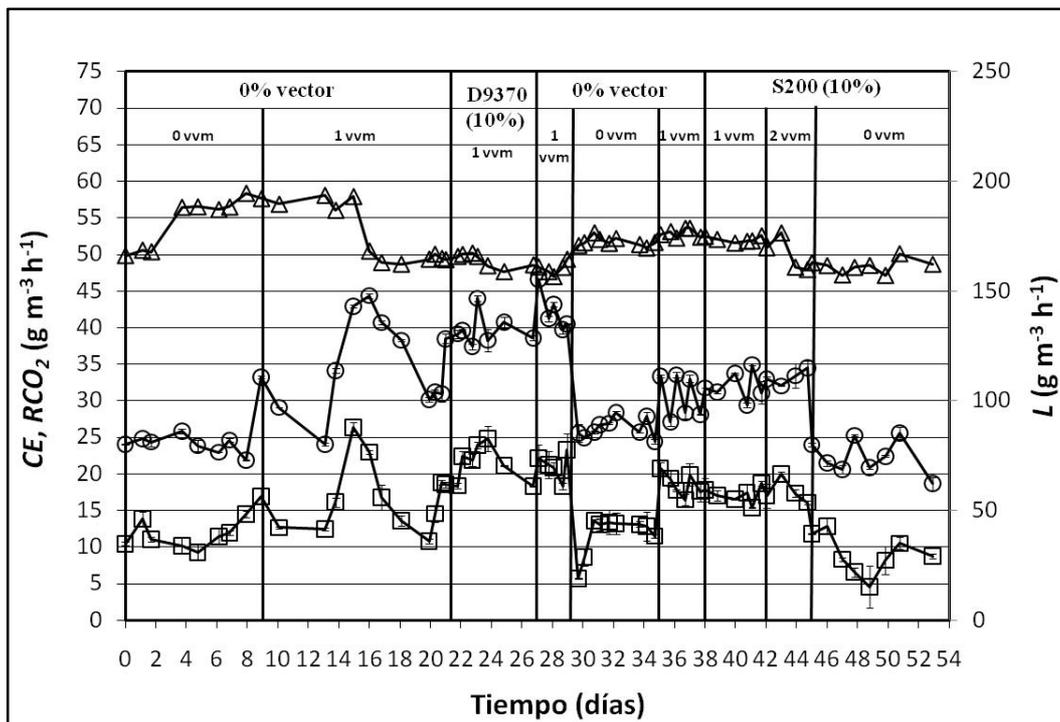


Figura 8.4. Evoluciones de *L* (-Δ-), *CE* (-□-) y *RCO₂* (-○-) durante la biodegradación continua de metano en el RAL operado a diferentes fracciones del vector de transferencia y velocidades de recirculación del gas.

Del día 0 al 9, el proceso fue operado en la ausencia de un vector de transferencia y sin recirculación del gas, alcanzando *CE* y *RCO₂* de 11.6±0.6 gCH₄ m⁻³ h⁻¹ y 24.1±0.4 gCO₂ m⁻³ h⁻¹, respectivamente. El inicio de la recirculación del gas a 1 vvm causó un ligero incremento en *CE* y *RCO₂* a 16.9±1.2 gCH₄ m⁻³ h⁻¹ y 35.2±1.7 gCO₂ m⁻³ h⁻¹. Estos resultados sugieren que las mejoras en *k_{LAO2}* registradas durante los experimentos abióticos a 1 vvm resultaron también en incrementos

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

en la transferencia de CH₄ probablemente debido al aumento de k_{LaCH_4} . En este contexto, Yu y col. (2006) estimaron teóricamente que el k_{LaO_2} es aproximadamente 1.169 veces mayor que el k_{LaCH_4} en un RTA usando una relación de difusividades, mientras que Yazdian y col. (2009) encontraron experimentalmente en un RAL similar de tubo concéntrico que k_{LaO_2} fue 1.8 veces mayor que k_{LaCH_4} .

Sin embargo, la introducción de 10% de D9370 en el RAL a 1 vvm de recirculación del gas (días 22 a 27) no se tradujo en una mejora sustancial en remoción de CH₄ y producción de CO₂, como era esperado del notable incremento del 137% en k_{LaO_2} bajo las mismas condiciones de operación (Figura 8.4). Esta ausencia de mejora en la transferencia de masa debido a la adición de D9370 fue confirmada por el desempeño del sistema entre los días 27 a 29 y 35 a 38, donde el RAL fue operado de nuevo con recirculación del gas (1 vvm) en la ausencia del vector de transferencia (con CE de 21.2 ± 0.8 y 18.9 ± 0.8 gCH₄ m⁻³ h⁻¹, respectivamente).

Del mismo modo, la presencia de 10% de S200 no incrementó la remoción de CH₄ o la producción de CO₂, que mostraron valores de 17.2 ± 0.4 gCH₄ m⁻³ h⁻¹ y 31.5 ± 0.9 gCO₂ m⁻³ h⁻¹ a 1 vvm de recirculación del gas y 17.6 ± 0.8 gCH₄ m⁻³ h⁻¹ y 33.3 ± 0.5 gCO₂ m⁻³ h⁻¹ a 2 vvm. La operación del sistema en presencia del S200 y sin recirculación del gas resultó en CE de 9.5 ± 1.0 gCH₄ m⁻³ h⁻¹ y RCO_2 de 22.4 ± 0.8 gCO₂ m⁻³ h⁻¹ (días 45-53). Por lo tanto, el aumento del 101% registrado en el k_{LaO_2} abiótico en la presencia de S200 y con 1 vvm de recirculación gaseosa no se reflejó en un aumento similar de CE .

Estos resultados, además de soportar la reproducibilidad en la operación del proceso más allá del error experimental causado por las fluctuaciones en la carga volumétrica de metano, las producciones significativas de CO₂ debido al metabolismo endógeno y re-asimilación de metabolitos, y los breves paros en el funcionamiento del RAL durante la adición o extracción de los vectores de transferencia (sólido y líquido), sugieren que otros factores además de la transferencia de masa del gas al líquido limitaron la biodegradación de CH₄ en el sistema. Fue observado que la

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

biomasa presente en el RAL fue capaz de degradar la mayor cantidad de metano transferida inicialmente al líquido debido a la recirculación del gas, pero no se determinaron incrementos posteriores en la remoción de CH₄ mediados por la presencia de los vectores de transferencia. Para descartar un posible escenario de limitación por nutrientes durante la operación con los vectores de transferencia, pulsos de medio mineral concentrado fueron adicionados al RAL. Más aún, la sustitución de 1 L de medio de cultivo por medio fresco conteniendo las células centrifugadas del medio gastado no causó ninguna mejora en el desempeño del sistema, descartando la presencia de inhibición microbiana por la acumulación de algún metabolito tóxico. Esto sugirió que el desempeño del proceso debió estar limitado por la actividad microbiana en estas condiciones donde se estimaron una alta transferencia de CH₄.

Las capacidades de eliminación alcanzadas en el RAL fueron inferiores a los 48 g m⁻³ h⁻¹ registradas en un RTA con una concentración de biomasa similar con 10% de S200 y una carga volumétrica de metano de 65 g m⁻³ h⁻¹ operado a 800 rpm (Rocha-Rios y col., 2010a). Por lo tanto, las eficiencias de remoción (*ER*) obtenidas en este sistema (por debajo del 20%), fueron notablemente menores que el valor máximo obtenido en el RTA del 70%. Sin embargo, considerando el menor consumo de energía requerido en RALs comparado a los RTAs la aplicación de esta tecnología sigue siendo promisoría.

Las mediciones de COT revelaron concentraciones máximas de carbono orgánico e inorgánico disuelto (acumuladas) de 153 mg L⁻¹ y 20 mg L⁻¹ respectivamente, al término de la experimentación. Esto indicó que la mayor parte del carbono de CH₄ fue convertido a material celular y CO₂. Así, sólo el 2% del CH₄ removido fue convertido a metabolitos extracelulares, como fue estimado a partir de un balance de carbono (carbono de CH₄ degradado menos carbono orgánico disuelto).

En videos obtenidos de la hidrodinámica del sistema durante los experimentos de degradación de metano se observó la presencia de aglomerados de S200 entre el riser y el downcomer indicando

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

coalescencia de las gotas de aceite a 1 vvm las cuales no fueron observadas durante la determinación abiótica de k_{LaO_2} . Esta coalescencia debe haber impactado la transferencia de masa por una reducción en las áreas de contacto interfaciales gas-aceite y gas-agua y al mismo tiempo, reduciendo el posible consumo directo de metano y oxígeno desde las gotas de aceite por las bacterias metanótrofas.

Otros autores (Galaction y col., 2004a) han encontrado que k_{La} es afectado por la presencia de células en RTAs, lo que impacta la viscosidad del líquido. Por otra parte, la adición de S200 (10% v/v), que es 200 veces más viscoso que el agua, implica un impacto adicional sobre la hidrodinámica del sistema. Por lo tanto, una correcta estimación de los parámetros hidrodinámicos (principalmente los diámetros de las burbujas de aire y gotas de aceite) en el biorreactor es crucial para comprender adecuadamente el efecto del vector de transferencia sobre la biodegradación de metano. Las grandes variaciones en los valores reportados de k_{La} en BPDFs (Clarke y Correia, 2008) son una consecuencia de la escasa comprensión de las interrelaciones célula-burbuja-gota-agua que pueden presentarse en estos complejos sistemas tetrafásicos. Esto sugiere que simples propiedades promedio de las emulsiones aceite/agua no pueden ser utilizadas para estimar con precisión el comportamiento hidrodinámico del RAL. Por otra parte, la medición experimental de los diámetros de burbuja del aire es una tarea compleja en RALs de tubo concéntrico debido a que la distribución de diámetros de burbuja en el riser no puede ser medida por métodos fotográficos tradicionales. Esto es aún más complicado bajo condiciones bióticas debido a la turbidez del medio de cultivo. Así, métodos más sofisticados tales como técnicas basadas en láser son necesarios para determinar adecuadamente el diámetro promedio de las burbujas y los parámetros hidrodinámicos relacionados (por ejemplo la velocidad de ascenso de las burbujas o el número de Reynolds). En resumen, los autores consideran que una limitación de transferencia de masa en el sistema no puede ser descartada tampoco con la información disponible y experimentos adicionales serán necesarios para investigar este hallazgo particular.

8.5 Conclusiones.

El aceite de silicón 200 cSt (S200) y Desmopan® (D9370) fueron seleccionados como vectores de transferencia modelo líquido y sólido basados en su alta afinidad por CH₄ (10 veces mayor que el agua) y su biocompatibilidad (no tóxicos ni biodegradables) con el consorcio metanótrofo. Este trabajo constituye el primer estudio donde el *TRLV* (con frecuencia muy largo en el caso de contaminantes hidrofóbicos gaseosos) es desacoplado de la velocidad de circulación del líquido (la cual determina las velocidades de transferencia de masa), introduciendo una recirculación interna del gas en un RAL. Los resultados indican que la operación del RAL a una velocidad de recirculación del gas de 1 vvm generó incrementos en k_{LaO_2} correspondientes a: 195% en ausencia de un vector de transferencia, 485% con 10% de S200 y 595% con 10% de D9370 bajo condiciones abióticas. Del mismo modo, una mejora en la biodegradación de CH₄ de aproximadamente 51% se registró en el RAL al aumentar la recirculación del gas de 0 a 1 vvm en ausencia del vector de transferencia o con 10% de S200. Sin embargo, la adición de 10% (v/v) de S200 o D9370 durante la operación a 1 vvm no dio lugar a un nuevo incremento en la *CE*, como era esperado del mayor k_{LaO_2} determinado durante los experimentos abióticos. Esto sugiere que la remoción de CH₄ pudo estar limitada por la actividad microbiana más que por transferencia de masa. Sin embargo, la pobre dispersión del S200 en la presencia de bacterias no permite descartar la presencia de limitaciones por transferencia de masa y experimentos adicionales empleando nuevas técnicas de medición deberán realizarse para describir apropiadamente el comportamiento hidrodinámico del sistema. Además, es preciso destacar que a pesar de que las *CE* reportadas en este estudio (19-22 g m⁻³ h⁻¹) fueron aproximadamente la mitad de las reportadas en RTAs, los bajos requerimientos de consumo de energía en RALs garantizan la rentabilidad de esta biotecnología para la remoción de contaminantes gaseosos hidrofóbicos.

9. Incrementando la degradación de metano en un biorreactor capilar con dos fases de partición.

Rocha-Rios J, Kraakman NJR, Kleerebezem R, Revah S, Kreutzer MT y van Loosdrecht MCM*.

9.1 Resumen.

En este capítulo se estudió el potencial de los reactores monolíticos para aumentar la biodegradación de compuestos poco solubles tales como metano para aplicaciones de ingeniería ambiental. Particularmente, se analizó el efecto de dos estrategias para incrementar la transferencia de masa de compuestos hidrofóbicos, el flujo de Taylor (o flujo segmentado) y la adición de un vector de transferencia (aceite de silicón), sobre el k_{La} en condiciones abióticas y sobre la CE en condiciones bióticas. El flujo de Taylor, obtenido variando los flujos de gas y líquido en el capilar, incrementó el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (k_{La}) bajo condiciones abióticas y las velocidades de degradación de CH_4 , producción de CO_2 y consumo de O_2 durante los experimentos de biodegradación. La adición de aceite de silicón incrementó la transferencia de oxígeno abiótica en un matraz utilizado como separador gas-líquido a la salida del canal capilar operado como un reactor de tanque agitado con aireación superficial, pero la redujo dentro del capilar. Sin embargo durante los experimentos biológicos, la adición de aceite de silicón aumentó la degradación de CH_4 y el consumo de O_2 por el consorcio metanótrofo en ambos, el separador gas-líquido y el capilar. Un pulso de la biomasa sin un incremento adicional en remoción de metano mostró que este sistema estaba limitado por transferencia de masa y no por la reacción biológica. Una mejora máxima del 133% en la velocidad de degradación de metano fue obtenida en el sistema con la adición del 10% (v/v) de aceite de silicón y triplicando el flujo de gas a través del capilar. El canal capilar contribuyó con 15 a 25% de la eliminación de metano en el sistema la cual es alta considerando que el volumen de este canal fue sólo un 0.64% del volumen total en el biorreactor.

Los resultados de este capítulo serán publicados próximamente en una revista de arbitraje internacional.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Palabras clave: Limitación por transferencia de masa, flujo de Taylor, vector de transferencia, canal capilar, emulsión, BPDFs.

9.2 Objetivo del estudio.

El objetivo de este capítulo fue analizar el efecto de los incrementos en la fracción de aceite de silicón y en la velocidad del flujo de Taylor sobre el y degradación de metano en un biorreactor capilar

9.3 Materiales y métodos.

Microorganismos y condiciones de cultivo.

El consorcio metanótrofo (con *Methylobacterium organophilum* como la cepa predominante) se enriqueció a partir de una muestra de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de la UAM-Iztapalapa (México, D.F.). El mantenimiento del cultivo, la preparación del inóculo y la composición del medio mineral se llevaron a cabo como previamente descrito (Rocha-Rios y col., 2009).

Reactivos.

Gas natural con una concentración de metano promedio del 93% fue diluido con aire para obtener una concentración promedio de metano del 4.2% (v/v) ó 32 g m⁻³. El aceite de silicón (polidimetilsiloxano) con 100 cSt de viscosidad dinámica (S100) fue adquirido de Sigma-Aldrich. Los aceites de silicón no son biodegradables o tóxicos para este consorcio (Rocha-Rios y col., 2010b).

Sistema experimental.

El reactor capilar (RC) consistió de un tubo de acrílico (polimetilmetacrilato), de 1 m de longitud y 0.003 m de diámetro interno. Después de múltiples esfuerzos para obtener un flujo segmentado regular, se seleccionó un contactor gas-líquido similar al descrito por Simmons y col. (2003) para reducir al mínimo el choque de presiones durante el contacto a la entrada del capilar. El patrón de flujo fue descendente en co-corriente y la configuración del sistema en circuito cerrado circulando el gas con una bomba de diafragma sin aceite (Wisa, Alemania) y el líquido con dos bombas peristálticas (Cole-Parmer, USA) conectadas en paralelo para reducir al mínimo las pulsaciones. El flujo de gas a través del capilar fue controlado mediante un rotámetro y una válvula de aguja. Un matraz enchaquetado con agitación magnética localizado en la parte inferior del capilar permitió la separación del gas y el líquido previo a su recirculación así como la homogenización de la fase líquida. La temperatura del matraz fue controlada circulando agua a 30 °C (baño de temperatura controlada MGW Lauda M3, Alemania). Un condensador con agua de refrigeración a 10 °C (criostato WK230 Lauda, Alemania) situado a la salida del separador gas-líquido impidió la evaporación de agua hacia la bomba de diafragma. El diagrama del sistema es mostrado en la Figura 9.1.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

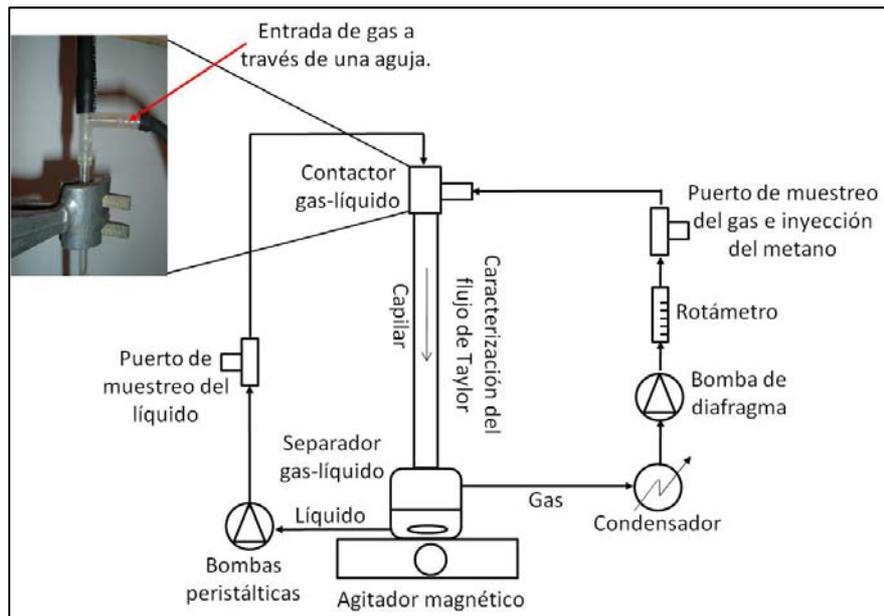


Figura 9.1. Sistema experimental RC.

Experimentos abióticos de transferencia de masa.

El coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno k_La se determinó usando el método de oxidación de sulfito de sodio (Quijano y col., 2010a) a diferentes combinaciones de flujos de gas y líquido (flujos de Taylor) con la adición de S100 (10% v/v). Para estos experimentos, el sistema mostrado en la Figura 9.1 se modificó ligeramente para operar en configuración de circuito semicerrado introduciendo continuamente aire seco a través del capilar con un controlador de flujo másico (Brooks Instruments, Holanda) y circulando el líquido con una bomba Ismatec® de cuatro canales en paralelo equipada con un sistema de seis rodillos para controles finos de los flujos de gas y líquido. Determinaciones de k_La a los mismos flujos de Taylor pero en ausencia del vector de transferencia fueron también realizadas para servir como controles. Además, para diferenciar el oxígeno transferido sólo en el capilar del oxígeno transferido en todo el sistema (separador gas-líquido y capilar), los experimentos fueron repetidos con los mismos flujos de gas y líquido entrando independientemente al separador gas-líquido. Cada experimento fue realizado por duplicado.

Experimentos de biodegradación de metano.

Una vez que el sistema fue inoculado, los experimentos de biodegradación se realizaron en lote inyectando 100 mL de gas natural en el sistema para obtener la concentración inicial deseada de metano ($\approx 4.2\%$ v/v). La duración de cada experimento fue de un día y fueron usadas muestras periódicas de gas para medir la evolución de las concentraciones de CH₄, O₂ y CO₂ mediante TCD-GC, mientras que las muestras periódicas de líquido extraídas del sistema permitieron monitorear la biomasa y la evolución del pH. Similarmente a los experimentos de transferencia de masa, la biodegradación de metano se midió primeramente en el sistema completo y posteriormente en el separador gas-líquido únicamente. Cada condición de flujo de Taylor (con o sin vector de transferencia) estudiada en el sistema fue realizada por triplicado (3 cinéticas) para garantizar la reproducibilidad experimental. En la Tabla 9.1 son reportadas las condiciones experimentales analizadas durante los experimentos de degradación de metano.

Tabla 9.1. Flujos de gas (G) y líquido (L), presencia de flujo de Taylor en el sistema, y fracción de aceite (θ) durante los experimentos de biodegradación de metano en el RC.

Condición	L (mL min⁻¹)	G (mL min⁻¹)	Presencia de flujo de Taylor^A	θ (%)
1	77.3	50	+	0
2	77.3	50	-	0
3	77.3	150	+	0
4	77.3	150	-	0
5	77.3	150	-	5
6	77.3	150	+	5
7 ^B	77.3	150	+	10

^A + ó - representan si el sistema fue operado usando el sistema completo (capilar más separador gas-líquido) o sólo el separador gas-líquido, respectivamente.

^B Este fue un experimento exploratorio con inóculo de la misma fuente pero preadaptado primeramente durante dos meses a S100 (10% v/v) en botellas serológicas.

Procedimientos analíticos.

Las concentraciones gaseosas de CH₄, CO₂ y O₂ se midieron por duplicado utilizando un GC-TCD (Varian 3800, Holanda) equipado con una columna Ultimetel® con tamiz molecular de 13 ×

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

1.2 × 80/100 y malla de 1/16 × 1 mm. Se utilizó helio como gas acarreador, con un flujo de 0.2 mL min⁻¹. Las temperaturas del detector y del inyector se mantuvieron a 200 °C, respectivamente, y la temperatura del horno se mantuvo a 50 °C. Estándares externos permitieron la cuantificación de CH₄, CO₂ y O₂.

La concentración de biomasa en el reactor se midió por duplicado a través de determinaciones de densidad óptica del cultivo a 600 nm (DO_{600nm}) usando un espectrofotómetro Hach DR2800 Lange (UK) y con una correlación obtenida previamente de DO_{600nm} como función del peso seco de las células. El valor de pH en el sistema fue monitoreado periódicamente usando tiras de prueba de pH con un intervalo de 6.5 a 8.5 (Yercon, China).

Análisis estadístico.

Todos los resultados son presentados como el valor promedio con su error estándar correspondiente. Para fines comparativos, los resultados de las diferentes condiciones estudiadas fueron analizados usando ANOVA con un nivel de significación $p \leq 0.05$. El paquete estadístico NCSS® se utilizó para el procesamiento de los datos.

9.4 Resultados y discusión.

Caracterización del flujo de Taylor.

La caracterización del flujo Taylor consistió primero en mapear las diferentes combinaciones de los flujos de gas y líquido en el sistema que produjeran el flujo segmentado. Los resultados son presentados en la Figura 9.2.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

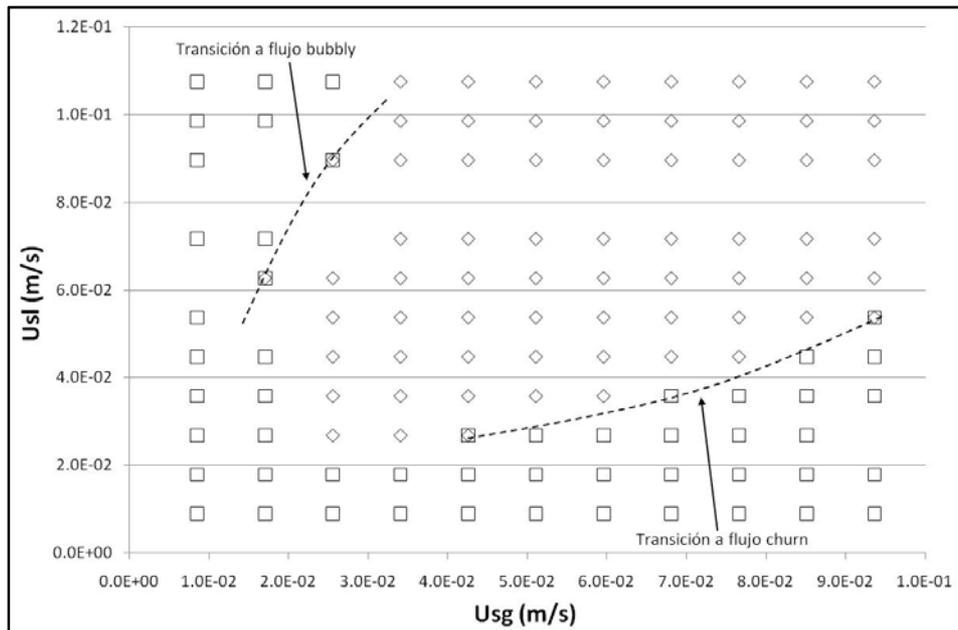


Figura 9.2. Velocidades superficiales de gas (U_{sg}) y líquido (U_{sl}) donde el flujo de Taylor (∇) u otros tipos de flujo (\square) fueron obtenidos en el capilar acrílico con 3 mm de diámetro interno.

Las dimensiones promedio de las burbujas de gas y las secciones de agua (slugs) en el flujo segmentado de Taylor oscilaron desde 0.5 y 1.5 cm, respectivamente (a mínima U_{sg} y máxima U_{sl}) hasta 4.5 y 6 cm, respectivamente (a máxima U_{sg} y mínima U_{sl}). A baja U_{sg} y alta U_{sl} el flujo fue predominantemente bubbly mientras que a altas U_{sg} y bajas U_{sl} el flujo fue churn o anular. Estos resultados son consistentes con reportes de otros autores (Liu y col., 2005; Kreutzer y col., 2005a).

Experimentos abióticos de transferencia de masa.

Primeramente, k_{LA} se determinó en el sistema completo (capilar más separador gas-líquido) y posteriormente sólo en el separador gas-líquido para estimar el impacto del flujo capilar de Taylor sobre la transferencia de masa en el sistema. La Figura 9.3 resume los resultados de k_{LA} obtenidos por el método de oxidación del sulfito para dos diferentes flujos de Taylor y dos distintas fracciones del vector de transferencia.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

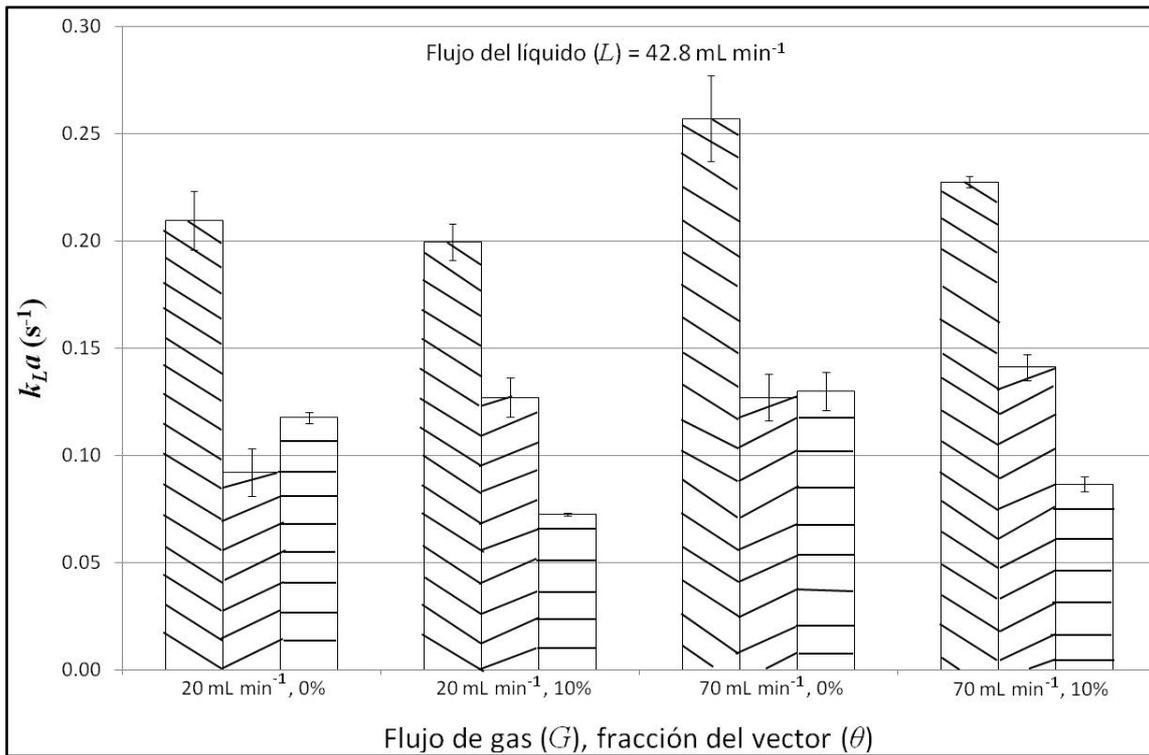


Figura 9.3. Determinaciones abióticas de k_{La} en el sistema completo (\square), el separador gas-líquido (\square) y el capilar (\square) para dos flujos de Taylor y dos fracciones de S100 por el método del sulfito.

La Figura 9.4 muestra fotografías representativas de las características del flujo de Taylor durante las determinaciones de k_{La} .



Figura 9.4. Características del flujo de Taylor para: a) $L=42.8$, $G=20$ y $\theta=0$; b) $L=42.8$, $G=20$ y $\theta=10\%$; c) $L=42.8$, $G=70$ y $\theta=0$; d) $L=42.8$, $G=70$ y $\theta=10\%$.

Los resultados en la Figura 9.3 sugieren un incremento en k_{La} para ambos separador y capilar aumentando el flujo de gas (con y sin S100). El aumento del flujo del gas de 20 a 70 mL min⁻¹ sin

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

S100 resultó en incrementos de k_{La} de 38 y 10% en el separador y capilar, respectivamente. Con S100 (10% v/v) las mejoras correspondientes al flujo de gas más alto fueron de 11 y 19%.

Mejoras en k_{La} de 38 y 11% a 20 y 70 mL min⁻¹, respectivamente, fueron observados en el separador gas-líquido al adicionar el vector de transferencia (Figura 9.3). Estos resultados son consistentes con otros reportes donde aceite de silicón con diferentes viscosidades ha incrementado la transferencia de compuestos gaseosos poco solubles en biorreactores turbulentos (Ascon-Cabrera y Lebeault, 1993; Quijano y col., 2009; Rocha-Ríos y col., 2010a). Ha sido mostrado que el aceite de silicón impacta positivamente k_{La} en contactores turbulentos por dos efectos principales: **1)** incrementando la solubilidad de compuestos hidrofóbicos en la fase líquida donde los microorganismos están presentes, debido a un menor coeficiente adimensional de partición ($K = C_G/C_L$) en la emulsión que en el agua (Rocha-Ríos y col., 2010b), y **2)** las gotas de aceite dispersas reducen el tamaño de las burbujas de gas colisionándolas así como por una reducción de la tensión superficial entre el gas y el líquido incrementando en ambos casos el área de contacto interfacial (a) (Quijano y col., 2010b).

Reducciones inesperadas en k_{La} de 38 y 33% a 20 y 70 mL min⁻¹ respectivamente, fueron medidas en el capilar con la adición de S100 (Figura 9.3), aún cuando las gotas de aceite estuvieron bien dispersas en los slug de agua y el tamaño promedio de las burbujas disminuyó con la adición de S100 implicando un aumento en a (Figuras 9.4b y 9.4d). Ha sido reportado que el flujo segmentado de dos líquidos inmiscibles incrementa las propiedades de transporte en la fase líquida continua, por ejemplo incrementando el mezclado de las circulaciones internas en el slug y reduciendo el efecto no deseado de dispersión axial (Onal y col., 2005; Ahmed y col. 2006). Sin embargo, cuando ambos líquidos están formando una emulsión otros efectos parecen impactar la transferencia de masa del gas al líquido en el capilar. El principal impacto de S100 sobre la hidrodinámica del flujo de Taylor es debido a su viscosidad (100 veces mayor que el agua).

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

Considerando las fracciones de aceite y agua así como una emulsión perfectamente mezclada (homogénea), la viscosidad cinemática (μ/ρ) de la fase líquida sería aproximadamente de $5.8 \times 10^{-3} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, donde la viscosidad cinemática correspondiente en agua es sólo $8 \times 10^{-7} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. La viscosidad del aceite puede afectar la circulación interna en los slugs, incrementar la caída de presión a través del canal e incrementar el espesor de película en ambos la burbuja y la pared del canal, afectando el coeficiente de transferencia de masa (k_L) (Thulasidas y col., 1995). Más aún, la presencia de gotas de aceite en el slug de agua cambia la tensión superficial gas-agua, estas variaciones de tensión superficial afectan la movilidad de la interfase gas-agua produciendo inestabilidades de flujo Marangoni. El efecto Marangoni puede a menudo ser considerado asumiendo la rigidez de la burbuja de gas, por ejemplo, reemplazando la condición de contorno sin esfuerzo de corte que es normalmente asociada con una frontera gas-líquido (libre) por una condición de contorno antideslizante. En este caso, el análisis de lubricación de Bretherton no es suficiente para una correcta estimación del espesor de la película (Ratulowski y Chang, 1990). Las inestabilidades Marangoni afectan el espesor de película porque la tensión superficial entre la burbuja y la pared es más grande que su valor en los extremos libres de la burbuja generando una tracción superficial en la dirección de la película en la pared. Más experimentos son sin embargo requeridos para determinar el impacto real de las gotas de aceite sobre la hidrodinámica del flujo Taylor y por consiguiente, sobre la transferencia de masa en el capilar.

Experimentos de biodegradación metano.

La Figura 9.5 muestra la evolución en las concentraciones de CH_4 , O_2 y CO_2 para las cinéticas realizadas a las diferentes condiciones de operación indicadas en la Tabla 9.1.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

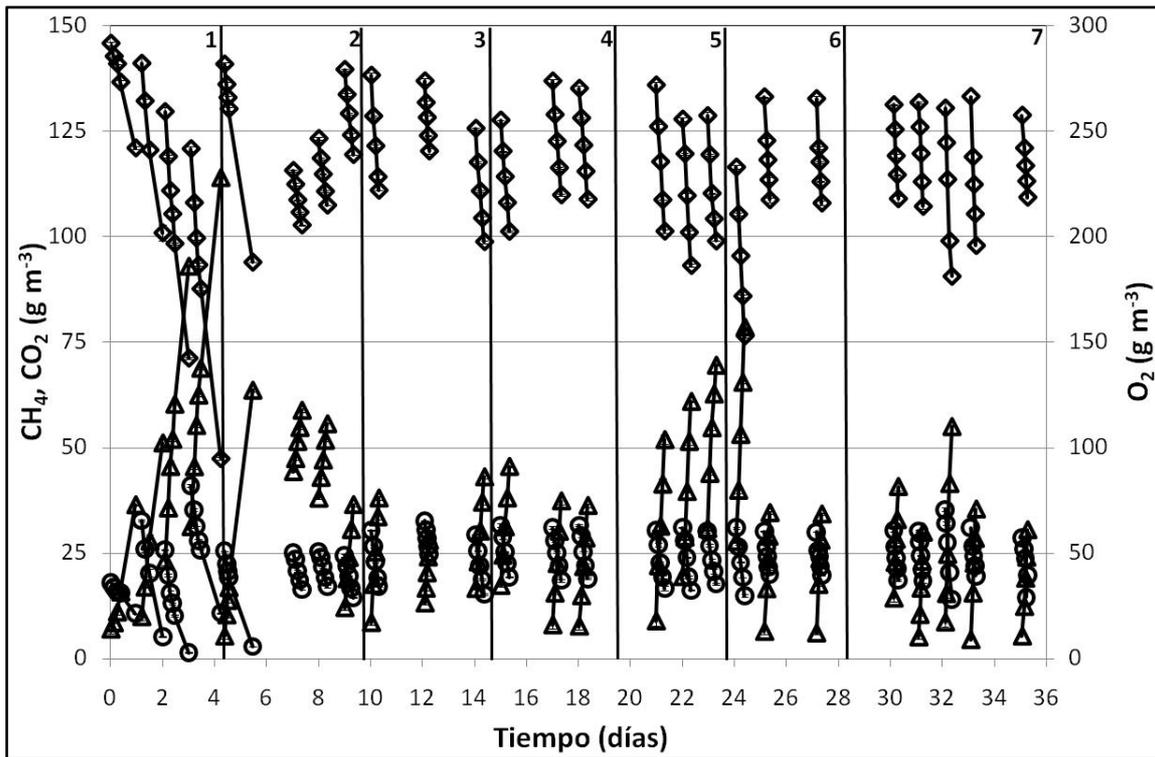


Figura 9.5. Evolución de las concentraciones de CH_4 (\circ - \circ -), O_2 (\diamond - \diamond -) and CO_2 (Δ - Δ -) durante los experimentos de biodegradación de metano en el RC.

Las velocidades promedio de degradación de CH_4 ($-rCH_4$), producción de CO_2 (rCO_2) y consumo de O_2 ($-rO_2$) son resumidas en la Tabla 9.2 para cada condición estudiada.

Tabla 9.2. Velocidades promedio obtenidas durante los experimentos de biodegradación de metano en el RC.

Condición	$-rCH_4$ ($g\ m^{-3}\ h^{-1}$)	rCO_2 ($g\ m^{-3}\ h^{-1}$)	$-rO_2$ ($g\ m^{-3}\ h^{-1}$)
1	1.7 ± 0.0	3.5 ± 0.6	6.3 ± 0.8
2	1.2 ± 0.2	2.3 ± 0.4	4.2 ± 0.7
3	1.9 ± 0.1	3.8 ± 0.3	7.5 ± 0.5
4	1.6 ± 0.0	3.6 ± 0.0	6.6 ± 0.1
5	1.7 ± 0.1	5.1 ± 0.2	8.2 ± 0.4
6	2.0 ± 0.0	5.9 ± 0.2	9.7 ± 0.2
7	2.8 ± 0.2	6.4 ± 0.1	12.5 ± 0.9

Como se deduce de la Figura 9.5, las cinéticas en cada condición experimental considerada fueron muy reproducibles. Un pulso de biomasa (duplicando la concentración celular) añadido al sistema el día 7 del experimento demostró que la degradación de metano estaba limitada por la

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

transferencia de masa y no por la reacción biológica. La presencia del flujo de Taylor en el sistema (condiciones 1, 3 y 6) siempre incrementó la biodegradación metano con respecto al sistema control (separador gas-líquido) representado por las condiciones 2, 4 y 5. Esto confirma el efecto del flujo de Taylor para incrementar la transferencia de masa de compuestos poco solubles como metano y oxígeno en el biorreactor capilar. La discusión será enfocada sobre la biodegradación de CH₄ pero puede extenderse al consumo de O₂ y a la producción de CO₂, como es mostrado en la Figura 9.5 y la Tabla 9.2. Un balance de carbono indicó un mínimo de 70% del carbono de CH₄ oxidado a CO₂ (Tabla 9.2) lo que sugiere una asimilación de carbono en la biomasa inferior a 30%, lo cual está de acuerdo con el rendimiento en producción de biomasa por gramo de metano consumido obtenido en un estudio previo para estas células ($Y_{X/CH_4} = 0.49 \pm 0.02 \text{ g g}^{-1}$) (Rocha-Ríos y col., 2010b). La alta reproducibilidad de las cinéticas realizadas en tres días diferentes y la adición de un pulso de biomasa sin un aumento en la degradación de metano mostraron que este sistema estuvo limitado por la transferencia de masa en cada condición analizada y no por la reacción biológica. El análisis ANOVA mostró diferencias significativas entre los valores promedio de la velocidad de degradación de metano obtenidos para cada condición estudiada.

Una mejora del 33% en la biodegradación de metano fue obtenida en el sistema completo (en presencia del flujo Taylor, condición 1) con respecto al separador gas-líquido empleado como control (condición 2), al mínimo flujo de gas considerado (50 mL min⁻¹). Triplicando el flujo de gas (de 50 a 150 mL min⁻¹) resultó en mejoras adicionales del 19% en el sistema completo (condición 3) y 33% en el control (condición 4). El marcado impacto del aumento en el flujo de gas sobre la biodegradación de metano en el separador gas-líquido puede ser explicado considerando la importante área del líquido expuesta al flujo de gas (por aireación superficial) en la parte inferior del matraz. Al flujo de gas más alto (150 mL min⁻¹), la contribución del flujo de Taylor fue 19% más de eliminación de metano en el sistema (condición 3) con respecto a la obtenida en el control

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

(condición 4). Cuando el 5% (v/v) de S100 fue añadido al medio de cultivo, incrementos adicionales en degradación de metano del 6 y 5% fueron observados en el control (condición 5) y en el sistema completo (condición 6) respectivamente, sobre los valores correspondiente obtenidos sin S100 (condiciones 4 y 3 respectivamente). En el sistema adicionado con S100 (5% v/v), la contribución del flujo de Taylor en el canal capilar sobre la degradación de metano fue 18% más que la obtenida en el separador gas-líquido únicamente (condiciones 6 y 5 respectivamente). Finalmente, cuando las células metanótrofas en el sistema completo fueron reemplazadas por biomasa de la misma fuente, pero creciendo previamente en solución nutritiva con un 10% (v/v) de S100 (durante 2 meses) (condición 7), la biodegradación de metano fue incrementada un 40% sobre el valor correspondiente determinado con 5% de S100 (condición 6).

La mejora máxima observada en el experimento de 133% en la velocidad de biodegradación de metano correspondió al valor obtenido en el sistema completo con 10% de S100 al flujo más alto de gas (condición 7) con respecto a la obtenida en el separador gas-líquido sin S100 y al mínimo flujo de gas (condición 2). Fue patente que la principal eliminación de metano en el sistema se localizó siempre en el separador gas-líquido (75-85%). No obstante, la degradación estimada de metano en el capilar (15-25%) es muy importante considerando que el volumen del capilar fue sólo un 0.64% del volumen del sistema y donde el resto correspondió al separador gas-líquido.

En la Figura 9.6 son mostradas imágenes de las dimensiones características del flujo de Taylor obtenidas a las diferentes condiciones analizadas durante los experimentos de biodegradación de metano.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.



Figura 9.6. Dimensiones de la burbuja y slug para: a) $L=77.3$, $G=50$ y $\theta=0$; b) $L=77.3$, $G=150$ y $\theta=0$; c) $L=77.3$, $G=150$ y $\theta=5\%$; d) Biomasa adherida (fin del experimento con $\theta=5\%$); y e) biomasa preadaptada ($L=77.3$, $G=150$ y $\theta=10\%$).

Contrario a lo observado durante los experimentos abióticos de transferencia de masa, la biodegradación de metano siempre se incrementó en ambos, el sistema completo y el separador gas-líquido con la adición de S100. Experimentos adicionales y simulaciones numéricas son requeridas para explorar más a fondo este hallazgo particular, pero es posible que células adheridas a la película líquida en la pared del capilar (Figura 9.6d), y/o a las gotas de aceite consumieron metano y oxígeno directamente desde las burbujas de gas y del vector orgánico como ha sido propuesto previamente por Rocha-Rios y col. (2009 y 2010a), lo cual sería facilitado por la naturaleza hidrofóbica de la pared celular.

De forma general, una reducción en el tamaño de las burbujas fue observada con la adición de S100 en el capilar (Figuras 9.4 y 9.6). Durante los experimentos abióticos las gotas de S100 permanecieron bien distribuidas en los slugs de agua (Figuras 9.4b y 9.4d); sin embargo, durante los experimentos de biodegradación las gotas de S100 no fueron apreciadas a simple vista, posiblemente debido a la producción de biosurfactantes por las células estabilizando la emulsión (Figuras 9.6c y 9.6e).

La extrapolación de la velocidad de degradación de CH_4 obtenida en el capilar sin S100 ($0.5 \text{ gCH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, a partir de las condiciones 1 y 2) a un monolito con 250 canales y suponiendo una distribución homogénea de gas y líquido en el interior de cada uno (flujo de Taylor en todos los

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

canales), la degradación de metano sería $125 \text{ gCH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ la cual es más alta que la máxima capacidad de eliminación de metano reportada en la literatura ($106 \text{ gCH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), obtenida en un biorreactor de tanque agitado operado a 800 rpm y adicionado con un 10% (v/v) de aceite de silicón con 200 cSt de viscosidad cinemática (Rocha-Ríos y col., 2009). Esto es significativo considerando el menor consumo de energía del sistema monolítico con respecto al reactor de tanque agitado.

9.5 Conclusiones.

El flujo de Taylor obtenido en un biorreactor capilar a diferentes combinaciones de flujos de gas y líquido incrementó el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno k_{La} hasta 23% y la velocidad de degradación de metano ($-r_{CH_4}$) hasta 133% por un consorcio metanótrofo. La incorporación en el sistema de aceite de silicón con 100 cSt de viscosidad cinemática como un vector de transferencia incrementó k_{La} en el separador gas-líquido operado como un tanque agitado con aireación superficial hasta un 38% pero redujó este mismo coeficiente un 35% en el capilar probablemente debido al incremento en la viscosidad del líquido por la presencia de las gotas de aceite afectando el espesor de película y la caída de presión a través del canal. Contrario a lo observado en las determinaciones abióticas de k_{La} , la biodegradación de CH_4 en el capilar fue incrementada hasta un 75% con la adición de S100 (5% v/v), es posible que este aumento en la degradación de metano en el capilar fue impulsado por la mayor solubilidad del metano en la emulsión que en el agua y por un posible consumo directo de metano y oxígeno desde las gotas de aceite y/o desde la película líquida en la pared del capilar. Un pulso de biomasa sin un incremento adicional en la eliminación de metano demostró que este sistema estaba limitado por transferencia de masa. La remoción de metano en el capilar a través del experimento osciló entre 15 y 25% que es alta considerando el pequeño volumen del canal (0.64% del sistema completo). La extrapolación de la velocidad de degradación de metano obtenida en el capilar a un empaque monolítico real

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

muestra que esta tecnología es promisoría para la remoción de compuestos poco solubles en aplicaciones ambientales (incluso sin la adición de un vector de transferencia), principalmente por el menor consumo de energía requerido en estos sistemas comparado al de los contactores turbulentos convencionales. Experimentos adicionales son necesarios para determinar el comportamiento del sistema durante tiempos de operación más largos así como el impacto del S100 sobre la hidrodinámica del flujo de Taylor y sobre la transferencia de masa en el canal capilar.

10. Contribuciones adicionales del trabajo doctoral (colaboraciones).

10.1 Determinando el efecto de vectores sólidos y líquidos sobre el área interfacial gaseosa y las velocidades de transferencia de oxígeno en biorreactores de partición de dos fases.

Quijano G, Rocha-Rios J, Hernández M, Villaverde S, Revah S, Muñoz R* y Thalasso F.

Resumen.

Se evaluó el efecto de diferentes vectores de transferencia líquidos y sólidos (aceite de silicón y desmopan, respectivamente) sobre el área interfacial gaseosa (a_G) en un BPDF usando medio mineral fresco así como el medio mineral proveniente de un cultivo bacteriano empleado para la degradación de tolueno (*Pseudomonas putida* DOT-T1E) creciendo continuamente con y sin aceite de silicón. Valores más altos de a_G fueron registrados en la presencia de ambos, aceite de silicón y desmopan comparado a los valores obtenidos en la ausencia de un vector, independientemente del medio acuoso analizado (1.6 y 3 veces superior, respectivamente, utilizando medio mineral fresco). Estas mejoras en a_G fueron bien correlacionadas con las mejoras en transferencia de oxígeno soportadas por los vectores (1.3 y 2.5 para los vectores líquido y sólido, respectivamente, usando medio fresco). En este contexto, velocidades de transferencia de oxígeno de $2.5 \text{ gO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $1.3 \text{ gO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ fueron registradas en la presencia de desmopan y aceite de silicón, respectivamente, las cuales son consistentes con valores previamente reportados en la literatura. Estos resultados sugieren que las mejoras en la transferencia de masa en BPDFs pueden corresponder al aumento en a_G y no debido a una alta transferencia a través de la vía gas/vector/agua.

Palabras clave: Desmopan, área interfacial gaseosa, transferencia de masa, aceite de silicón, vector de transferencia, BPDFs.

Los resultados de este trabajo fueron publicados en el artículo Determining the effect of solid and liquid vectors on the gaseous interfacial area and oxygen transfer rates in two-phase partitioning bioreactors. J Hazard Mater (2010);175:1085-1089.

10.2 Transferencia de masa y tratamiento biológico de gases.

Kraakman NJR* y Rocha-Rios J.

Resumen.

Esta contribución revisa los aspectos de transferencia de masa de la biotecnología para el tratamiento de aire, con un énfasis en los principios fundamentales y métodos técnicos viables para mejorar la transferencia de masa. El entendimiento del comportamiento de la transferencia de masa en biorreactores para el tratamiento de aire ha permitido obtener mejores herramientas de modelado y operación de reactores más avanzados, los cuales son importantes para minimizar costos y maximizar la eficiencia. Diversos ejemplos muestran el potencial de diversas metodologías de tratamiento para compuestos de baja solubilidad en agua.

Palabras clave: Limitación por transferencia de masa, tratamiento biológico de aire, biotecnología.

Este trabajo será publicado próximamente en una revista de arbitraje internacional.

11 Discusión general y perspectivas.

11.1 Discusión general.

Inicialmente, la adición de aceites fue empleada en biorreactores para extraer o producir productos de interés comercial (Ratledge, 1977; Wubbolts y col., 1996). Posteriormente, esta tecnología se adaptó en biotecnología ambiental para evitar la acumulación de concentraciones tóxicas de contaminantes para los microorganismos (por ejemplo tolueno; Leddy y col., 1995) y recientemente, un mayor impulso ha sido enfocado al estudio de las propiedades de ciertas fases orgánicas como vectores de transferencia de masa (Daugulis, 2001).

Previo a este trabajo, muchas dudas sobre el mecanismo de acción del vector sobre la transferencia de masa, pero más aún sobre la capacidad de eliminación del contaminante estaban presentes en la literatura, como puede ser constatado en la amplia revisión realizada por Clarke y Correia (2008). Estos autores analizaron 184 trabajos mostrando 3 comportamientos reportados del efecto del vector de transferencia sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}): **1)** k_{La} se incrementa con la adición del vector hasta una fracción óptima del vector y posteriormente decrece por encima de dicha fracción, **2)** k_{La} se incrementa continuamente con la adición del vector sin que se presente una disminución posterior en el coeficiente y **3)** No hay incremento en k_{La} con la adición del vector (k_{La} se mantiene constante o es afectado negativamente).

Si bien las propiedades fisicoquímicas del vector son decisivas para determinar su efecto en biorreactores poco se ha discutido sobre la importancia de la hidrodinámica y el consumo de potencia en BPDFs.

En ésta investigación doctoral se analizó el efecto de la adición de un vector orgánico modelo (aceite de silicón), el cual ha incrementado la biodegradación de diversos compuestos orgánicos volátiles, sobre la transferencia de masa y la capacidad de eliminación de metano por un consorcio

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

bacteriano. Lo novedoso del estudio fue tratar de correlacionar el efecto benéfico de la adición del vector sobre la degradación de metano, con el aumento en la viscosidad del líquido, la cual impactó a su vez en forma negativa a la hidrodinámica y los requerimientos de energía en el sistema. Para lograr dicho objetivo, los experimentos fueron conducidos en dos contactores turbulentos (tanque agitado y airlift) y dos laminares (lecho escurrido y capilar).

En un primer estudio (capítulo 5) el interés estuvo centrado únicamente en demostrar que la adición del 10% (v/v) de aceite de silicón (con una viscosidad cinemática de 200 cSt) podría incrementar la degradación del metano en ambos, un contactor turbulento (RTA) y uno laminar (RLE) sin entrar en detalles del mecanismo causante de dicha mejora. Mejoras en degradación del 41 y 131% fueron obtenidas en el RTA y RLE, respectivamente con la adición del vector en comparación con sus correspondientes controles (no adicionados). Las máximas eficiencias de remoción obtenidas en los sistemas adicionados con aceite de silicón fueron 57 y 40% en el RTA y RLE, respectivamente. Las mejoras en CE (de 75 a 106 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ en el RTA y de 22 a 51 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ en el RLE, respectivamente) fueron simplemente atribuidas a una mayor disponibilidad de metano y oxígeno para el consorcio metanótrofo en el medio acuoso causado por la presencia del aceite. Lo anterior fue sustentado con la mayor solubilidad (10 veces superior) de dichos compuestos en el aceite que en el agua y por el hecho de que las capacidades de eliminación específicas de metano (por gramo de biomasa) fueron superiores en ambos sistemas adicionados con el vector. Una vez demostrada la efectividad de S200 como vector de transferencia para la degradación de metano en ambos contactores se procedió a investigar sobre el mecanismo posible.

En el capítulo 6 fue evaluado el efecto de dos variables que afectan k_{La} y CE en el RTA, la fracción de S200 (0, 5 y 10% v/v) y la velocidad de agitación (200, 500 y 800 rpm). La carga volumétrica promedio de metano fue establecida para este estudio en 65 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$. La velocidad de agitación fue la variable que más impactó tanto k_{La} como CE mientras que el efecto de la fracción

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

de aceite sólo fue apreciable por encima de las 200 rpm indicando la importancia del grado de dispersión de las gotas de aceite en la emulsión (hidrodinámica), la cual es una función del consumo de energía de agitación en el sistema. Fue observado un efecto no esperado de la fracción de aceite de silicón (5 y 10% v/v) así como por la presencia de células inactivas (3 g L^{-1}) afectando k_{La} a 800 rpm donde el valor de dicho coeficiente fue inferior al obtenido a 500 rpm. Una revisión bibliográfica mostró que otros autores también han reportado disminuciones en k_{La} al incrementar la velocidad de agitación sobre un valor crítico en presencia de diversos vectores de transferencia. Estos autores han hipotetizado que dicha disminución fue causada por un bloqueo de la transferencia de oxígeno desde las burbujas de aire promovido por el incremento en la agitación, que al disminuir el tamaño de las gotas de aceite e incrementar el número de colisiones gota-burbuja debido a la mayor turbulencia, permite que las gotas de aceite adheridas a la superficie de la burbuja coalescan formando una película de aceite que incorpora una nueva resistencia de la transferencia del oxígeno hacia el seno de la fase acuosa (Galaction y col., 2004a; Galaction y col., 2005); dicho efecto no se produce por debajo de la agitación crítica según dichos autores. Los resultados obtenidos no permitieron afirmar si realmente la disminución observada de k_{La} a 800 rpm fue causada por un bloqueo a la transferencia de masa producida por el vector y nuevos experimentos deberán ser desarrollados para explorar este hallazgo particular. Contrario a lo observado en las determinaciones de k_{La} , la CE no fue afectada por el incremento en agitación de 500 a 800 rpm indicando que dicho posible efecto de bloqueo no afectó la biodisponibilidad de metano y oxígeno en la emulsión y parece conducir a que las células son capaces de consumir directamente metano y oxígeno desde las burbujas de gas o gotas de aceite ya que los k_{La} medidos a 800 rpm no fueron suficientes para explicar los requerimientos de oxígeno para las CE observadas a dicha velocidad de agitación. Esto sugiere que las distintas interrelaciones gas-aceite-agua-célula que pueden presentarse en estos complejos sistemas multifásicos deben ser estudiadas con mayor

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

detenimiento a fin de identificar el mecanismo con mayor influencia que permite al aceite de silicón incrementar la degradación de sustratos poco solubles en biorreactores. La máxima capacidad de eliminación obtenida en este estudio fue de $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ que correspondió a la operación a 800 rpm con 10% (v/v) de aceite de silicón. La capacidad de eliminación máxima obtenida en el estudio previo a la misma velocidad de agitación y con la misma fracción de aceite (reportado en el capítulo 5) fue de $106 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ pero con una carga volumétrica de metano tres veces superior ($200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), esto se tradujo en eficiencias de remoción máximas del 51 y 70% para dichos estudios respectivamente. Estimaciones de las propiedades promedio de la emulsión así como del número de Reynolds a las distintas condiciones analizadas indicaron un impacto importante sobre todo de la viscosidad del aceite afectando la hidrodinámica del sistema.

Un estudio similar fue realizado en el RLE donde se analizaron los efectos de la fracción de aceite de silicón y la velocidad de recirculación del líquido sobre la *CE* (capítulo 7). Sin embargo a diferencia del primer estudio realizado en este sistema (expuesto en el capítulo 5), ninguna mejora significativa sobre la *CE* fue observada al adicionar el aceite de silicón (5 y 10% v/v); del mismo modo, ninguna mejora significativa en *CE* fue obtenida al incrementar la velocidad de recirculación del líquido (175 y $275 \text{ mL min}^{-1} \text{ L}_{\text{emp}}^{-1}$). La máxima *CE* para este sistema fue de $30 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a una carga volumétrica promedio de $74 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ lo que se traduce en una eficiencia de remoción máxima del 40%. En este contactor laminar, los resultados de ambos estudios parecen contradictorios pero es importante considerar la diferencia en la carga volumétrica de metano (*L*) alimentada al biorreactor. En el primer estudio, la *L* promedio fue de $144 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ mientras que en el segundo fue de $74 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, lo que se traduce en concentraciones influente de metano de 11.1 y 5.5 g m^{-3} , respectivamente. Más aún, la máxima eficiencia de remoción obtenida en ambos estudios fue del 40% indicando que quizás el grado de dispersión obtenido en este sistema no permitió mejoras superiores a dicho valor. Fazaelpoor y Shojoasadati (2002) observaron en un biofiltro para la

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

degradación de una mezcla de compuestos hidrófobos con hexano como componente principal (80% v/v), que a bajas cargas del contaminante no había mejora con la adición del aceite de silicón (20% v/v); sin embargo, cuando fue incrementada la carga por arriba de este intervalo se obtuvo una mejora en *CE* de hasta 10% fue obtenida con la presencia del vector de transferencia. En un estudio posterior, estos mismos autores (Fazaelipoor y col., 2006) reportaron que no hubo diferencia significativa en degradación de hexano entre los dos biofiltros hasta cargas de $30 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ pero al incrementar dicha carga hasta $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ una mejora del 45% en *CE* fue obtenida con la adición del aceite de silicón. Esto muestra la importancia de la concentración influente (y por ende la concentración de equilibrio en la biopelícula) del contaminante en estos sistemas laminares carentes de agitación mecánica. Experimentos novedosos que permitan una determinación precisa de la transferencia de masa en estos sistemas son necesarios para analizar con mayor detalle este hallazgo particular.

Con el objetivo de estudiar la degradación de metano en otro contactor turbulento pero con un consumo de energía de agitación menor, experimentos de transferencia de masa y biodegradación fueron realizados en un reactor airlift de tubo concéntrico (RAL, capítulo 8), los resultados obtenidos indican que no hubo efecto de la adición de dos vectores de transferencia, uno sólido (D9370) y otro líquido (S200) sobre la degradación de metano a una velocidad de recirculación del gas de 1 vvm aún cuando se determinó una mejora en el k_{La} abiótico a esa velocidad de recirculación con ambos vectores. Más aún, cuando la velocidad de recirculación del gas se incrementó de 0 a 1 vvm, una mejora en la *CE* del 47% fue observada en el sistema con o sin la adición del vector de transferencia. La máxima *CE* para este sistema fue de $22 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a una carga volumétrica promedio de $171 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ lo que se tradujo en una eficiencia de remoción máxima de 16% a 1 vvm de recirculación del gas. Estos resultados sugieren que sin recirculación de gas el sistema estuvo limitado por transferencia de masa mientras que a la velocidad de recirculación más

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

alta (1 vvm) la limitación pudo haber sido biológica. Sin embargo, estudios adicionales caracterizando adecuadamente la hidrodinámica del sistema (sobre todo el grado de dispersión del vector en el líquido) en ambas condiciones deberán ser desarrollados para confirmar este hallazgo particular debido a que incluso a la recirculación del gas más alta (1 vvm) se observó la formación de agregados de aceite los cuales coalescieron en el espacio entre el tubo concéntrico de flujo ascendente (riser) y el descendente (downcomer).

La biodegradación de metano en un biorreactor capilar (RC, capítulo 9) mostró que los reactores monolíticos pueden ser una solución idónea para la biodegradación de compuestos poco solubles como metano en biotecnología ambiental, incluso sin la adición de un vector de transferencia debido a su bajo consumo de energía de agitación (contactor laminar) y a la obtención del flujo segmentado (flujo de Taylor) que incrementa notablemente la transferencia de masa y biodegradación en el sistema. Dichos incrementos son atribuidos a una alta área de contacto gas-líquido en estos sistemas (por el contacto de ambos costados de la burbuja con la película del líquido en la pared del canal capilar más que por el contacto de los extremos superior e inferior de la burbuja con los slugs líquidos), así como por la presencia de recirculaciones internas en los slug del líquido que incrementan el mezclado interno. Los resultados obtenidos mostraron que el flujo de Taylor incrementó el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (k_{LA}) bajo condiciones abióticas y las velocidades de degradación de CH_4 , producción de CO_2 y consumo de O_2 durante los experimentos de biodegradación. Del mismo modo, la adición de aceite de silicón incrementó la transferencia de oxígeno abiótica en un matraz utilizado como separador gas-líquido a la salida del canal capilar operado como un reactor de tanque agitado con aireación superficial (contactor turbulento), pero la redujo dentro del capilar (contactor laminar). Sin embargo durante los experimentos biológicos, la adición de aceite de silicón aumentó la degradación de CH_4 y el consumo de O_2 por el consorcio metanótrofo en ambos, el separador gas-líquido y el capilar. Un

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

pulso de la biomasa sin un incremento adicional en remoción de metano mostró que este sistema estaba limitado por transferencia de masa y no por la reacción biológica. Una mejora máxima del 133% en la velocidad de degradación de metano fue obtenida en el sistema con la adición del 10% (v/v) de aceite de silicón y triplicando el flujo de gas a través del capilar. El canal capilar contribuyó con 15 a 25% de la eliminación de metano en el sistema la cual es alta considerando que el volumen de este canal fue sólo un 0.64% del volumen total en el biorreactor. Estos resultados sugieren que si el sistema no está limitado por la reacción biológica (como fue demostrado en este estudio), la degradación de metano puede ser incrementada en el capilar debido a rutas alternativas de transferencia del contaminante a las células (por ejemplo, consumo directo de oxígeno y metano desde las gotas de aceite en el slug o desde las burbujas de gas en la pared del capilar) aún cuando se determinó experimentalmente una reducción en el k_{La} abiótico en dicho canal capilar.

Resultados adicionales obtenidos mediante una colaboración durante la realización del proyecto (capítulo 10) demostraron que en contactores turbulentos el k_{La} abiótico puede ser incrementado por un efecto rompedor de burbujas del vector de transferencia (el cual puede ser líquido o sólido) disminuyendo el diámetro promedio de las burbujas e incrementando el área interfacial de contacto gas-líquido (a). Esto puede adicionalmente ser favorecido por una reducción en la tensión superficial aire-agua causada por la presencia del vector (por ejemplo con aceite de silicón) lo cual permite un mejor contacto entre estas fases; sin embargo, en futuros estudios un mayor énfasis al impacto de la adición del vector (particularmente su viscosidad) sobre la hidrodinámica del sistema en ambos, contactores turbulentos y laminares debe ser dado a fin de obtener conclusiones generales que permitan predecir bajo qué circunstancias el vector de transferencia puede incrementar o no la transferencia de masa pero sobre todo la biodegradación de compuestos poco solubles en biorreactores.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

En síntesis, el efecto de la adición de un vector de transferencia como aceite de silicón sobre la biodegradación de metano en biorreactores será función de múltiples factores que por un lado pueden afectar la transferencia de masa (como es el caso de una alta viscosidad) o mejorarlo por una mayor solubilidad de metano y oxígeno en la fase líquida así como por un incremento en el área específica de transferencia de masa gas-agua. Los resultados obtenidos indican que el grado de dispersión del vector es muy importante en los distintos sistemas por lo que el grado de agitación (y por ende, el consumo de energía en el sistema) puede llegar a ser alto para obtener CE superiores a los $50 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y/o eficiencias de remoción superiores al 40%, lo anterior implica dar un mayor énfasis al estudio de la hidrodinámica del sistema y a las distintas interrelaciones gas-aceite-agua-célula que pueden presentarse en estos complejos sistemas tetrafásicos.

11.2 Conclusiones generales.

- 1) El sistema que presentó el mayor desempeño en términos de degradación fue un biorreactor turbulento (RTA) con CE de hasta $106 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (800 rpm y 10% v/v de aceite de silicón) con una ER máxima del 57%; pero desde luego, el consumo de energía en este sistema fue también el más alto. La principal variable que incrementó la transferencia de masa en este sistema fue el aumento en la velocidad de agitación mientras que el efecto del incremento en la fracción de aceite sólo fue importante por encima de las 200 rpm mostrando la importancia del grado de dispersión del vector en el sistema y la dificultad para escalar este proceso a una escala industrial debido a los altos consumos de energía de agitación requeridos.
- 2) El otro contactor turbulento (RAL) presentó un desempeño muy pobre con una CE máxima de $22 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y una ER máxima del 40%. Los resultados indican que sin recirculación este sistema estuvo limitado por transferencia de masa pero a 1 vvm pudo haber estado limitado

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

por la reacción biológica al no observarse efecto alguno con la adición del 10% (v/v) de dos vectores de transferencia (uno sólido y otro líquido) sobre la biodegradación de metano; sin embargo, la hidrodinámica del sistema a 1 vvm indicó una mala dispersión de ambos vectores como fue registrado mediante fotografías (no incluidas), lo cual también pudo provocar el efecto nulo de ambos vectores. Si bien la *CE* alcanzada en este sistema es relativamente baja, los menores consumos de energía de agitación requeridos en comparación con el RTA la hacen una opción viable de escalamiento pero antes debe garantizarse una adecuada dispersión del vector de transferencia en la fase acuosa a las condiciones de operación.

- 3) En el RLE (contactor laminar) la principal variable que al parecer determinó el efecto del vector de transferencia sobre la biodegradación de metano fue la concentración influente de metano. En la concentración influente más alta estudiada (11.1 g m^{-3}) se obtuvo una mejora en *CE* de hasta 131% (de 22 a $51 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) con la adición del 10% (v/v) de aceite de silicón con una *ER* máxima de 40%. Sin embargo, al reducir la concentración influente a la mitad (5.5 g m^{-3}) la *CE* se redujo a $30 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (manteniendo una *ER* del 40%) sin observarse un efecto de mejora en degradación por la adición de 5 y 10% (v/v) de aceite de silicón. No obstante, este sistema presentó una *CE* superior al RAL con un consumo aún menor de energía, lo que aunado a sus costos relativamente bajos de escalamiento y operación lo hacen la opción más atractiva para aplicaciones industriales.
- 4) Otro caso muy prometedor es el RC (contactor laminar), donde el escalamiento a un empaque monolítico (bajo condiciones ideales de flujo) de las velocidades de degradación obtenidas indica que se pueden adquirir *CE* similares al RTA pero a un consumo de energía bastante menor debido a las ventajas del flujo de Taylor para incrementar la transferencia de

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

masa. Sin embargo, el elevado costo de la fabricación del monolito a partir de zeolita complica su aplicación a gran escala y nuevos materiales deberán ser desarrollados.

11.3 Perspectivas.

A partir de los resultados obtenidos de esta investigación doctoral podemos definir diversas líneas de acción para seguir contribuyendo en el área.

- 1) En los diversos sistemas (laminares y turbulentos) será más adecuado medir $k_L a$ bióticos que consideren además de la velocidad de transferencia de oxígeno, la velocidad de consumo por parte de los microorganismos (VCO) a fin de conocer cuánto oxígeno se transfiere realmente a la fase líquida en la presencia de células y del vector orgánico.
- 2) Es importante tratar de caracterizar la hidrodinámica del sistema de manera experimental (por ejemplo mediante trazadores) y teóricamente. Lo anterior permitirá comprender el efecto de la adición del vector sobre los patrones de flujo dentro del sistema y a su vez como impactan dichos patrones de flujo a la transferencia de masa gas-células.
- 3) Aunado al estudio de la hidrodinámica es importante tratar de cuantificar los distintos fluxes de transferencia de masa posibles que pueden presentarse por ejemplo en el RTA (aire-agua, aire-aceite, aire-células, aceite-agua, aceite-células, agua-células) a fin de definir cuáles son los predominantes en este sistema complejo. Sin embargo, este objetivo deberá ser estudiado numéricamente ya que experimentalmente parece una tarea imposible bajo las condiciones reales de operación (sistema tetrafásico).
- 4) En el RLE podría continuarse la experimentación tratando de determinar bajo qué condiciones el sistema es limitado por transferencia o reacción y en el caso de limitación por transferencia que régimen controla, biopelícula o película de escurrimiento.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

- 5) En el RAL es importante clarificar porque pudo haberse presentado la limitación biológica siendo que durante experimentos en microcosmos con inóculo tomado del mismo RAL y una concentración inicial de metano similar a la influente en el sistema los microorganismos degradaron una mayor cantidad de metano que en el biorreactor. Del mismo modo es importante determinar porque no fue obtenida una buena dispersión del vector en este sistema.
- 6) Del RC sería interesante escalar el sistema a un monolito real y llevar a cabo la degradación continua de metano por periodos más prolongados de tiempo para caracterizar la formación de biopelícula en el empaque y su efecto sobre el flujo de Taylor así como la posible estabilidad de la emulsión por surfactantes y/o emulsificantes producidos por los microorganismos. Del mismo modo, es interesante probar nuevos materiales de construcción del empaque monolítico a fin de reducir los costos del proceso.

12. Referencias.

- Aaronson S. Experimental microbial ecology. 1st ed. New York: Academic Press New York (1970), p. 109-111.
- Acha V, Alba J, Thalasso F. The absolute requirement for carbon dioxide for aerobic methane oxidation by a methanotrophic-heterotrophic soil community of bacteria. *Biotechnol Lett* (2002);**675**:675-679.
- Adler S. Biofiltration a primer. *Chem Eng Prog* (2001);**4**:33-41.
- Ahmed B, Barrow D, Wirth T. Enhancement of reaction rates by segmented fluid flow in capillary scale reactors. *Adv Synth Catal* (2006);**348**:1043-1048.
- Amaral P, Freire M, Rocha-Leao M, Marrucho I, Coutinho J, Coelho M. Optimization of oxygen mass transfer in a multiphase bioreactor with perfluorodecalin as a second liquid phase. *Biotechnol Bioeng* (2008);**99**:588-598.
- Amsden B, Bochansz J, Daugulis A. Degradation of xenobiotics in a partitioning bioreactor in which the partitioning phase is a polymer. *Biotechnol Bioeng* (2003);**84**:399-405.
- Arriaga S, Muñoz R, Hernandez S, Guieysse B, Revah S. Gaseous hexane biodegradation by *Fusarium solani* in two liquid phase packed-bed and stirred tank bioreactors. *Environ Sci Technol* (2006);**40**:2390-2395.
- Ascon-Cabrera M, Lebeault J. Selection of xenobiotic-degrading microorganisms in a biphasic aqueous-organic system. *Appl Environ Microbiol* (1993);**59**:1717-1724.
- Beyenal H, Chen S, Lewandowski Z. The double substrate growth kinetics of *Pseudomonas aeruginosa*. *Enzyme Microb Technol* (2003);**32**:92-98.
- Börjesson G, Sundh I, Tunlid A, Frostergard A, Svensson B. Microbial oxidation of CH₄ at high partial pressures in an organic landfill cover soil under different moisture regimes. *FEMS Microbiol Ecol* (1998);**26**:207-217.
- Cesário M, Beverloo W, Tramper, J, Beeftink H. Enhancement of gas-liquid mass transfer of apolar pollutants in the biological waste gas treatment by a dispersed organic solvent. *Enzyme Microbial Technol* (1997);**21**:578-588.
- Chisti Y, Moo-Young M. Airlift reactors: characteristics, applications and design considerations. *Chem Eng Comm* (1987);**60**:195-242.
- Chisti Y. Airlift bioreactors. New York Elsevier Science Publishing Co. (1989), p. 102.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

- Chu K, Alvarez-Cohen L. Effect of nitrogen source on growth and trichloroethylene degradation by methane-oxidizing bacteria. *Appl Environ Microbiol* (1998);**64**:3451-3457.
- Clarke K, Correia L, Oxygen transfer in hydrocarbon-aqueous dispersions and its applicability to alkane bioprocesses: a review. *Biochem Eng J* (2008);**39**:405-429.
- Copenhagen Accord of United Nations Framework Convention on Climate Change 2009. (UNFCCC-2009). <http://unfccc.int/resource/docs/2009/cop15/eng/l07.pdf>.
- Cox H, Nguyen T, Deshusses M. Pollutant biodegradation in biotrickling filters revisited. In: proceedings of the conference on biofiltration, University of Southern California, October 22-23 (1998). F. E. Reynolds Jr. (ed.). The Reynolds Group, Tustin, CA. p. 219-226.
- Daugulis A. Two-phase partitioning bioreactors: a new technology platform for destroying xenobiotics. *Trends Biotechnol* (2001);**19**:457-462.
- Daugulis A, Amsden B, Bochanysz J, Kayssi A. Delivery of benzene to *Alcaligenes xylosoxidans* by solid polymers in a two-phase partitioning bioreactor. *Biotechnol Lett* (2003);**25**:1421-1424.
- Daugulis A, Boudreau N. Removal and destruction of high concentrations of gaseous toluene in a two-phase partitioning bioreactor by *Alcaligenes xylosoxidans*. *Biotechnol Lett* (2003);**25**:1421-1424.
- David H, Bowzon J, Vergnaud J. Controlled absorption and release of an active agent by using evac beads-effect of various parameters. *Eur Polymer J* (1989);**25**:1007-1011.
- Davison C, Daugulis A. Addressing biofilter limitations: A two-phase partitioning bioreactor process for the treatment of benzene and toluene contaminated gas streams. *Biodegradation* (2003);**14**: 415-421.
- Déziel E, Comeau Y, Villemur R. Two liquid-phase bioreactors for enhanced degradation of hydrophobic/toxic compounds. *Biodegradation* (1999);**10**:219-233.
- Dumont E, Delmas H. Mass transfer enhancement of gas absorption in oil-in-water systems: a review. *Chem Eng Process* (2003);**42**:419-438.
- Du Plessis C, Strauss J, Sebapalo E, Riedel K. Empirical model for methane oxidation using a composted pine bark biofilter. *Fuel* (2003);**82**:1359-1365.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

- El-Shahawi M. Retention and separation of some organic water pollutants with unloaded and tri-n-octylamine loaded polyester-based polyurethane foams. *Talanta* (1994);**41**:1481-1488.
- Fazaelipour M, Shojaosadati S. The effect of silicone oil on biofiltration of hydrophobic compounds. *Environ Progr* (2002);**21**:221-224.
- Fazaelipour M, Shojaosadati S, Farahani E. Two liquid phase biofiltration for removal of *n*-hexane from polluted air. *Environ Eng Sci* (2006);**23**:954-959.
- Gai S, Baumann K. The role of the liquid phase in the degradation of toluene and m-cresol within a biofilm trickle-bed reactor. *Eng Life Sci* (2001);**24**:159-172.
- Galaction A, Cascaval D, Oniscu C, Turnea M. Enhancement of oxygen mass transfer in stirred bioreactors using oxygen-vectors. 1. Simulated fermentation broths. *Bioprocess Biosyst Eng* (2004a);**26**: 231-238.
- Galaction A, Cascaval D, Oniscu C, Turnea M. Prediction of oxygen transfer coefficients in stirred bioreactors for bacteria, yeasts and fungus broths. *Biochem Eng J* (2004b);**20**:85-94.
- Galaction A, Cascaval D, Turnea M, Folescu E. Enhancement of oxygen mass transfer in stirred bioreactors using oxygen-vectors. 2. *Propionibacterium shermanii* broths. *Bioprocess Biosyst Eng* (2005);**27**:263-271.
- Galindo E, Pacek A, Nienow A. Study of drop and bubble sizes in a simulated mycelial fermentation broth of up to four phases. *Biotechnol Bioeng* (2000);**69**:213-221.
- Gomes N, Aguedo M, Texeira J, Belo I. Oxygen mass transfer in a biphasic medium: Influence on the biotransformation of methyl ricinoleate into γ -decalactone by the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Biochem Eng J* (2007);**35**:380-386.
- Guieysse B, Cirne M, Mattiasson B. Microbial degradation of phenanthrene and pyrene in a two-liquid phase-partitioning bioreactor. *Appl Microbiol and Biotechnol* (2001);**56**:796-802.
- Hanson R, Hanson T. Methanotrophic bacteria. *Microbiol Rev* (1996);**60**:439-471.
- Hatziantoniou V, Andersson B, Schoon N. Mass transfer and selectivity in liquid-phase hydrogenation of nitro compounds in a monolithic catalyst reactor with segmented gas-liquid flow. *Ind Eng Chem Proc Des Dev* (1986);**25**:964-970.
- Haubrichs R, Widmann R. Evaluation of aerated biofilter systems for microbial methane oxidation of poor landfill gas. *Waste Manag Assoc* (2006);**26**:408-416.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

- Heibel A, Scheenen T, Heiszwolf J, Van As H, Kapteijn F, Moulijn J. Gas and liquid-phase distribution and their effect on reactor performance in the monolith film flow reactor. *Chem Eng Sci* (2001);**56**:5935-5943.
- Hernández M, Quijano G, Thalasso F, Daugulis A, Villaverde S, Muñoz R. A comparative study of solid and liquid non-aqueous phases for the biodegradation of hexane in two-phase partition partitioning bioreactors. *Biotechnol Bioeng* (2010);**106**:731-740.
- Ho C, Ju L, Baddour R. Enhancing penicillin fermentation by increased oxygen solubility through the addition of *n*-hexadecane. *Biotechnol Bioeng* (1990);**36**:1110-1118.
- Hughmark G. Power requirements and interfacial area in gas-liquid turbine agitated systems. *Ind Eng Chem Proc Des Dev* (1980);**10**:638-641.
- Humer M, Lechner P. Alternative approach to the elimination of greenhouse gases from old landfills. *Waste Manag Res* (1999);**17**:443-452.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2007). Fourth assessment report (AR4) http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4_syr.pdf, p. 1-73.
- Irandoust S, Andersson B. Mass transfer and liquid-phase reaction in a segmented two-phase flow monolithic catalyst reactor. *Chem Eng Sci* (1988);**43**:1983-1988.
- Kennes C, Veiga M. Bioreactors for waste gas treatment. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands (2001), p. 47-98, 215-254.
- Kreutzer M, Kapteijn F, Moulijn J, Kleijn C, Heiszwolf J. Multiphase monolith reactors: chemical reaction engineering of segmented flow in microchannels. *Chem Eng Sci* (2005a);**60**:5895-5916.
- Kreutzer M, Kapteijn F, Moulijn J, Ebrahimi S, Kleerebezem R, van Loosdrecht M. Monoliths as biocatalytic reactors: Smart Gas-Liquid Contacting for Process Intensification. *Ind Eng Chem Res* (2005b);**44**:9646-9652.
- Kreutzer M, Kapteijn F, Moulijn J. Shouldn't catalysts shape up? Structured reactors in general and gas-liquid monolith reactors in particular. *Catal Today* (2006);**111**:111-118.
- Leddy M, Philips D, Ridgway F. Catabolite-mediated mutations in alternate toluene degradation pathways in *Pseudomonas putida*. *J Bacteriol* (1995);**177**:4713-4720.
- Littlejohns J, Daugulis A. A two-phase partitioning airlift bioreactor for the treatment of BTEX contaminated gases. *Biotechnol Bioeng* (2009);**103**:1077-1086.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

- Liu H, Vandu C, Krishna R. Hydrodynamics of Taylor flow in vertical capillaries: Flow regimes, bubble rise velocity, liquid slug length, and pressure drop. *Ind Eng Chem Res* (2005);**44**:4884-4897.
- McCabe W, Smith J, Harriot P. Operaciones unitarias en ingeniería química. McGraw/Hill Interamericana, Madrid España (1991), p. 242-293.
- McLeod C, Daugulis A. Interfacial effects in a two-phase partitioning bioreactor: degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by an hydrophobic *Mycobacterium*. *Process Biochem* (2005);**40**:1799-1805.
- Mohseni M, Allen D. Biofiltration of mixtures of hydrophilic and hydrophobic volatile organic compounds. *Chem Eng Sci* (2000);**55**:1545-1558.
- Moo-Young M, Blanch H. Design of biochemical reactors. Mass transfer criteria for simple and complex systems. *Adv Biochem Eng* (1981);**19**:1-69.
- Moo-Young M, Cooney C, Humphrey A. Comprehensive biotechnology, vol 2. Pergamon Oxford, UK (1985).
- Muñoz R, Villaverde S, Guieysse B, Revah S. Two-phase partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds. *Biotech Adv* (2007);**25**:410-422.
- Muñoz R, Chambaud M, Bordel S, Villaverde S. A systematic selection of the non-aqueous phase in a bacterial two-phase partitioning bioreactor treating α -pinene. *Appl Microb Biot* (2008);**79**:33-41.
- Nielsen D, Daugulis A, McLellan P. A novel method of simulating oxygen mass transfer in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnol Bioeng* (2003);**83**:735-742.
- Nielsen D, Daugulis A, McLellan P. A restructured framework for modelling oxygen transfer in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnol Bioeng* (2005);**91**:773-777.
- Nikiema J, Brzezinski R, Heitz M. Elimination of methane generated from landfills by biofiltration: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol* (2007);**6**:261-284.
- OECD, Organization for Cooperation and Development. Guidelines for testing of chemicals. Test 302 B: Zahn-Wellens/EMPA; Test 302 C: Modified MITI Test (II). OECD, Paris, France (1993). http://www.oecd.org/home/0,3305,en_2649_201185_1_1_1_1_1,00.html.
- Onal Y, Lucas M, Claus P. Application of a capillary microreactor for selective hydrogenation of α,β -unsaturated aldehydes in aqueous multiphase catalysis. *Chem Eng Technol* (2005);**28**:972-978.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

- Kyoto Protocol to the United Nations Framework Convention on Climate Change (1997). Document FCCC/CP/1997/Add.1. <http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpeng.pdf>.
- Prpich G, Daugulis A. Polymer development for enhanced delivery of phenol in a solid-liquid two-phase partitioning bioreactor. *Biotechnol Prog* (2004);**20**:1725-1732.
- Prpich G, Daugulis A. Enhanced biodegradation of phenol by a microbial consortium in a solid-liquid two phase partitioning bioreactor. *Biodegradation* (2005);**16**:329-339.
- Quijano G, Revah S, Gutierrez-Rojas M., Flores-Cotera L, Thalasso F. Oxygen transfer in three-phase airlift and stirred tank reactors using silicone oil as transfer vector. *Process Biochem* (2009);**44**:619-624.
- Quijano G, Hernandez M, Villaverde S, Thalasso F, Muñoz R. A step-forward in the characterization and potential applications of solid and liquid oxygen transfer vectors. *Appl Microbiol Biotechnol* (2010a);**85**:543-551.
- Quijano G, Rocha-Rios J, Hernandez M, Villaverde S, Revah S, Muñoz R, Thalasso F. Determining the effect of solid and liquid vectors on the gaseous interfacial area and oxygen transfer rates in two-phase partitioning bioreactors. *J Hazard Mater* (2010b);**175**:1085-1089.
- Ratledge C. Fermentation substrates. *Ann Rep Ferment Proc* (1977);**1**:49-71.
- Ratulowski J, Chang H. Marangoni effects of trace impurities on the motion of long gas bubbles in capillaries. *J Fluid Mech* (1990);**210**:303-328.
- Rocha-Rios J, Bordel S, Hernandez S, Revah S, Methane degradation in two-phase partition bioreactors. *Chem Eng J* (2009);**152**:289-292.
- Rocha-Rios J, Muñoz R, Revah S. Effect of silicone oil fraction and stirring rate on methane degradation in a stirred tank reactor. *J Chem Technol Biotechnol* (2010a);**85**:314-319.
- Rocha-Rios J, Quijano G, Thalasso F, Revah S, Muñoz R. Methane biodegradation in a two-phase partition internal loop airlift reactor with gas recirculation. *J Chem Technol Biotechnol* (2010b) doi:10.1002/jctb.2523.
- Ruchti G, Dunn I, Bourne J. Practical Guidelines for the determination of oxygen transfer coefficients (k_La) with the sulfite oxidation method. *Chem Eng J* **30**:29-38 (1985).
- Sander R. (1999). Compilation of Henry's law constants for inorganic and organic species of potential importance in environmental chemistry. <http://www.henrys-law.org>

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

- Scheehle E, Irving W, Kruger D. Global anthropogenic methane emissions. In: Van Ham, et al. (Eds.), *Non-CO₂ Greenhouse Gases: Scientific Understanding, Control Options and Policy Aspects*. Millpress, Rotterdam, The Netherlands (2002), p. 257–262.
- Schumack L, Chow A. Extraction of aromatic organic-compounds by polyurethane foam. *Talanta* (1987);**34**:957-996.
- Shareefdeen Z, Singh A. *Biotechnology for odor and air pollution control*. 1st ed. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2005), p. 406-407.
- Simmons M, Wong D, Travers P, Rothwell J. Bubble behavior in three phase capillary microreactors. *Int J Chem React Eng* (2003);**1**:A30.
- Thulasidas T, Abraham M, Cerro R. Bubble-train flow in capillaries of circular and square cross-section. *Chem Eng Sci* (1995);**50**:183-189.
- USEPA (1999). U.S. Methane emissions 1990-2020: Inventories, projections, and opportunities for reductions. <http://www.epa.gov/methane/reports/methaneintro.pdf>.
- USEPA (2006). Global mitigation of non-CO₂ greenhouse gases. <http://www.epa.gov/climatechange/economics/downloads/GlobalMitigationFullReport.pdf>.
- van Groenestijn J, Hesselink P. Biotechniques for air pollution control. *Biodegradation* (1993);**4**: 283-301.
- Watanabe I, Hashimoto T, Shimoyama A. Methane-oxidizing activities and methanotrophic populations associated with wetland rice plants. *Biol Fertil Soils* (1997);**24**:261-265.
- Wubbolts M, Favre-Bulle O, Witholt B. Biosynthesis of synthons in two-liquid-phase media. *Biotechnol Bioeng* (1996);**52**:301-308.
- Yazdian F, Shojaosadati S, Nosrati M, Hajiabbas M, Vasheghani-Farahani E. Investigation of gas properties, design, and operational parameters on hydrodynamic characteristics, mass transfer, and biomass production from natural gas in an external airlift loop bioreactor *Chem Eng Sci* (2009);**64**:2455-2465.
- Yeom S, Daugulis A. Development of a novel bioreactor system for treatment of gaseous benzene. *Biotechnol Bioeng* (2000);**72**:156-164.
- Yu Y, Ramsay J, Ramsay B. On-line estimation of dissolved methane concentration during methanotrophic fermentations. *Biotechnol Bioeng* (2006);**95**:789-793.
- Zenhao D, Moller N, Greenberg J, Weare J. The prediction of methane solubility in natural waters to high ionic strength from 0 to 250 °C and from 0 to 1600 bar. *Geochim Cosmochim Acta* (1992);**56**:1451-1460.

13. Apéndices.

13.1 Publicaciones.

Rocha-Rios J, Bordel S, Hernandez S, Revah S*, Methane degradation in two-phase partition bioreactors. *Chem Eng J* (2009);**152**:289-292.

Rocha-Rios J, Muñoz R, Revah S*. Effect of silicone oil fraction and stirring rate on methane degradation in a stirred tank reactor. *J Chem Technol Biotechnol* (2010);**85**:314-319.

Rocha-Rios J, Muñoz R, Revah S*. Effect of silicone oil fraction and stirring rate on methane degradation in a stirred tank reactor. *Biotechniques for air pollution control* (Chapter 16), Delft The Netherlands (2009), CRC Press Taylor and Francis Group, Jan Bartacek, Christian Kennes and Piet N.L. Lens (eds.), p. 101-107. ISBN: 978-0-415-58270-4.

Rocha-Rios J, Quijano G, Thalasso F, Revah S*, Muñoz R. Methane biodegradation in a two-phase partition internal loop airlift reactor with gas recirculation. *J Chem Technol Biotechnol* (2010) doi:10.1002/jctb.2523.

Quijano G, **Rocha-Rios J**, Hernandez M, Villaverde S, Revah S, Muñoz R*, Thalasso F. Determining the effect of solid and liquid vectors on the gaseous interfacial area and oxygen transfer rates in two-phase partitioning bioreactors. *J Hazard Mater* (2010);**175**:1085-1089.

En proceso de envío a revistas con arbitraje internacional:

Rocha-Rios J, Revah S*. Effect of silicone oil fraction and liquid recirculation flow on methane degradation in a biotrickling filter.

Rocha-Rios J, Kraakman NJR, Kleerebezem R, Revah S, Kreutzer MT, van Loosdrecht MCM*. Increasing the mass transfer of poorly water soluble compounds in environmental biotechnology.

Kraakman NJR*, **Rocha-Rios J**. Mass transfer and biological gas treatment.



Short communication

Methane degradation in two-phase partition bioreactors

José Rocha-Ríos^a, Sergio Bordel^b, Sergio Hernández^a, Sergio Revah^{b,*}

^a Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica (IPH), Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México, D.F., Mexico

^b Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, c/o IPH, UAM-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México, D.F., Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 February 2009

Received in revised form 3 April 2009

Accepted 7 April 2009

Keywords:

Two-phase partition bioreactors

Silicone oil

Methane biodegradation

Biotrickling filter

Stirred tank bioreactor

ABSTRACT

Biological degradation of methane by an adapted consortium in steady state was compared in two reactor configurations (stirred tank, STR and trickling bed, TBR) with and without 10% (v/v) silicone oil. Silicone oil addition increased the methane average volumetric elimination capacity by 41% in STR up to $106 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and by 131% in TBR up to $51 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Specific elimination capacities showed higher degradation (69% in STR and 98% in TBR) suggesting increased bioavailability. The elimination capacities obtained in both reactors with oil addition exceed most of experimental reports for methane biofiltration.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Methane is an important greenhouse gas; it has 21 times more greenhouse impact on the atmosphere than CO_2 at the same concentration. It represents approximately 23% of the total worldwide greenhouse emissions and atmospheric methane concentration has been reported to increase twice as fast than CO_2 [1]. Therefore, the control of methane release is a relevant issue of the global warming problem.

An important source of methane emissions is the biogas generated from landfills [2]. Utilization of methane from biogas emissions for energy production is only possible when methane concentration in the biogas and the overall biogas quantities are important, i.e. more than 30% (which occurs during the first 25 years of a landfill) and $50 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, respectively [3]. For biogas streams over $10\text{--}15 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ and methane concentrations greater than 20% [3], it is possible to remove methane by burning it in flares. However, biogas combustion requires concentrating methane if the flow and/or concentration are below those values, which is not economically viable, as in the biogas emissions from small or old landfills, anaerobic digestors, sewer emissions, etc.

Biological oxidation is a good alternative to reduce atmospheric emissions of methane if its gas concentration is below its explosion limit in air (5%) [2,4]. These methods are based on a group of aerobic bacteria called methanotrophs which can use methane as carbon and energy source [5]. Biofilters have been already used for

methane removal, Nikiema et al. [2] published a complete review on the topic. The main disadvantage of biofiltration for methane abatement is the required high gas residence time, which ranges between several minutes to hours [2,4], while the typical residence times for the removal of VOCs are between 30 and 120 s [6]. The long residence times are due to the low water solubility of methane which has a dimensionless Henry constant at 30°C of 33.5 [7].

Two-phase partition bioreactors have been proposed as an alternative to improve the removal of low solubility compounds [8,9]. This technology is based on the addition of an organic phase with more affinity for the target compound than water. Two-phase bioreactors have shown to improve toluene [10] and hexane removals [11], oxygen transfer rate [12] and to improve performance under transient conditions. The most used organic phases are silicone oils, long chain hydrocarbons (hexadecane, tetradecane, etc.) and fluorocarbons such as C_{10}F_8 [9]. The non-biodegradable silicone oil has consistently been shown to favor the elimination capacity of hydrophobic compounds [9,11] without toxic effects. Nevertheless, silicone oil has certain drawbacks as transfer vector, as it is relatively expensive and its recovery may increase process costs. Alternative organic phases, including solid polymers, have been proposed for the degradation of poorly soluble compounds [13].

The aim of this work is to evaluate, under steady state conditions, methane abatement by a mixed bacterial culture in stirred tank and trickling bed bioreactors with two liquid phases as compared to an aqueous system. Volumetric and specific methane uptake rates will be evaluated to determine the direct influence of oil addition.

* Corresponding author. Tel.: +52 5558046408; fax: +52 5558046408.
E-mail address: srevah@xanum.uam.mx (S. Revah).

2. Materials and methods

2.1. Microorganisms and culture conditions

A methanotrophic consortium obtained from a sample of activated sludge from the waste water treatment plant of UAM-Iztapalapa (México City). One liter of activated sludge was filtered through a filter paper (8 μm particle retention; Whatman, UK), the filtrate was centrifuged and the cells were resuspended in 0.5 L of saline mineral medium described by Aaronson [14]. A gas stream with 1% (v/v) of methane was bubbled through the culture during 4 weeks with weekly medium change before using it to inoculate the reactor.

The mineral medium used for the culture contained (g L^{-1}): NaNO_3 , 2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10^{-3} ; Na_2HPO_4 , 0.2; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.09; $\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5×10^{-6} ; H_3BO_3 , 10^{-5} ; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10^{-5} ; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 7×10^{-5} ; MoO_3 , 10^{-5} ; KCl , 0.04; CaCl_2 , 0.015. The final pH of medium was 7.

2.2. Chemicals

Methane gas at 99.9% was from Praxair (Mexico). Silicone oil (polydimethylsiloxane, 200 fluid) was from Sigma–Aldrich (USA). An organic fraction of 10% (v/v) was chosen based on previous reports [9,11]. Silicone oil was shown not to be biodegraded nor toxic for the microorganisms [11].

2.3. Partition coefficient of methane in silicone oil

Glass serological bottles (0.125 L) sealed with mininert valves (Supelco, USA) were added with 10 mL of silicone oil and 1, 2, 3, 4 and 5 mL of methane. Bottles by triplicate were placed in a rotary shaker at 30 °C and once the partition equilibrium was attained (when headspace concentration was constant in two consecutive injections with two hours difference), 0.1 mL of headspace were used for methane quantification by chromatography. The methane partition coefficient was determined by mass balance.

2.4. Stirred tank reactor (STR)

A 3.5 L fermentor (Bioflo III New Brunswick, USA) with an operation volume of 2 L and an agitation system with two Rushton turbines operated at 800 rpm was used for methane degradation in suspension. The gas flow through the system was 0.42 L min^{-1} (corresponding to 0.21 vvm or empty bed residence time, EBRT, of 4.8 min) and the average methane load was $200 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (average methane concentration of 15.9 g m^{-3}). Mineral medium was continuously added with a dilution rate of 0.1 d^{-1} (0.2 L day^{-1}).

2.5. Trickling bed reactor (TBR)

This system consisted of a glass cylindrical column of 1 m with an inner diameter of 0.08 m packed with 1 L of polyurethane open pore foam (EDT, Germany) with a porosity of 0.97, a specific area of $600 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ and a density of 35 kg m^{-3} . A magnetic stirring system at the bottom of the column allowed continuous mixing of the liquid (volume of 0.3 L) prior to recirculation. The inlet gas flow in system was 0.21 L min^{-1} equivalent to an EBRT of 4.8 min and the average methane load was $140 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (average methane concentration of 11.1 g m^{-3}). As in the STR, mineral medium was continuously added with a 0.1 d^{-1} dilution rate. Steady state was considered for both STR and TBR when constant EC and biomass values were obtained for 10 days.

Reactor performance is described for both systems by the volumetric methane load $L = C_{\text{Gin}} Q V_R^{-1}$; the volumetric elimination

capacity $EC = (C_{\text{Gin}} - C_{\text{Gout}}) Q V_R^{-1}$; the volumetric CO_2 production rate $R_{\text{CO}_2} = (C_{\text{CO}_2 \text{in}} - C_{\text{CO}_2 \text{out}}) Q V_R^{-1}$; the percent removal efficiency $\%RE = 100 \times ((C_{\text{Gin}} - C_{\text{Gout}}) / C_{\text{Gin}})$; and the gaseous elimination capacity $EC_g = EC / \alpha$. Where C_{Gin} , $C_{\text{CO}_2 \text{in}}$, C_{Gout} and $C_{\text{CO}_2 \text{out}}$ are the inlet and outlet methane and CO_2 concentrations (g m^{-3}); Q is the gas volumetric flow ($\text{m}^3 \text{ h}^{-1}$), V_R is the operation reactor volume (m^3) and α is the gas hold-up (STR) or the porosity (TBR).

2.6. Analytical procedures

Methane concentrations in the gas phase were measured using a gas chromatograph (Agilent Technologies 6890N, USA) equipped with an AT-WAX $25 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.2 \mu\text{m}$ column (Alltech, USA) and a FID detector. CO_2 concentrations were measured using the same chromatograph with a Porapak Q $80/100 \text{ 6}' \times 1/8''$ column and a TCD detector. The volumetric CO_2 production rate (R_{CO_2}) considered the concentration difference between inlet and outlet. The helium (carrier), H_2 and air flows were 7, 25 and 250 mL min^{-1} respectively; and temperatures of injector, oven and both detectors were maintained at 200, 70 and 250 °C, respectively. Measurements in each system were carried out daily by triplicate.

Biomass in liquid of both reactors was calculated from the protein content using Lowry's method (BioRad kit, USA) and a protein content of 50% which was experimentally obtained through independent dry weight measurements. Triplicate samples were centrifuged at 13000 rpm for 10 min to separate biomass from the culture medium prior to protein determination. At the end of TBR operation, the biomass attached to the package was dissolved in NaOH solution (0.5 M at 70 °C) during two hours using an ultrasonic cleaner. The obtained solution was homogenized and the protein content was determined with Lowry's method.

3. Results and discussion

The partition coefficient ($K_O = C_{\text{G eq}} / C_{\text{O eq}}$) of methane in silicone oil at 30 °C was found to be in 3.2 ± 0.3 , which is approximately 10 times lower than the value in water of 33.5. This partition coefficient and the fact that the oil was neither toxic nor degraded by the methanotrophic consortium confirmed its suitability as a transference vector for methane. Table 1 shows the performance results for the steady state operation in both experiments.

The increase in volumetric elimination capacities with silicone oil addition (10%, v/v) were 41% and 131% for STR and TBR respectively with corresponding improvements both in the %RE and CO_2 production rates, despite the fact that the average loads were slightly lower for the experiments with oil addition. The average surface elimination capacities (expressed by reactor cross-section) were calculated for the STR and TBR with oil addition and found to be 344 and $214 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, respectively, which were superior to most of methane biofiltration experiments reviewed by Nikiema et al. [2].

Moreover, to compare both systems, the volumetric elimination capacities were expressed per unit of gas volume contained in the reactors (considering a measured gas hold up value of 0.15

Table 1
Performance variables in both systems with and without silicone oil addition during stationary operation.

	STR		TBR	
	Control	Added	Control	Added
L ($\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$)	209 \pm 26	187 \pm 11	157 \pm 15	131 \pm 9
EC ($\text{g m}^{-3} \text{ reactor h}^{-1}$)	75 \pm 6	106 \pm 7	22 \pm 3	51 \pm 7
R_{CO_2} ($\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$)	80 \pm 8	109 \pm 12	36 \pm 2	69 \pm 5
%RE	34 \pm 5	57 \pm 4	15 \pm 3	40 \pm 4
EC_g ($\text{g m}_{\text{gas}}^{-3} \text{ h}^{-1}$)	500 \pm 40	707 \pm 47	24 \pm 3	57 \pm 8

in STR and a bed porosity of 0.9 in TBR) similarly to Arriaga et al. [11]. Gaseous elimination capacities (summarized in Table 1), which are equivalent to the global transfer rates under steady state, were much higher for the STR than for the TBR (21 and 12 times higher for the control and with oil addition, respectively). This important difference can be explained considering the agitation energy applied in the STR that promotes both the transfer coefficients and the gas–aqueous interfacial area. Furthermore, in STR the agitation reduces the coalescence of the oil particles and the consequent decrease of the aqueous–organic interfacial area. In TBR, despite the longer retention time, mass transfer may be reduced by clogging or channeling of gas flow in the support due to heterogeneous biofilm formation [11]. To evaluate the specific rates, biomass was measured in each reactor and correlated to the volumetric rate values. Fig. 1 shows biomass values and the specific methane elimination capacity and CO_2 production rates for steady state operation in each experiment.

Results in Fig. 1 indicate that the specific methane elimination capacity increased around 70% for the STR and 100% for the TBR when oil was present. The specific methane elimination capacities obtained were superior to most of values reported in literature which are in the order of 10^{-6} to $10^{-2} \text{ g g}_{\text{biomass}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ [15–20]. Concurrent specific CO_2 production rates increased with the higher specific methane uptake. The CO_2 yields were $1.04 \pm 0.02 \text{ g}_{\text{CO}_2} \text{ g}_{\text{CH}_4}^{-1}$ ($0.378 \text{ g}_{\text{C}} \text{ g}_{\text{C}}^{-1}$) and $1.35 \pm 0.1 \text{ g}_{\text{CO}_2} \text{ g}_{\text{CH}_4}^{-1}$ ($0.491 \text{ g}_{\text{C}} \text{ g}_{\text{C}}^{-1}$) for the STR and TBR respectively, these values are similar to others reported for methanotrophic bacteria [16,21].

Considering the partition coefficients mentioned previously and gas methane concentration in STR added with silicone of 6.6 g m^{-3} (average effluent concentration and perfect mixing), the concentration in the aqueous phase would be 0.197 and 2.06 g m^{-3} in the oil phase with $3.5 \times 10^{-4} \text{ g}$ of methane dissolved in 1.8 L of water and $4.1 \times 10^{-4} \text{ g}$ dissolved in 0.2 L of silicone oil. Therefore, in 10% (v/v) of silicone oil there is about 10 times the concentration and 1.2 times more methane available for cells than in 90% of water. The steady state mass balance in STR indicates 1.4 times more methane available for cells in the oil added reactor and 2.3 times for TBR.

The enhancement in performance of two-phase partition bioreactors can be attributed to improved methane availability originated by (a) better transfer of the pollutant and oxygen from the gaseous phase to cells and, (b) possible direct substrate uptake from the organic phase. With respect to the mass transfer increase, no consistent relation has been found between the volumetric mass transfer ($k_L a$) and organic phase addition as reported by Clarke and Correia [22]. For silicone oil, Morao et al. [23] reported that there is a “critical fraction” from which an improvement in $k_L a$ may be obtained. The net effect of organic phase on mass transfer is the

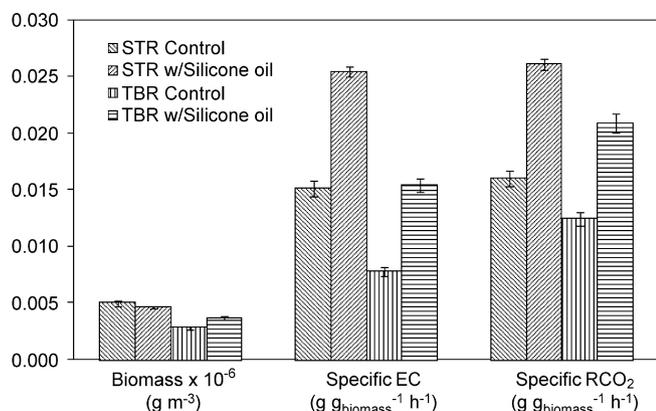


Fig. 1. Biomass, specific elimination capacity and specific CO_2 production rate in the STR and TBR during steady operation with and without silicone oil addition.

result first of the film coefficient (k_L) which is affected on one hand as there is a new resistance to the methane transfer from the gas phase to cells and by an increase in the liquid viscosity, and on the other hand, this coefficient is benefited by an increase in the driving force caused by the more favorable substrate partition coefficient in the liquid phase. Secondly, oil addition reduces gas–liquid surface tension favoring smaller air bubbles and consequently a higher specific mass transfer area (a). As a result of these effects, the maximum increase reported for $k_L a$ has been lower than 20% which is significantly inferior to the increase in methane EC in our study of 41% in the STR and 131% in the TBR. These considerations suggest that direct methane uptake from the cells adhered to the oil drops may be improving the overall EC as the higher methane and oxygen concentration in the oil drops, tentatively up to ten times based on the partition coefficient, foster higher specific growth and methane uptake rates.

4. Conclusions

Ten percent (v/v) silicone oil addition augmented significantly the biodegradation performance in a stirred tank and trickling bed reactors, making two-phase partition bioreactors a promising alternative to improve methane removal in bioreactors with shortcomings in mass transfer to cells. A mass balance and the fact that specific elimination capacities (per gram of biomass) in both systems were increased, suggest that a direct uptake of methane and oxygen with higher rates cells adhered to oil drops adds to the dissolved methane uptake from the aqueous phase. Elimination capacities obtained in this paper are superior to most of methane biofiltration experiments reported in literature and current research is being pursued in alternative organic phase selection and mass transfer coefficients determination.

Acknowledgements

To Conacyt for financial support for the project, Sergio Bordel's postdoctoral position and José Rocha's doctoral scholarship. To Raúl Muñoz for fruitful discussions

References

- [1] U.S. Environmental Protection Agency (USEPA), Global mitigation of non- CO_2 greenhouse gases, 2006, <http://www.epa.gov/climatechange/economics/downloads/GlobalMitigationFullReport.pdf>.
- [2] J. Nikiema, R. Brzezinski, M. Heitz, Elimination of methane generated from landfills by biofiltration: a review, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 6 (2007) 261–284.
- [3] R. Haubrichs, R. Widmann, Evaluation of aerated biofilter systems for microbial methane oxidation of poor landfill gas, *Waste Manage. Assoc.* 26 (2006) 408–416.
- [4] C. DuPlessis, J. Strauss, E. Sebalalo, K. Riedel, Empirical model for methane oxidation using a composted pine bark biofilter, *Fuel* 82 (2003) 1359–1365.
- [5] R. Hanson, T. Hanson, Methanotrophic Bacteria *Microbiol. Rev.* 60 (1996) 439–471.
- [6] Z. Shareefdeen, A. Singh, *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*, 1st ed., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2005, p. 406.
- [7] D. Zhenhao, N. Moller, J. Greenberg, J. Weare, The prediction of methane solubility in natural waters to high ionic strength from 0 to 250 °C and from 0 to 1600 bar, *Geochim. Cosmochim. Acta* 56 (1992) 1451–1460.
- [8] A. Daugulis, Two-phase partitioning bioreactors: a new technology platform for destroying xenobiotics, *Trends Biotechnol.* 19 (2001) 457–462.
- [9] R. Muñoz, S. Villaverde, B. Guieysse, S. Revah, Two-phase partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds, *Biotech. Adv.* 25 (2007) 410–422.
- [10] A. Daugulis, N. Boudreau, Removal and destruction of high concentrations of gaseous toluene in a two-phase partitioning bioreactor by *Alcaligenes xylosoxidans*, *Biotechnol. Lett.* 25 (2003) 1421–1424.
- [11] S. Arriaga, R. Muñoz, S. Hernandez, B. Guieysse, S. Revah, Gaseous hexane biodegradation by *Fusarium solani* in two liquid phase packed-bed and stirred tank bioreactors, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 2390–2395.
- [12] M. Cesário, H. de Wit, J. Tramper, H. Beeftink, Dispersed organic solvent to enhance the overall gas/water mass transfer coefficient of apolar compounds in the biological waste-gas treatment. Modeling and evaluation, *Biotechnol. Prog.* 13 (1997) 399–407.

- [13] A. Daugulis, N. Boudreau, Solid-liquid two-phase partitioning bioreactors for the treatment of gas-phase volatile organic carbons (VOCs) by a microbial consortium, *Biotechnol. Lett.* 30 (2008) 1583–1587.
- [14] S. Aaronson, *Experimental Microbial Ecology*, 1st ed., Academic Press, New York, 1970, pp. 109–111.
- [15] I. Watanabe, T. Hashimoto, A. Shimoyama, Methane-oxidizing activities and methanotrophic populations associated with wetland rice plants, *Biol. Fertil. Soils* 24 (1997) 261–265.
- [16] G. Börjesson, I. Sundh, A. Tunlid, A. Frostergard, B. Svensson, Microbial oxidation of CH₄ at high partial pressures in an organic landfill cover soil under different moisture regimes, *FEMS Microbiol. Ecol.* 26 (1998) 207–217.
- [17] J. Xin, J. Cui, J. Chen, S. Li, C. Xia, L. Zhu, Continuous biocatalytic synthesis of epoxypropane using a biofilm reactor, *Proc. Biochem.* 38 (2003) 1739–1746.
- [18] D. Reay, D. Nedwell, Methane oxidation in temperate soils: effects of inorganic N, *Soil Biol. Biochem.* 36 (2004) 2059–2065.
- [19] S. Lontoh, J. Semrau, Methane and trichloroethylene degradation by *Methylosinus trichosporium* OB3b expressing particulate methane monooxygenase, *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (1998) 1106–1114.
- [20] K. Chu, L. Alvarez-Cohen, Effect of nitrogen source on growth and trichloroethylene degradation by methane-oxidizing bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (1998) 3451–3457.
- [21] V. Acha, J. Alba, F. Thalasso, The absolute requirement for carbon dioxide for aerobic methane oxidation by a methanotrophic-heterotrophic soil community of bacteria, *Biotechnol. Lett.* 675 (2002) 675–679.
- [22] K. Clarke, L. Correia, Oxygen transfer in hydrocarbon–aqueous dispersions and its applicability to alkane bioprocesses: a review, *Biochem. Eng. J.* 39 (2008) 405–429.
- [23] A. Morao, C. Maia, M. Fonseca, J. Vasconcelos, S. Alves, Effect of antifoam addition on gas–liquid mass transfer in stirred fermenters, *Bioproc. Eng.* 20 (1999) 165–172.

Effect of silicone oil fraction and stirring rate on methane degradation in a stirred tank reactor

Rocha-Rios José,^a Muñoz Raúl^b and Revah Sergio^{c*}

Abstract

BACKGROUND: Methane is an important greenhouse gas and its biological oxidation constitutes a cost-effective alternative for low concentration emissions. Nevertheless, due to its low aqueous solubility (similar to oxygen), gas mass transfer is often the limiting step. Two-phase partition bioreactors (TPPBs), have been proposed to increase the biodegradation of poorly soluble compounds. In this work, the effect of stirring rate and silicone oil fraction on abiotic volumetric oxygen transfer coefficient $k_L a_{O_2}$ and methane elimination capacity (EC) by a methanotrophic consortium in a stirred tank was studied.

RESULTS: In abiotic conditions, the $k_L a_{O_2}$ increased when increasing both factors. Nevertheless, a negative effect on $k_L a_{O_2}$ was observed with silicone oil at the highest stirring rate (800 rpm). During methane biodegradation experiments, EC also improved when increasing both factors, but contrary to abiotic $k_L a_{O_2}$, it was not affected at the highest stirring rate. While stirring rate was the dominant variable determining methane biodegradation, the effect of oil fraction was only significant above 200 rpm. A maximum EC improvement of 700% was observed when increasing stirring rate from 200 to 800 rpm with 10% of silicone oil.

CONCLUSIONS: Increasing both stirring rate and oil fraction enhanced EC. The results were different from those observed with $k_L a_{O_2}$ suggesting that $k_L a$ is not sufficient to describe properly the mass transfer in TPPB because other factors (interfacial contact between the phases and physicochemical properties of organic phase) should be considered.

© 2010 Society of Chemical Industry

Keywords: methane biodegradation; silicone oil; mass transfer coefficient; two phase partitioning bioreactor

INTRODUCTION

Methane is an important greenhouse gas exhibiting a global warming potential 21–25 times higher than CO₂ and an atmospheric concentration increasing twice as fast than that of CO₂.¹ The use of CH₄ in biogas for energy production is not economically feasible when its concentrations are lower than 30%, and alternative disposal methods must be considered with low flows or concentration below 20% (v/v) as is the case in old and/or small landfills.² In this particular case, biological oxidation constitutes a cost-effective alternative for CH₄ abatement. However, the biodegradation of this compound is limited by its low solubility in the aqueous phase (similar to O₂) where the methanotrophic microorganisms are present, which constitutes the bottleneck of the process. In this context, the addition of an organic phase with a higher affinity for CH₄ than water can be used to improve the removal efficiency of the bioprocess. This organic phase is commonly called “mass transfer vector”,³ and the resulting systems are referred as two-phase partitioning bioreactors (TPPBs).⁴ Hence, the addition of a 10% (v/v) of silicone oil in the mineral salt medium (vector fraction referring to the aqueous–oil dispersion) in both a stirred tank and a biotrickling filter reactor increased methane elimination capacity (EC) by approximately 41% and 106%, respectively.⁵ However, that work was devised as a proof-of-concept study and the elucidation of the mechanisms responsible for the EC enhancement was beyond the scope of the study. Methane and

oxygen uptake in TPPBs is dependent on their transfer rate to the microbial cells, which can occur via four simultaneous transfer pathways with the following mass transfer flux directions: gas–vector–water–cells, gas–vector–cells, gas–water–cells and gas–cells.⁶ Obtaining a complete mathematical model of the process is a difficult task due to the high complexity of the system and to the fact that the experimental information available about the effect of the addition of organic phases on the mass transfer enhancement presents large variations.^{7,8} The elucidation of the effect of the key operational variables (vector fraction and stirring rate) in the transfer of gaseous substrate is required to

* Correspondence to: Revah Sergio, Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana–Cuajimalpa, c/o IPH, UAM–Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México D.F., Mexico.
E-mail: srevah@xanum.uam.mx

a Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica (IPH), Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México D.F., Mexico

b Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, Universidad de Valladolid, 47011 Valladolid, Spain

c Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana–Cuajimalpa, c/o IPH, UAM–Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México D.F., Mexico

better understand the mechanisms of enhancement in TPPBs. The volumetric mass transfer coefficient, $k_L a$, is crucial to accomplish the above-mentioned objective since it considers the different factors involved in mass transfer in a bioreactor: geometrical and operational characteristics of the vessel, media composition (i.e. ionic strength), biomass concentration, stirring rate, and organic fraction.⁹

The aim of this study was the quantification of the effect of the stirring rate and the silicone oil fraction on the abiotic $k_L a$ for oxygen so as the correlation of these effects with the enhancement in EC for a methanotrophic consortium in a stirred tank reactor.

THEORETICAL FUNDAMENTALS

Experimental determination of $k_L a_{O_2}$

The experimental $k_L a_{O_2}$ values were obtained using the method according to Moo-Young *et al.*¹⁰ This static method, which is adequate for non-respiring systems (abiotic conditions), can be applied to different cultivation media and does not involve chemical reactions that could affect the precision of the measurements. In our experimental determinations, the abiotic reactor was bubbled with N_2 at 0.2 L min^{-1} at each stirring rate tested in order to reduce oxygen concentration to values close to zero. Aeration was then resumed at 0.2 L min^{-1} (flow used in all abiotic and biotic experiments) and the dissolved oxygen concentration in the liquid dispersion (C_{O_2}) monitored until saturation.

In an abiotic system the oxygen transfer rate (OTR) can be obtained from Equation 1:

$$\text{OTR} = \frac{dC_{O_2}}{dt} = k_L a_{O_2} (C_{O_2}^* - C_{O_2}) \quad (1)$$

where $C_{O_2}^*$ and C_{O_2} are the saturation and dissolved oxygen concentrations in the liquid phase, respectively.

The increase in oxygen solubility due to the presence of the organic phase can be described by a volumetric average function $C_{O_2}^*$ (Ho *et al.*¹¹)

$$C_{O_2}^* = \theta C_{O_2, \text{aq}}^* + \varphi C_{O_2, \text{org}}^* \quad (2)$$

where θ and φ are the volumetric fractions of water and organic phase, respectively.

The solution of Equation 1 can be expressed as:

$$\ln \left(1 - \frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*} \right) = -k_L a_{O_2} t \quad (3)$$

Therefore, $-k_L a_{O_2}$ can be obtained from the slope of the curve $\ln \left(1 - C_{O_2} / C_{O_2}^* \right)$ versus t .

Empirical $k_L a_{O_2}$ correlations

To quantify the role of the different factors that affect $k_L a_{O_2}$ in TPPBs numerous empirical correlations have been developed.⁸ The most common correlating $k_L a_{O_2}$ with the specific power consumption of the impeller (P_g/V_L), the surface gas velocity (v_s), the organic phase fraction (φ), and the biomass concentration (X).¹²⁻¹⁵

$$k_L a_{O_2} = \alpha \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^\beta (v_s)^\gamma (1 - \varphi)^\delta (X)^\varepsilon \quad (4)$$

where α , β , δ , γ and ε are constants that should be determined.

The term P_g/V_L is very important in Equation 4 because it considers all impeller geometrical characteristics and hydrodynamic factors of the heterogeneous liquid-liquid dispersion in TPPBs, and indicates the level of turbulence and the media hydrodynamics in the bioreactor. For non-aerated systems with a single Rushton turbine, the calculation of the power consumption for stirring (P) is based on the power number (N_p). N_p in not-baffled bioreactors with homogeneous Newtonian fluids is a function of the Reynolds number (Re) and the Froude (Fr) number, where Re considers the inertial and viscous forces of fluid movement and Fr the gravitational forces that cause vortex in the absence of baffles.

$$N_p = f(Re, Fr^m) \quad (5)$$

with Re and Fr defined as follows:

$$Re = \frac{D_i^2 N \rho_L}{\mu_L} \quad (6)$$

and

$$Fr = \frac{D_i^2 N}{g} \quad (7)$$

where D_i is the impeller diameter (in m), N is the stirring rate (rpm), ρ_L is the liquid density (kg m^{-3}), μ_L is the liquid viscosity ($\text{kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$) and g is the constant of gravity acceleration (m s^{-2}), respectively. The N_p as a function of Re can be obtained according to McCabe *et al.*¹⁶ for a standard six blades Rushton turbine in a baffled reactor and corrected for a non-baffled system by multiplying by Fr^m , where the exponent m is also a function of Re :

$$m = \frac{x - \log Re}{y} \quad (8)$$

For standard Rushton turbines x and y are 1 and 40, respectively.¹⁶ The non-aerated power consumption (P) can be then obtained from N_p using Equation 9:

$$P = (N_p) (\rho_L N^3 D_i^5) \quad (9)$$

Finally, the aerated power consumption (P_g) can be estimated from P using the Hughmark correlation.¹⁷

$$\frac{P_g}{P} = 0.10 \left(\frac{g w_i V_L^{2/3}}{N D_i^4} \right) \left(\frac{N V_L}{Q} \right)^{0.25} \quad (10)$$

where w_i is impeller height (m), V_L is the liquid volume (m^3) and Q is the gas volumetric flow rate ($\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$).

When the agitation system consists of two Rushton turbines, P_g doubles its value. In addition, when the upper turbine is located near the liquid surface, the vortex formation is severely reduced.

Empirical correlations were obtained for $k_L a_{O_2}$ at 30°C by means of a curve fitting of Equation 4 by nonlinear regression using NCSS® software (Hintze J., 2006; Kaysville UT, USA) for the following conditions:

1. Tap water ($N = 200, 500, 800 \text{ rpm}$; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$).
2. Tap water and 5% (v/v) of silicone oil ($N = 200, 500, 800 \text{ rpm}$; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$).
3. Tap water and 10% (v/v) of silicone oil ($N = 200, 500, 800 \text{ rpm}$; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$).

4. Inactive cells at 3 g L^{-1} autoclaved at $121 \text{ }^\circ\text{C}$ for 20 min in tap water ($N = 200, 500, 800 \text{ rpm}$; $v_s = 4.9 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$).

The physical properties of the resulting dispersions (inactive cells, 5% and 10% of silicone oil) were estimated by volume average functions according to Equation 2. This approach has been satisfactorily used in previous studies for the estimation of other physical properties of similar dispersions.¹⁸

Finally, $k_L a_{\text{CH}_4}$ is related with $k_L a_{\text{O}_2}$ through:¹⁹

$$k_L a_{\text{O}_2} = 1.169 k_L a_{\text{CH}_4}. \quad (11)$$

Equation 11, which was obtained from a diffusivities relation (using Chapman–Enskog equations) between methane and oxygen, indicates that $k_L a_{\text{CH}_4}$ is 14.5% lower than that corresponding for oxygen.

MATERIALS AND METHODS

Microorganisms and culture conditions

The methanotrophic consortium used in this experiment was obtained from an activated sludge sample from the wastewater treatment plant of UAM-Iztapalapa (México City). Culture maintenance and inoculum preparation were carried out as previously described.⁵

Chemicals

Methane gas at 99.9% was purchased from Praxair (Praxair Mexico City, Mexico). Silicone oil (polydimethylsiloxane, 200 cst) was obtained from Sigma–Aldrich (St Louise, MO, USA).

Stirred tank reactor

The experimental set-up consisted of a 3.5 L fermenter (Bioflo III; New Brunswick Scientific, New Brunswick, NJ, USA) with a working volume of 2 L and an agitation system with two Rushton turbines separated 0.08 m ($D_i = 0.057 \text{ m}$ and $w_i = 0.011 \text{ m}$) operated at three stirring rates (200, 500 and 800 rpm) and with three silicone oil fractions (0, 5 and 10% v/v).

Experimental abiotic determination of $k_L a_{\text{O}_2}$

The volumetric oxygen transfer coefficients were determined in a stirred tank reactor (STR) under the conditions previously mentioned. Each experiment was carried out in duplicate and the standard error calculated.

Continuous methane biodegradation

Methane at 5.5 g m^{-3} (in air) was introduced in the system at 0.42 L min^{-1} via a perforated ring (four orifices with diameter of 10^{-3} m). This gas flow rate corresponded to 0.21 vvm or an empty bed residence time (EBRT) of 4.8 min and resulted in average methane loading rates of $65 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Mineral medium (prepared according to Rocha-Rios *et al.*⁵) was continuously added at a dilution rate of 0.05 d^{-1} (0.1 L d^{-1}) in order to maintain a constant bacterial concentration of 3 g L^{-1} . Temperature (T) and pH were controlled at $30 \text{ }^\circ\text{C}$ and 7.0, respectively. The CO_2 , pH, T and N were monitored on-line using the software Fermentor Control Program® version 4.3 (FoxyLogic, Aarhus, Denmark).

Methane biodegradation performance variables

The performance of the reactor was described by the volumetric methane load

$$L = C_{\text{CH}_4, \text{in}} \times Q \times V_L^{-1}, \quad (12)$$

the volumetric methane elimination capacity

$$\text{EC} = (C_{\text{CH}_4, \text{in}} - C_{\text{CH}_4, \text{out}}) \times Q \times V_L^{-1}, \quad (13)$$

the volumetric CO_2 production rate

$$R_{\text{CO}_2} = (C_{\text{CO}_2, \text{in}} - C_{\text{CO}_2, \text{out}}) \times Q \times V_R^{-1}, \quad (14)$$

and the percent removal efficiency

$$\% \text{RE} = 100 \times \left(\frac{C_{\text{CH}_4, \text{in}} - C_{\text{CH}_4, \text{out}}}{C_{\text{CH}_4, \text{in}}} \right) \quad (15)$$

where $C_{\text{CH}_4, \text{in}}$, $C_{\text{CO}_2, \text{in}}$, $C_{\text{CH}_4, \text{out}}$ and $C_{\text{CO}_2, \text{out}}$ are the inlet and outlet gaseous CH_4 and CO_2 concentrations (g m^{-3}), respectively.

Analytical procedures

Methane concentration in the gas phase was measured using a gas chromatograph (Agilent Technologies 6890N; Agilent technologies, Santa Clara CA, USA) equipped with an AT-WAX $25 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.2 \mu\text{m}$ column (Alltech, Lexington KY, USA) and a FID detector. Carbon dioxide concentration was measured using the same chromatograph with a Porapack Q 80/100 6 feet $\times 1/8$ inch column and a TCD detector according to Rocha-Rios *et al.*⁵ Biomass concentration in the reactor was estimated from protein concentration measurements using the Lowry method (BioRad kit; Bio-Rad, Hercules CA, USA) and considering a 50% protein content. All determinations (gas chromatography and biomass) were done in triplicate. The dissolved oxygen concentration was monitored using an Inpro6820 probe (Mettler-Toledo, Mexico City, Mexico). Since the $k_L a_{\text{O}_2}$ values were in all cases were lower than 0.03 s^{-1} , it was assumed that the response of the oxygen electrode to the variations in oxygen concentration was fast enough and did not affect the accuracy of the determination.²⁰

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of stirring rate on experimental abiotic $k_L a_{\text{O}_2}$

Figure 1 shows the influence of P_g/V_L on the experimental $k_L a_{\text{O}_2}$ under the tested conditions previously mentioned using the static method.

The $k_L a_{\text{O}_2}$ value in tap water (absence of organic phase and cells) increased with increasing stirring rate. The empirical correlation obtained in tap water $k_L a_{\text{O}_2}$ (s^{-1}) derived from Equation 4 is:

$$k_L a_{\text{O}_2} = 0.67 \pm 0.002 \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^{0.15 \pm 0.001} (v_s)^{0.826 \pm 0.004}, r^2 = 0.9628 \quad (16)$$

$k_L a_{\text{O}_2}$ values increased with the addition of inactive cells (3 g L^{-1}) and silicone oil (5% and 10%, v/v) compared to the values obtained in tap water as shown in Fig. 1. Nevertheless, a reduction in $k_L a_{\text{O}_2}$ was observed when increasing P_g/V_L (increase in stirring rates from 500 to 800 rpm) in the systems with inactive cells or silicone oil. This effect was less significant when inactive cells were added but notably marked with the increase in the oil fraction (Fig. 1). Therefore, for these cases, the empirical model

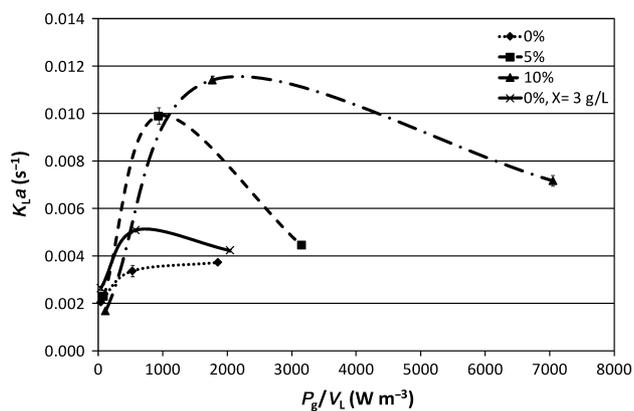


Figure 1. Effect of the specific power consumption of agitation P_g/V_L on abiotic $k_L a_{O_2}$.

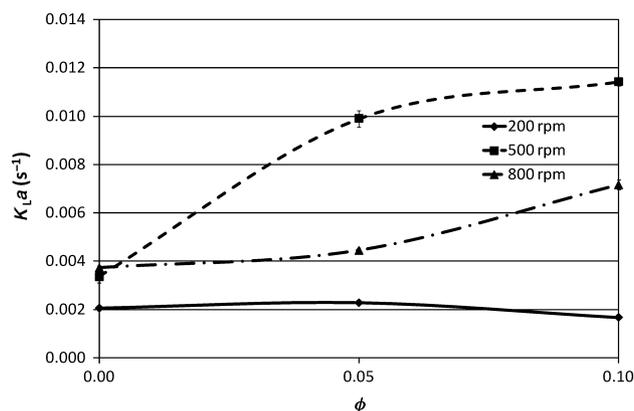


Figure 2. Effect of silicone oil fraction (ϕ) on abiotic $k_L a_{O_2}$.

in Equation 4 was not able to accurately describe the reduction in $k_L a_{O_2}$ at increasing P_g/V_L when the stirring rate was increased from 500 to 800 rpm in the presence of inactive cells or organic phase. A detailed review of the literature available reveals that other authors have also reported similar reductions in $k_L a_{O_2}$ at increasing P_g/V_L values in the presence of cells^{6,9,14,20} and the organic vector fraction,^{8,9,20,21–23} These authors,^{9,20} hypothesized that this reduction was due to the blockage of oxygen transfer as a result of an agitation-promoted adsorption of the cells or the organic solvent to the air bubbles. The lower diffusivity of oxygen in the viscous organic vector than in water severely hindered oxygen mass transport from the gas to the aqueous phase, where the oxygen probe is located. This blockage in the oxygen transfer increases at increasing stirring rates as a result of the decreasing organic drop diameters and of the higher frequency of collision between the vector and the air bubbles. Thus, at similar stirring rates $k_L a_{O_2}$ have been shown to decrease at increasing biomass concentrations.^{6,9,14,20} Likewise, Nielsen *et al.*²¹ showed a decrease in $k_L a_{O_2}$ with increasing *n*-hexadecane to 33% at agitation rates of 600 and 800 rpm and a $k_L a_{O_2}$ peak at 10% at the comparatively lower agitation of 400 rpm. Earlier, these authors²² reported a decreased $k_L a_{O_2}$ at 400 rpm as well as at 600 and 800 rpm suggesting that other factors should be considered.

Effect of silicone oil fraction on experimental abiotic $k_L a_{O_2}$

Results in Fig. 2 indicate that $k_L a_{O_2}$ increased with increasing the oil fractions (Fig. 2). This effect became more important at stirring rates greater than 200 rpm. Similarly to the results presented in Fig. 1, the highest experimental $k_L a_{O_2}$ values were obtained at 500 rpm and not at 800 rpm (Fig. 2).

Finally, it must be highlighted that the addition of silicone oil significantly modified the physical properties of the overall liquid phase, particularly viscosity, which greatly impacted the values P_g/V_L (Fig. 3).

Table 1 presents the volumetric average properties used in the calculation of the Reynolds number, Re , the number determining the level of turbulence in the liquid phase. Re was severely impacted by the addition of oil, due to the large increases in the liquid viscosity. For a Rushton turbine, the flow patterns obtained as a function of Re are:¹⁵ (1) for $Re < 10$, laminar; (2) for $10 < Re < 10^4$, transition; and (3) for $10^4 < Re$, turbulent.

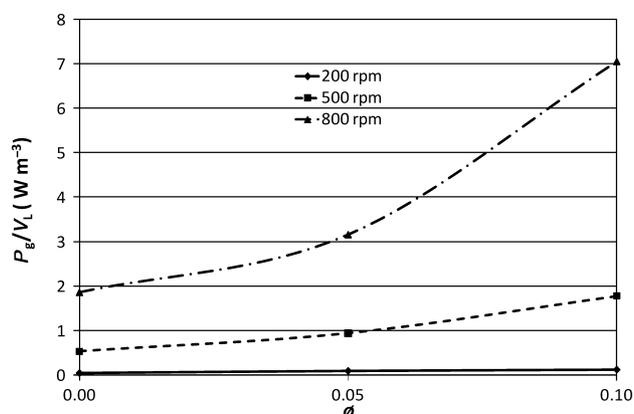


Figure 3. Effect of the silicone oil fraction (ϕ) on the specific power consumption of agitation P_g/V_L .

Table 1. Volumetric average properties and Reynolds numbers (Re) used for specific power consumption estimations (P_g/V_L)

ϕ (%)	Average properties		Reynolds number (Re)		
	ρ_L ($kg\ m^{-3}$)	μ_L ($kg\ m^{-1}\ s^{-1}$)	200 rpm	500 rpm	800 rpm
0	1000	0.0008	13 537 [§]	33 843 [§]	54 150 [§]
5	999	0.01076	1005 [†]	2513 [‡]	4022 [‡]
10	998	0.02072	53 [†]	132 [†]	212 [†]
0 (inactive cells 3 g L ⁻¹)	1100	0.00144	8272 [‡]	20 682 [§]	33 091 [§]

The flow patterns are: [†] laminar ($Re < 10$), [‡] transitional ($10 < Re < 10^4$), [§] turbulent ($10^4 < Re$).

Turbulent flow regimes were recorded when water was present in the bioreactor in all the stirring rates studied. The addition of 5% and 10% of silicone oil resulted in transition and almost laminar flow patterns, with corresponding increase in P_g/V_L to obtain the same turbulence degree in the system. Alike, the presence of cells in the medium reduced also the turbulence compared to the system provided exclusively with water.

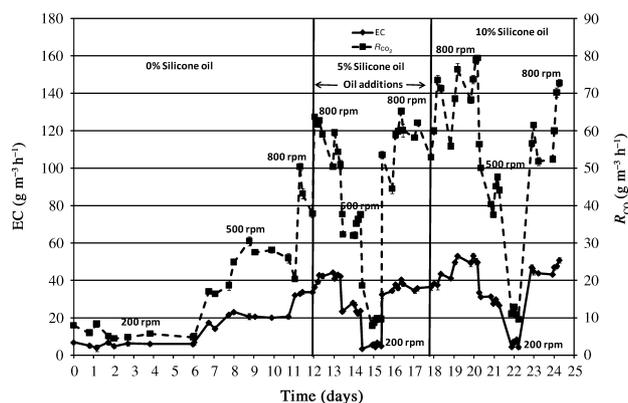


Figure 4. Time course of methane elimination capacity and CO_2 production rate in the bioreactor operated at different stirring rates and silicone oil fractions.

It is considered that $k_L a_{\text{CH}_4}$ behavior in the reactor was similar to $k_L a_{\text{O}_2}$ during increases in stirring rate and vector fraction as expected from Equation 11.

Biodegradation methane experiments

The biodegradation of methane was carried out at constant biomass concentration of approximately 3 g L^{-1} and an average methane load of $65 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$.

A steady state was achieved for each operational condition tested as shown by the results of EC and R_{CO_2} (Fig. 4). The process was initiated in the absence of silicone oil at 200 rpm. During this period, the process was characterized by extremely low EC and R_{CO_2} ($6 \pm 1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $7 \pm 2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, correspondingly). At day 6, the stirring rate was increased to 500 rpm, which resulted in higher EC and R_{CO_2} ($20 \pm 3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $24 \pm 6 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectively). At day 10, the stirring rate was increased to 800 rpm with a further increase in EC and R_{CO_2} ($33 \pm 1 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $39 \pm 2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectively). At day 12, the fraction of silicone oil was increased to 5% with a subsequent enhancement in process performance (EC and R_{CO_2} of $41 \pm 3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, and $54 \pm 4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, correspondingly). Further decreases in the stirring rate at 5% of silicone oil resulted in reduced methane elimination capacities (Fig. 4). At day 16, the stirring rate was increased back to 800 rpm before operation at 10% of silicone oil started. This addition of silicone oil further increased EC to $48 \pm 4 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and R_{CO_2} up to $75 \pm 5 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Likewise, decreasing stirring rates resulted in lower process elimination capacities ($30 \pm 3 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ at 500 rpm and $6 \pm 2 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ at 200 rpm). Hence, both EC and R_{CO_2} were enhanced at increasing the stirring rate and oil fraction. The stirring rate was the dominant variable determining methane biodegradation performance but the effect of oil fraction was only significant above 200 rpm.

Nevertheless, unlike the abiotic $k_L a_{\text{O}_2}$ determination, neither EC nor R_{CO_2} decreased when the stirring rate was increased from 500 to 800 rpm (at 5% and 10% of silicone oil). This could be explained by the adhesion of active cells to the gas–oil and gas–cells interphases by the hydrophobic nature of the cell wall,²² which increases methane bioavailability as a result of the higher methane concentrations present in the organic phase (tentatively, 10 times higher),⁵ and possible direct uptake of methane and oxygen from the gas bubbles and oil drops. In this context, the specific methane elimination capacities increased at 800 rpm by 48.5% with $\varphi = 5\%$ and by 47% with $\varphi = 10\%$. A mass balance for oxygen at 800 rpm with silicone oil addition (5% and 10%) indicated that oxygen transferred with maximal gradient (calculated with experimental abiotic $k_L a_{\text{O}_2}$), is not sufficient to satisfy the oxygen requirements to obtain the corresponding ECs suggesting that alternative pathways may be established including direct cell contact with the oil. Therefore, it is not possible to obtain a direct correlation between $k_L a$ and EC in TPPBs because the interfacial effects in system (one continuous and three dispersed phases),²² and the physicochemical properties of the organic vector play an important role in the process. A similar conclusion has been proposed by other authors.^{7,8,21–23} Finally, is important to consider that a reduction in $k_L a$ does not implies a reduction in EC because the increases in $C_{\text{O}_2}^*$ and $C_{\text{CH}_4}^*$ consequently increase the transfer gradient.

Maximum specific EC enhancement of 700% was obtained with an oil fraction of 10% by increasing the stirring rate from 200 to 800 rpm (Table 2). Likewise, the maximum specific EC improvement by the addition of silicone oil was 50% at 500 and 800 rpm ($\varphi = 10\%$). The corresponding improvements in specific R_{CO_2} were around 580% (with an oil fraction of 10%) at stirring rate increasing from 200 to 800 rpm and 92% when increasing the oil fraction from 0 to 10% ($N = 500 \text{ rpm}$, Table 2). In a previous study using the same bacterial consortium,⁵ the increase in specific elimination capacity was 70% with 10% (v/v) silicone oil addition ($N = 800 \text{ rpm}$) at an average methane load of $187 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (%RE = 57%), while in this work, the corresponding increase was 50% but at an average methane load of $65 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (%RE = 70%). The specific methane elimination capacities obtained in both studies were superior to most of values reported in literature which are in the order of 10^{-6} to $10^{-2} \text{ g}^{-1} \text{ biomass h}^{-1}$.⁵

CONCLUSIONS

The abiotic $k_L a_{\text{O}_2}$ increased with the addition of silicone oil or inactive cells compared to systems supplied exclusively with water. Nevertheless, an increase in the stirring rates from 500 to 800 rpm reduced the abiotic volumetric oxygen transfer coefficient with silicone oil or inactive cells addition in the reactor. More research is needed, however, to understand the mechanism underlying this

Table 2. % removal efficiencies (RE), specific CH_4 elimination capacities (EC) and specific CO_2 production rates during the experiment

N (rpm)	%RE			$\text{EC}_{\text{specific}} \times 10^3 \text{ (g g}^{-1} \text{ biomass h}^{-1}\text{)}$			$R_{\text{CO}_2, \text{specific}} \times 10^3 \text{ (g g}^{-1} \text{ biomass h}^{-1}\text{)}$		
	0%	5%	10%	0%	5%	10%	0%	5%	10%
200	8 ± 2	8 ± 2	9 ± 2	1.9 ± 0.4	1.8 ± 0.1	2.2 ± 0.2	1.9 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.7 ± 0.0
500	28 ± 2	38 ± 3	44 ± 1	6.6 ± 0.3	7.2 ± 0.2	9.8 ± 0.2	7.9 ± 0.2	10.9 ± 0.1	15.3 ± 0.1
800	59 ± 3	65 ± 2	70 ± 2	11.5 ± 0.2	14.1 ± 0.3	16.9 ± 0.5	15.4 ± 0.2	18.7 ± 0.2	24.7 ± 0.3

particular experimental finding. Certainly, the addition of the oil fraction or the presence of inactive cells impacted the specific power consumption in the system, with a significant increase in liquid viscosity. The increase in both stirring rate and oil fraction did enhance CH₄ elimination capacity and CO₂ production rate in the system. In this regard, the increase in specific EC and specific R_{CO₂} at increasing stirring rates from 500 to 800 rpm contrary to what is observed in $k_L a_{O_2}$ suggest an enhanced bioavailability of oxygen and methane for metanotrophic cells, due to the facilitated uptake of these compounds directly from the oil drops or air bubbles.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors appreciate the fruitful discussions with Guillermo Quijano and the financial support received from the Mexican Council of Science and Technology (José Rocha-Rios grant #295496). Likewise, the Spanish Ministry of Education and Science (RYC-2007-01667 and CONSOLIDER-CSD 2007-00055) is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- 1 U.S. Environmental Protection Agency, *Global Mitigation of non-CO₂ Greenhouse Gases*. [Online] USEPA (2006). Available: <http://www.epa.gov/climatechange/economics/downloads/GlobalMitigationFullReport.pdf>.
- 2 Nikiema J, Brzezinski R and Heitz M, Elimination of methane generated from landfills by biofiltration: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol* **6**:261–284 (2007).
- 3 Quijano G, Revah S, Gutierrez-Rojas M, Flores-Cotera L and Thalasso F, Oxygen transfer in three-phase airlift and stirred tank reactors using silicone oil as transfer vector. *Process Biochem* **44**:619–624 (2009).
- 4 Daugulis A, Two-phase partitioning bioreactors: a new technology platform for destroying xenobiotics. *Trends Biotechnol* **19**:457–462 (2001).
- 5 Rocha-Rios J, Bordel S, Hernández S and Revah S, Methane degradation in two-phase partition bioreactors. *Chem Eng J* **152**:289–292 (2009).
- 6 Galaction A, Cascaval D, Oniscu C and Turnea M, Prediction of oxygen transfer coefficients in stirred bioreactors for bacteria, yeasts and fungus broths. *Biochem Eng J* **20**:85–94 (2004).
- 7 Dumont E and Delmas H, Mass transfer enhancement of gas absorption in oil-in-water systems: a review. *Chem Eng Process* **42**:419–438 (2003).
- 8 Clarke K and Correia L, Oxygen transfer in hydrocarbon–aqueous dispersions and its applicability to alkane bioprocesses: a review. *Biochem Eng J* **39**:405–429 (2008).
- 9 Galaction A, Cascaval D, Oniscu C and Turnea M, Enhancement of oxygen mass transfer in stirred bioreactors using oxygen-vectors. 1. Simulated fermentation broths. *Bioprocess Biosyst Eng* **26**:231–238 (2004).
- 10 Moo-Young M, Cooney C and Humphrey A, *Comprehensive Biotechnology*, vol. 2. Pergamon, Oxford (1985).
- 11 Ho C, Ju L and Baddour R, Enhancing penicillin fermentation by increased oxygen solubility through the addition of *n*-hexadecane. *Biotechnol Bioeng* **36**:1110–1118 (1990).
- 12 Moo-Young M and Blanch H, Design of biochemical reactors. Mass transfer criteria for simple and complex systems. *Adv Biochem Eng* **19**:1–69 (1981).
- 13 Nielsen J and Villadsen J, *Bioreaction Engineering Principles*. Plenum Press, New York, pp. 295–342 (1994).
- 14 Gomes F, Aguedo M, Teixeira J and Belo I, Oxygen mass transfer in a biphasic medium: Influence on the biotransformation of methyl ricinoleate into γ -decalactone by the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Biochem Eng J* **35**:380–386 (2007).
- 15 Amaral P, Freire M, Rocha-Leao M, Marrucho I, Coutinho J and Coelho M, Optimization of oxygen mass transfer in a multiphase bioreactor with perfluorodecalin as a second liquid phase. *Biotechnol Bioeng* **99**:588–598 (2008).
- 16 McCabe W, Smith J and Harriot P, *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química*. McGraw/Hill Interamericana, Madrid, pp. 242–293 (1991).
- 17 Hughmark G, Power requirements and interfacial area in gas–liquid turbine agitated systems. *Ind Eng Chem Proc Des Dev* **10**:638–641 (1980).
- 18 Cesário M, Beverloo W, Tramper J and Beeftink H, Enhancement of gas–liquid mass transfer of apolar pollutants in the biological waste gas treatment by a dispersed organic solvent. *Enzyme Microbial Technol* **21**:578–588 (1997).
- 19 Yu Y, Ramsay J and Ramsay B, On-line estimation of dissolved methane concentration during methanotrophic fermentations. *Biotechnol Bioeng* **95**:789–793 (2006).
- 20 Galaction A, Cascaval D, Turnea M and Folescu E, Enhancement of oxygen mass transfer in stirred bioreactors using oxygen-vectors. 2. *Propionibacterium shermanii* broths. *Bioprocess Biosyst Eng* **27**:263–271 (2005).
- 21 Nielsen D, Daugulis A and McLellan P, A restructured framework for modelling oxygen transfer in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnol Bioeng* **91**:773–777 (2005).
- 22 Nielsen D, Daugulis A and McLellan P, A novel method of simulating oxygen mass transfer in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnol Bioeng* **83**:735–742 (2003).
- 23 McLeod C and Daugulis A, Interfacial effects in a two-phase partitioning bioreactor: degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by an hydrophobic *Mycobacterium*. *Process Biochem* **40**:1799–1805 (2005).

Methane biodegradation in a two-phase partition internal loop airlift reactor with gas recirculation

José Rocha-Rios,^{a,b} Guillermo Quijano,^{a,c} Frédéric Thalasso,^e Sergio Revah^{d*} and Raul Muñoz^a



Abstract

BACKGROUND: The potential of organic liquid solvents and solid polymers to enhance CH₄ mass transfer was studied in a two-phase partition internal loop airlift reactor operated with gas recirculation under biotic and abiotic conditions. A preliminary screening of the most common liquid solvents (silicone oil 20 cSt, silicone oil 200 cSt and 2,2,4,4,6,8,8-heptametilnonane) and solid polymers (Kraton® G6157, Desmopan® DP9370A and Elvax® 880) resulted in the selection of silicone oil 200 cSt (S200) and Desmopan DP9370A (D9370) for further investigation based on their high affinity for CH₄, biocompatibility and nonbiodegradability.

RESULTS: Under abiotic conditions, the increase in gas recirculation from 0 to 1 vvm in the absence of a transfer vector increased the overall mass transfer coefficient for oxygen ($k_L a$) by 195%. The presence of S200 and D9370 at 10% (v/v) under operation at 1 vvm of gas recirculation rate mediated an increase in $k_L a$ of 100% and 136%, respectively. Likewise, the increase in gas recirculation from 0 to 1 vvm in the absence of a transfer vector and in the presence of S200 during the continuous biodegradation of methane at 3% (v/v) and 7.3 min empty bed residence time resulted in increases in CH₄ removal and CO₂ production rates of 47% and 36%, respectively. Nevertheless, no significant enhancement in CH₄ removal due to the presence of 10% of Desmopan or silicone oil was recorded under operation at 1 vvm.

CONCLUSIONS: These results suggest that microbial activity rather than mass transport could be the limiting step in biological CH₄ abatement in this system, contrary to that observed in previous studies with stirred tank reactors, where the organic phase addition increased methane biodegradation.

© 2010 Society of Chemical Industry

Supporting information may be found in the online version of this article.

Keywords: CH₄; gas treatment; mass transfer limitation; silicone oil; solid polymers; TPPBs

INTRODUCTION

'We underline that climate change is one of the greatest challenges of our time'.¹

Global warming is caused by the accumulation of greenhouse gases in the atmosphere, which partially blocks the energy liberation by radiation from our planet. Based on their global contribution to the greenhouse effect, the most important greenhouse gases are CO₂ (70%) and CH₄ (23%). CH₄ has an average global warming potential 23 times higher than that of CO₂ and its atmospheric concentration is increasing twice as fast as that of CO₂. Therefore, the reduction of CH₄ emissions requires special attention. Biological oxidation is a cost-effective alternative to control off-gas emissions of CH₄ when its concentration is below the flammability point in air (5% v/v), which is the case of CH₄ emissions from old landfills.^{2,3}

However, the effectiveness of biological processes for the off-gas treatment of hydrophobic compounds such as methane is relatively poor due to mass transport limitations to the aqueous phase, where all biological reactions take place.⁴ In this context, the addition of an organic phase (solid or liquid), with a higher affinity

for the target compound (i.e. CH₄) than water, can increase the biodegradation of poorly soluble compounds.⁵ Biological systems

* Correspondence to: Sergio Revah, Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, c/o IPH, UAM-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México D.F., México.
E-mail: srevah@xanum.uam.mx

a Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, Universidad de Valladolid. Paseo del Prado de la Magdalena, s/n, 47011 Valladolid, España

b Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica (IPH), Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México D.F., México

c Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes (ENSCR), Chemical and Process Engineering Group. Avenue du Général Leclerc CS 50837 - 35708, Rennes Cedex 7, France

d Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, c/o IPH, UAM-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México D.F., México

e Departamento de Biotecnología, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav), Apdo. Postal 14-740, México D.F., México

supplemented with a transfer-enhancing organic phase are thus called two-phase partition bioreactors (TPPBs) and the organic phase is known as *transfer vector*. In TPPBs, the presence of a transfer vector can increase the gas/water interfacial contact area (a) by disruption of the gas bubbles.^{6,7} It can also mediate direct pollutant uptake from the organic phase and increase the mass transfer driving force as a result of the higher overall methane solubility in the reactor. For instance, higher methane elimination capacities (EC) were recorded by Rocha-Rios *et al.*⁸ in a stirred tank reactor (STR) supplemented with 10% silicone oil compared with those determined in a control system deprived of vector. These authors hypothesized that bacteria could uptake methane and oxygen directly from the transfer vector based on the fact that the maximum oxygen transfer rates recorded under abiotic conditions were not sufficient to explain the methane elimination capacities measured.

Silicone oil, probably the most common transfer vector employed in TPPBs for environmental application, has certain drawbacks such as its high cost and the technical difficulties involved in its recovery from the culture medium.⁹ Alternative organic phases such as solid polymers have been proposed for the degradation of poorly soluble compounds based on their lower costs (up to 100 times cheaper) and ease of separation.¹⁰ Finally, apart from the selection of cost-efficient transfer vectors, one of the main drawbacks that has limited the widespread implementation of TPPBs is the high operational cost associated with the implementation of this technology in stirred tank bioreactors.

This study was devised to investigate the potential of solid and liquid transfer vectors to enhance CH_4 mass transfer in an innovative internal loop airlift reactor (ALR) operated with gas recirculation in order to decouple gas retention time and fluid turbulence within the reactor. A preliminary selection among the most common liquid (silicone oil 20 cSt, silicone oil 200 cSt and 2,2,4,4,6,6,8,8-heptamethylnonane) and solid (Kraton® G6157, Desmopan® DP9370A and Elvax® 880) vectors was conducted based on their affinity for CH_4 , biodegradability and toxicity. Then, the influence of the gas recirculation rate and the presence of a transfer vector (silicone oil 200 cSt or Desmopan) on the volumetric mass transfer coefficient ($k_L a$) was assessed. Finally, the performance of both transfer vectors during continuous CH_4 biodegradation was evaluated.

MATERIALS AND METHODS

Microorganisms and culture conditions

The methanotrophic consortium used in this experiment was enriched from an activated sludge sample at UAM-Iztapalapa wastewater treatment plant (México City). Culture maintenance and inoculum preparation were carried out as previously described.¹¹ The mineral salt medium (MSM) used throughout the entire experimentation was composed of ($g L^{-1}$): $NaNO_3$, 2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 10^{-3} ; Na_2HPO_4 , 2; $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 0.9; $CoSO_4 \cdot 5H_2O$, 5×10^{-6} ; H_3BO_3 , 10^{-5} ; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$, 10^{-5} ; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 7×10^{-5} ; MoO_3 , 10^{-5} ; KCl, 0.04; $CaCl_2$, 0.015. The final pH of medium was 7.

Chemicals

Methane gas at 99.99% and at 4% in air was purchased from Abello Linde (Spain). The tested liquid vectors (silicone oils with kinematic viscosities of 20 (S20) and 200 (S200) cSt, and 2,2,4,4,6,6,8,8-heptamethylnonane (HMN)) were obtained from Sigma-Aldrich

(Spain). The solid polymers Kraton® G6157 (K6157), Desmopan® DP9370A (D9370) and Elvax® 880 (E880), with average particle diameters of 0.003 m, were kindly supplied by Kraton Polymers (Spain), Bayer (Spain) and Dupont (Spain), respectively.

Non-aqueous phase (NAP) screening

Methane partition coefficients

Serological bottles of 125 mL containing 60 mL of the tested organic phase were closed with butyl septa, sealed with aluminum caps and supplied with 4 and 8 mL of CH_4 . The bottles were maintained at 30 °C and 250 rpm (orbital agitation) and CH_4 headspace concentration was periodically monitored until vector saturation. Partition coefficients (defined as $K = C_g/C_v$, where C_g and C_v represent the CH_4 concentrations in the headspace and vector phase, respectively) were estimated through a mass balance calculation based on the experimental determination of C_g . The tests were carried out in duplicate.

Biodegradability and toxicity tests

The biodegradability of the transfer vectors tested was assessed in serological glass flasks of 125 mL containing 20 mL of MSM, 2 mL of a vector and 1 mL of fresh bacterial inoculum. The bottles were closed with butyl septa, sealed with aluminum caps and incubated in a rotary shaker at 250 rpm and 30 °C for 30 days (in order to allow for microbial acclimation).¹² Control tests were prepared and incubated under similar experimental conditions without a transfer vector to account for bacterial endogenous metabolism. CO_2 and O_2 headspace concentrations were periodically monitored by GC-TCD. A transfer vector was considered biodegradable if the CO_2 concentration in the test bottles was significantly higher ($P < 0.05$) than that in the control bottles.⁹ The tests were carried out in duplicate.

Toxicity tests were prepared as above described but supplemented with glucose, yeast extract and peptone (at 1, 0.02 and 0.02 $g L^{-1}$, respectively) as easily biodegradable carbon and energy sources. Tests in the absence of a transfer vector but provided with the above mentioned enriched MSM were also carried to serve as control. Gas samples from the flasks' headspace were analyzed in duplicate by GC-TCD every 12 h for 3 days. The organic phase was considered toxic if the CO_2 concentration in the test bottles was significantly lower ($P < 0.05$) than that in the control bottles. The tests were carried out in duplicate.

Based on their biocompatibility and higher affinity for methane, two polymers (one liquid and other solid) were selected for further testing in the experiment conducted in the ALR.

Batch methane biodegradation tests

The main objective of this experiment was the estimation of the stoichiometric parameters (yields) characteristics of the methanotrophic consortium herein used in the absence of mass transfer limiting conditions. Sterile glass bottles of 1250 mL were filled with 295 mL of sterile MSM and 5 mL of inoculum, resulting in an initial biomass concentration of 4.8 $mg L^{-1}$. Then, 65 mL of air was extracted from the flask's headspace and replaced by the same volume of CH_4 to obtain an initial concentration of 50 $g m^{-3}$ (7.2% v/v). The systems were incubated at 200 rpm (magnetic agitation) and 30 °C for 170 h. Control tests in the absence of bacterial inoculum and supplied with 1 mL of commercial sulfuric acid to avoid any microbial growth were also prepared and incubated as above described. The time course of CH_4 , O_2 and CO_2 concentrations was periodically monitored by

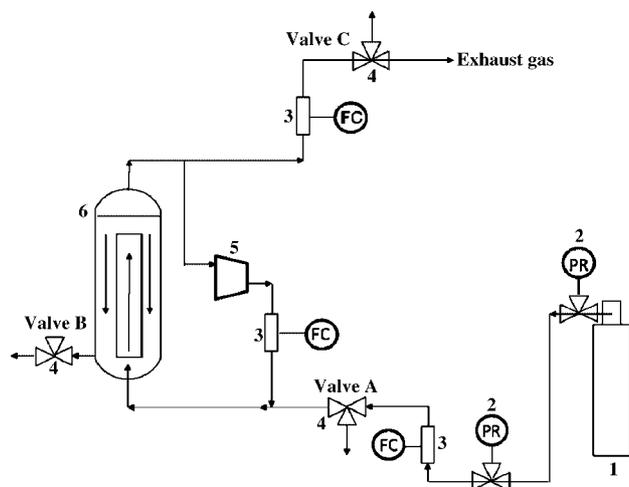


Figure 1. Schematic illustration of the experimental set-up: 1, gas cylinder containing CH₄ at 3%; 2, pressure regulators (PR); 3, flow controllers (FC); 4, gas (valves A and C) and liquid (valve B) sampling ports; 5, compressor; 6, airlift reactor.

GC-TCD. Additionally, liquid samples of 1 mL were periodically drawn to monitor the biomass concentration via optical density measurements. All tests were performed in duplicate.

Methane biodegradation in a continuous ALR

The internal loop ALR consisted of a jacketed glass column with an internal diameter of 0.09 m and a height of 0.42 m (working volume of 2 L). The concentric tube (riser) has an inner diameter of 0.055 m, a height of 0.295 m and was located 0.035 m from the bottom of the reactor. A porous metallic diffuser (10 μm average pore diameter) located at the riser base was used for gas distribution. A membrane compressor (Cole-Parmer, USA) was connected to the outlet of the bioreactor to recirculate part of the gas stream through the system in order to decouple the empty bed residence time (EBRT) from the overall turbulence in the reactor (Fig. 1). All flow rates were controlled using calibrated rotameters (Aalborg, USA). The experimental system was always operated at 30 °C.

Abiotic $k_L a_{O_2}$ determination

The overall oxygen mass transfer coefficient ($k_L a_{O_2}$) in the presence of 10% of the selected vectors was obtained experimentally from oxygen transfer rate (OTR) measurements at several gas recirculation rates (0, 0.5 and 1 vvm) using the sodium sulfite method.⁹ Determinations of $k_L a$ at the three mentioned gas recirculation rates in the absence of a transfer vector were also performed to serve as controls. Each experiment was carried out in duplicate.

Continuous methane biodegradation

The ability of the selected vectors to enhance methane biodegradation in a continuous ALR operated with gas recirculation was evaluated using methane at 20 g m⁻³ (4% v/v) and at 7.3 min EBRT. This resulted in average methane loading rates of 171 g m⁻³ h⁻¹. The system was operated at a dilution rate of 0.05 day⁻¹ by daily exchange of 100 mL of culture medium by fresh MSM. The ALR was initially operated in the absence of a transfer vector and without recirculation in order to reach a steady biomass concentration of approximately 3 g L⁻¹. Once the target biomass concentration was achieved different conditions of gas flow recirculation and

Table 1. Gas recirculation flow rates (F_R) and transfer vector fractions (θ) tested during the continuous methane biodegradation experiment in the ALR

Time interval (days)	Operating conditions
0–9	$F_R = 0$ vvm; $\theta = 0\%$
9–21.5	$F_R = 1$ vvm; $\theta = 0\%$
21.5–27	$F_R = 1$ vvm; $\theta_{D9370} = 10\%$
27–29	$F_R = 1$ vvm; $\theta = 0\%$
29–35	$F_R = 0$ vvm; $\theta = 0\%$
35–38	$F_R = 1$ vvm; $\theta = 0\%$
38–42	$F_R = 1$ vvm; $\theta_{S200} = 10\%$
42–45	$F_R = 2$ vvm; $\theta_{S200} = 10\%$
45–53	$F_R = 0$ vvm; $\theta_{S200} = 10\%$

vector fraction (Table 1) were tested to determine their effect on methane biodegradation.

Gas samples of 250 μL were periodically taken from valves A and C (Fig. 1) to monitor CH₄ and CO₂ concentrations while biomass concentration was daily determined via culture absorbance measurements (OD_{600}). Additionally, liquid samples of 15 mL were weekly drawn from the system to measure the total organic carbon (TOC). The pH of the cultivation medium was maintained at 7 by daily addition of HCl. Distilled water was daily added to minimize the water losses from evaporation.

Methane biodegradation performance variables

The performance of the ALR was described by the volumetric methane load (L), the volumetric CH₄ elimination capacity (EC), the volumetric CO₂ production rate (RCO_2) and the removal efficiency (%RE) as defined by Equations (1)–(4):

$$L = C_{CH_4 in} \cdot Q \cdot V_L^{-1} \quad (1)$$

$$EC = (C_{CH_4 in} - C_{CH_4 out}) \cdot Q \cdot Q_L^{-1} \quad (2)$$

$$RCO_2 = (C_{CO_2 in} - C_{CO_2 out}) \cdot Q \cdot V_L^{-1} \quad (3)$$

$$\%RE = 100 \cdot \left\{ \frac{C_{CH_4 in} - C_{CH_4 out}}{C_{CH_4 in}} \right\} \quad (4)$$

where C_{CH_4in} , C_{CO_2in} , C_{CH_4out} and C_{CO_2out} are the overall inlet (valve A) and outlet (valve C) gaseous CH_4 and CO_2 concentrations in the ALR ($g\ m^{-3}$), respectively. Q and V_L are the volumetric flow of gas ($m^3\ h^{-1}$) and the liquid volume in the system (m^3), respectively.

Analytical procedures

Gaseous CH_4 , CO_2 and O_2 concentrations were measured using a GC-TCD (Agilent Technologies 6890N, Palo Alto, CA, USA) equipped with a Porapak N, 80/100 (3 m \times 1.8) column (Tecknokroma, USA) and a Molecular sieve 13 \times 45/60 (0.9 m \times 1/8) (Tecknokroma). Helium was used as a carrier gas at a flow rate of 5.4 mL min^{-1} . The temperature of the detector and injector were maintained at 200 and 150 $^\circ C$, respectively. The oven temperature was initially maintained at 40 $^\circ C$ for 3 min, increased at 40 $^\circ C\ min^{-1}$ to 100 $^\circ C$ and maintained at 100 $^\circ C$ for 1.5 min. External standards enabled CH_4 , CO_2 and O_2 quantification.

Biomass concentration in the reactor was measured via culture absorbance determinations using a Hitachi U200 UV/visible spectrophotometer (Hitachi Ltd, Tokyo, Japan). The pH value in the ALR was periodically recorded in a pH meter (Eutech pH510, Singapore). TOC was measured with a TOC-VCSH (Shimadzu, Japan) according to the manufacturer.

Statistical treatment

All results are given as the mean value with their corresponding standard error. When necessary, results were analyzed using one-way ANOVA with significance at $P \leq 0.05$. The excel statistical package (Microsoft, USA) was used for data treatment.

RESULTS AND DISCUSSION

NAP screening

The CH_4 partition coefficients of the liquid transfer vectors tested ($1.8 < K < 2.1$) were significantly lower than those of the solid polymers ($4 < K < 9.7$) (Table 2). Overall, methane was approximately 10 times more soluble in the organic phases than in water, where the dimensionless partition coefficient at 30 $^\circ C$ is approximately 33.5 ± 2.3 .¹¹ These values were similar to those reported by Quijano *et al.*⁹ in the same vectors for oxygen (a compound that possesses an identical partition in water), but much higher than the K recorded for hexane or alpha-pinene (e.g 0.006 and 0.00005, respectively, in S200). These relatively high partition coefficients anticipate a low enhancement of CH_4 transfer to the aqueous phase due to an increased concentration gradient, since only enhancement factors of 5 were recorded for hexane and alpha-pinene with S200 despite exhibiting coefficients 3 to 5 orders of magnitude lower. Indeed, the enhancement in CH_4 biodegradation observed by Rocha-Rios *et al.*¹¹ was attributed to direct uptake of CH_4 from silicone oil (where the higher CH_4 concentration in the NAP supported higher biomass growth rate and therefore higher CH_4 consumption) rather than to enhanced delivery to the aqueous phase. In addition, it must be highlighted that solid polymers required more time to achieve equilibrium than liquid vectors, which suggests that the lower diffusivities of CH_4 in the solid phases might result in lower mass transfer coefficients. This slower performance of solid vectors compared with liquid organic solvents has recently been pointed out by Hernandez *et al.*¹³ using hexane as model transfer compound.

None of the transfer vectors tested was toxic nor biodegradable by the methanotrophic consortium isolated, as shown by the comparison of CO_2 concentrations with the control tests. Although

Table 2. Partition coefficients (K), toxicity and biodegradability of the tested transfer vectors

Transfer vector:	$K = C_g/C_v$	Toxicity	Biodegradability
S200	2.0 ± 0.1	–	–
S20	1.8 ± 0.1	–	–
HMN	2.1 ± 0.1	–	–
D9370	5.4 ± 0.2	–	–
E880	9.7 ± 1.5	–	–
K6157	4.0 ± 0.7	–	–

+ and – indicate the presence and absence of the parameter evaluated, respectively.

these results could be anticipated, since the polymers tested were shown to possess remarkable biocompatibility and resistance in the presence of hexane and alpha-pinene degrading *Pseudomonas* strains, these tests are always required when using a new microbial consortium.^{13,14} In our particular case, a tentative characterization of the bacterial population present in the consortium revealed that *Methylobacterium organophilum* was the dominant genera. Finally, it must be highlighted that basic selection criteria such as low vapor pressure and immiscibility were satisfied by the tested polymers as shown in a recent study.⁹ The solid polymers herein tested were, in general, two orders of magnitude cheaper than the liquid vectors, with prices ranging from 3 to 7 $\text{€}\ L^{-1}$.

Although all liquid vectors presented similar biocompatibilities and affinities for CH_4 , S200 was chosen as a model liquid vector in order to compare the ALR performance with previous studies using S200 in other bioreactor configurations.¹¹ D9370 was selected as a model solid vector based on the pernicious electrostatic adhesion of K6157 to the glass wall (which affected its dispersion in the ALR) and on the higher K value of E880.

Batch methane biodegradation tests

CH_4 biodegradation was characterized by an initial lag phase of 5 h followed by a period of linear biomass growth, CH_4 and O_2 consumption, and CO_2 production for approximately 74 h (Fig. 2).

The decrease in CH_4 headspace concentration resulted in a decrease of microbial activity as shown by the significant slowdown in O_2 and CH_4 consumption rates. This lower CH_4 removal at decreasing headspace methane concentration, concomitant with a decrease in the concentration gradient available for CH_4 transport, are typical of mass-transport limited processes involving gaseous substrates with high Henry law constants. Average specific methane biodegradation rates of $0.0676\ gCH_4\ g^{-1}\ biomass\ h^{-1}$ at headspace CH_4 concentrations of 10–20 $g\ m^{-3}$ were recorded in our experimental system, which are within the range of the specific rates reported in the literature (10^{-2} – $10^{-6}\ gCH_4\ g^{-1}\ biomass\ h^{-1}$).³ These low specific biodegradation rates compared to typical specific O_2 consumption rates (e.g 0.14 $gO_2\ g^{-1}\ biomass\ h^{-1}$ for *Pseudomonas aeruginosa* reported by Beyenal *et al.*¹⁵) suggest that CH_4 biodegradation might be sometimes limited by microbial activity. Biomass production and O_2 consumption yields of $0.49 \pm 0.02\ g\ biomass\ g^{-1}CH_4$ and $3.35 \pm 0.01\ gO_2\ g^{-1}CH_4$, respectively were estimated for this particular methanotrophic consortium. Control tests confirmed the absence of abiotic CH_4 removal mechanisms and the air tightness of the experimental tests.

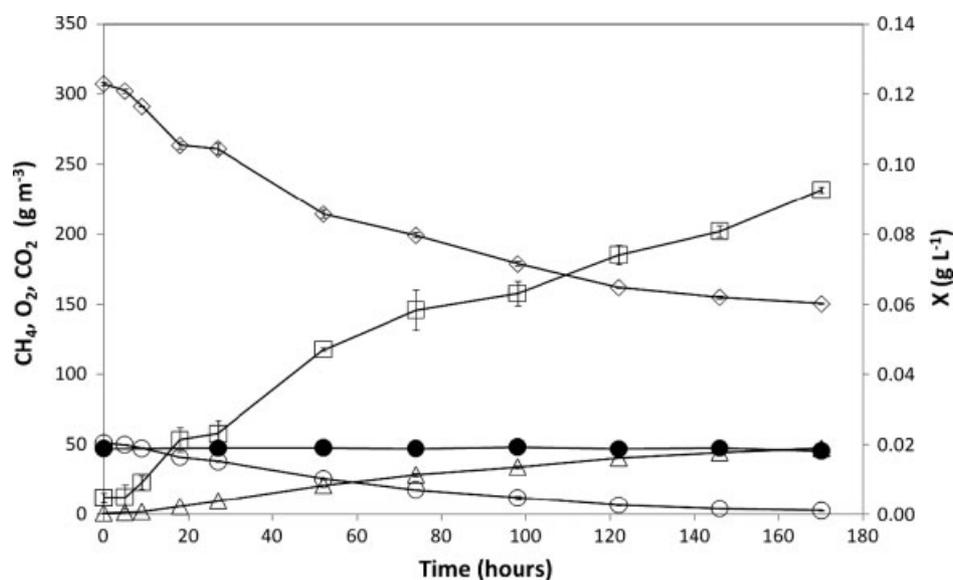


Figure 2. Time course of CH_4 (○), O_2 (◇), CO_2 (△) and X (□) concentrations during the batch biodegradation experiment. The closed circle (●) represents the methane concentration in the control bottles without cells.

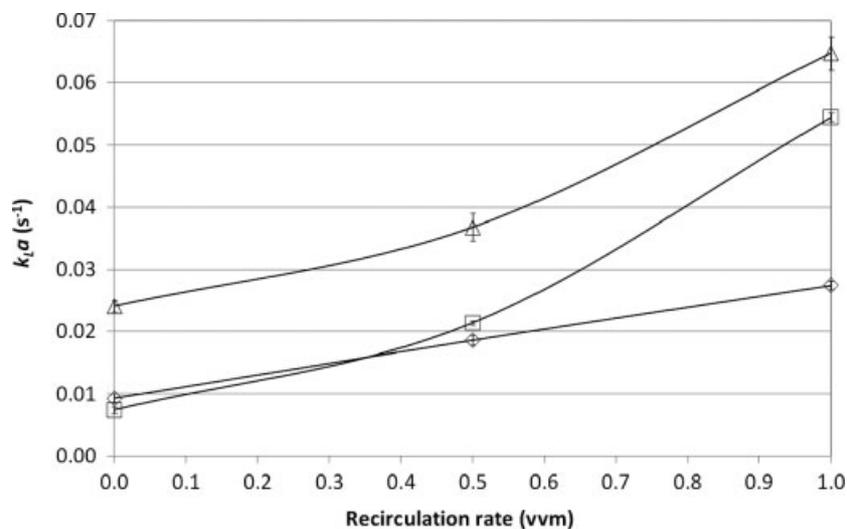


Figure 3. Influence of the gas recirculation rates on the abiotic $k_L a$ in the airlift reactor in the presence of 10% of S200 (□), 10% of D9370 (△) and in the absence of a vector (◇).

Abiotic mass transfer experiments

The introduction of gas recirculation into the operation of the ALR brought about an increase in $k_L a_{\text{O}_2}$ from 0.0093 to 0.0186 s^{-1} at 0.5 vvm of gas recirculation and to 0.0274 s^{-1} at 1 vvm (Fig. 3). A rigorous $k_L a_{\text{O}_2}$ determination should consider oxygen dilution due to air recirculation (the decreasing oxygen content of the recirculating air by the reaction with sodium sulfite in the presence of Co^{2+})¹⁶. Nevertheless, in our particular study this effect was negligible and did not influence significantly the $k_L a_{\text{O}_2}$ estimations from OTR. This was confirmed by the linearity of fit ($R^2 > 0.95$) in experiments used to estimate OTR.

These values were in agreement with those reported by Quijano *et al.*⁹, who recorded $k_L a_{\text{O}_2}$ values for oxygen of 0.035 s^{-1} in a similar ALR operated without gas recirculation at 2.5 min EBRT. The use of internal gas recirculation in the ALR allows decoupling the EBRT of the VOC-contaminated stream from the liquid recirculation rates, since in internal loop ALRs the liquid

circulation rate (and therefore turbulence) is directly linked to the superficial gas flow rate.^{17,18} This disengagement is crucial in ALRs treating very hydrophobic VOCs, since the EBRTs often needed to guarantee a reasonable time for pollutant diffusion into the aqueous phase would result in low liquid recirculation rates and therefore poor $k_L a$ values. In our particular case, the use of gas recirculation at 1 vvm resulted in an increase in $k_L a_{\text{O}_2}$ of 195%. For instance, Littlejohns and Daugulis¹⁹ reported poor BTEX removal efficiencies ($RE \approx 72\%$) in an ALR operated at 3.7 min EBRT and 20 $\text{g m}^{-3} \text{h}^{-1}$ without gas recirculation, loading rates of BTEX that are usually totally removed in conventional STR operated at even lower EBRTs.

The presence of 10% of S200 in the absence of gas recirculation and at 0.5 vvm did not mediate a significant increase in $k_L a_{\text{O}_2}$ (Fig. 3). Hence, the low liquid circulation rate at 0 and 0.5 vvm together with the low density (0.98 kg L^{-1}) and high viscosity (200 cSt) of S200 did not result in fine dispersion of this transfer vector,

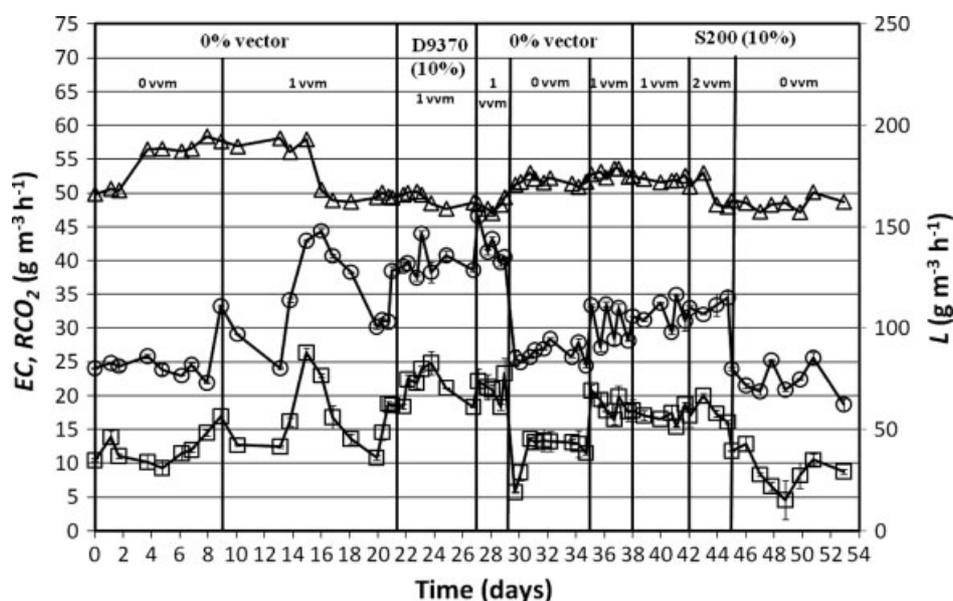


Figure 4. Time course of volumetric CH_4 load ($-\Delta-$), CH_4 elimination capacity ($-\square-$) and CO_2 production rate ($-\circ-$) during continuous methane biodegradation in an airlift bioreactor operated under several gas recirculation rates.

which was mainly present in the upper part of the ALR and in the form of large recirculating droplets. Mass transfer enhancements of 100% compared with the control tests were however recorded at 1 vvm of gas recirculation due to the higher turbulence present in the system under these particular conditions. On the other hand, the addition of D9370 always resulted in the highest $k_L a_{\text{O}_2}$, which increased by up to 159% at 0 vvm, up to 98% at 0.5 vvm and up to 136% at 1 vvm compared with their corresponding controls (Fig. 3). The strong impact of D9370 on $k_L a_{\text{O}_2}$, even in the absence of gas recirculation, was probably caused by the accumulation of a large part of the solid polymer in the upper part of the ALR, which contributed to breaking of the rising gas bubbles and promoting their recirculation through the downcomer. Similar findings were observed by Littlejohns and Daugulis^{19,20} and Quijano *et al.*,⁹ who reported an efficient air bubble disruption effect of solid polymers in ARLs.

Methane biodegradation in a continuous ALR

The continuous biodegradation of CH_4 in an internal loop ALR operated at an average inlet loading rate of $171 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (EBRT 7.3 min), in the absence of a transfer vector and at 0.05 day^{-1} of dilution rate was characterized by an extremely long start-up period (60 days to achieve steady concentrations of 3 g L^{-1}). Indeed, the low biomass yield ($0.49 \pm 0.02 \text{ g biomass g}^{-1} \text{ CH}_4$) and the low maximum specific growth rate for this methanotrophic consortium together with the methane transfer limitation prevailing in the bioreactor during process start-up (operation without gas recirculation and without mass transfer vector) imposed very low biomass production. Figure 4 shows the time course of CH_4 -L, CH_4 -EC and CO_2 production rates (RCO_2) during operation at steady biomass concentrations (day 64 of operation corresponding to day 0 in the graph).

From day 0 to day 9, the process was operated in the absence of a transfer vector and gas recirculation, reaching CH_4 -EC and RCO_2 of $11.6 \pm 0.6 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $24.1 \pm 0.4 \text{ g CO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectively. Process operation with gas recirculation at 1 vvm brought about a slight increase in CH_4 -EC and RCO_2 of up

to $16.9 \pm 1.2 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $35.2 \pm 1.7 \text{ g CO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. These empirical findings suggest that the enhancements in $k_L a_{\text{O}_2}$ recorded during the abiotic tests resulted in increases in CH_4 transfer probably due to the increase in $k_L a_{\text{CH}_4}$. In this context, Yu *et al.*²¹ estimated theoretically that $k_L a_{\text{O}_2}$ is approximately 1.169-fold higher than $k_L a_{\text{CH}_4}$ in a STR using a diffusivities ratio, while Yazdian *et al.*²² found experimentally in a similar draft tube airlift reactor that $k_L a_{\text{O}_2}$ was 1.8 times higher than $k_L a_{\text{CH}_4}$. However, the increases of 101% recorded in the abiotic $k_L a_{\text{O}_2}$ in the presence of S200 at gas recirculation rate of 1 vvm were not reflected in comparable increases in CH_4 -ECs.

Similarly, the introduction of 10% of D9370 in the ALR operating with 1 vvm of gas recirculation from day 22 to 27 did not result in substantial enhancement in CH_4 removal and CO_2 production, as anticipated by the relevant increase of 137% in $k_L a_{\text{O}_2}$ under similar operational conditions (Fig. 4). This absence of mass transfer enhancement due to the addition of D9370 was confirmed by the performance of the system from day 27 to 29 and from day 35 to 38, where the ALR was operated again with gas recirculation (1 vvm) in the absence of a transfer vector (with EC of $21.2 \pm 0.8 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $18.9 \pm 0.8 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectively). Likewise, the presence of 10% of S200 did not enhance CH_4 removal or CO_2 production, which exhibited values of $17.2 \pm 0.4 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $31.5 \pm 0.9 \text{ g CO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ at 1 vvm of gas recirculation and $17.6 \pm 0.8 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and $33.3 \pm 0.5 \text{ g CO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ at 2 vvm. Process operation in the presence of S200 with no gas recirculation resulted in EC of $9.5 \pm 1.0 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and RCO_2 of $22.4 \pm 0.8 \text{ g CO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (days 45–53). These results, apart from supporting the reproducibility of process operation beyond the experimental error caused by fluctuations in the methane load, the significant CO_2 productions from endogenous metabolism and metabolite re-assimilation, and the short breaks in the operation of the ALR during the addition or extraction of the transfer vectors (solid and liquid), suggest that other factors rather than the mass transfer from the gas phase limited CH_4 biodegradation under these conditions. It was hypothesized that the biomass present in the system was capable of coping with

the initial CH₄ mass transfer enhancement brought about by gas recirculation, but not with the further increases mediated by the presence of the transfer vectors. Pulses of concentrated MSM were added to the ALR to rule out the possibility of a potential scenario of nutrients limitation during operation with the transfer vectors. In addition, the replacement of 1 L of cultivation medium by fresh MSM containing the cells centrifuged from the cultivation medium showed no enhancement in process performance, which also ruled out the occurrence of microbial inhibition by accumulation of a toxic metabolite. This suggests that process performance could be limited by microbial activity under conditions supporting high mass transfer of CH₄.

The elimination capacities herein achieved were lower than the 48 g m⁻³ h⁻¹ recorded in a TPPB-STR operated with a similar biomass concentration at 800 rpm, 10% of S200 and a methane loading of 65 g m⁻³ h⁻¹.⁸ This was reflected in the lower percentage removal efficiencies (%RE) obtained in this system (below 20%), whereas the maximum value obtained in the stirred tank was 70%. However, considering the low power consumption required by ALRs compared with STRs, implementation of this technology continues to hold some promise.

TOC measurements revealed maximum dissolved organic and inorganic carbon concentrations (accumulated) of 153 mg L⁻¹ and 20 mg L⁻¹, respectively, at the end of the experimentation. This indicated that most of the carbon from CH₄ was converted to cell material and CO₂. Thus, only 2% of the CH₄ removed was converted to extracellular metabolites as estimated from a carbon balance (carbon from CH₄ degraded minus dissolved organic carbon).

Videos obtained of the system's hydrodynamics during the methane degradation experiments showed the presence of S200 agglomerates between the riser and downcomer indicating coalescence of the oil drops, which was not observed during the abiotic $k_L a_{O_2}$ determinations. This coalescence, caused by the presence of cells (and probably due to biosurfactants excretion), should have impacted the mass transfer by a reduction in the interfacial contact areas gas–oil and oil–water and, moreover, reducing the possible uptake of methane and oxygen directly from the oil drops by the methanotrophic bacteria.

Other authors (Galaction *et al.*²³) have found that $k_L a$ is affected by the presence of cells in STRs, which impacts liquid viscosity. Moreover, the addition of S200 (10% v/v), which is 200 times more viscous than water, mediated an additional impact on the system hydrodynamics. Therefore, correct estimation of the hydrodynamic parameters (mainly the mean air bubble and organic drop diameters) in the bioreactor is crucial to properly understand the effect of the transfer vector on methane biodegradation. The large variations in $k_L a$ values reported in TPPBs²⁴ are a consequence of the poor understanding of the different interrelations cells–bubble–drop–water that can be encountered in these complex tetraphasic systems. This suggests that simple average properties of the oil/water emulsions cannot be used to estimate accurately the system hydrodynamic behavior. On the other hand, the experimental measurement of air bubble diameters is a complex task in concentric draft-tube ALRs since the bubble diameter distribution in the riser cannot be measured by traditional photographic methods. This is even more complicated under biotic conditions due to the culture medium turbidity. Thus, sophisticated methods such as laser-based techniques would be necessary to adequately determine the mean bubble diameter and the related hydrodynamic parameters (e.g. bubble rise velocity or the Reynolds number). In brief, the authors consider that a mass transfer limitation in the system cannot be ruled out with the

available information and additional experiments will be required to quantify this particular finding.

CONCLUSIONS

Silicone oil 200 cSt (S200) and Desmopan[®] (D9370) were selected as model liquid and solid transfer vector based on their high affinity for CH₄ (10 times higher than water) and biocompatibility (neither toxic nor biodegradable) with a methanotrophic consortium. This work constitutes, to the best of our knowledge, the first study in gas treatment decoupling the EBRT (often high in the case of hydrophobic gaseous pollutants) from the liquid circulation velocity (which determines the mass transfer rates) by introducing internal gas recirculation. Thus, the operation at gas recirculation rates of 1 vvm brought about increases in $k_L a_{O_2}$ of 195, 485 and 595% in ALRs supplied with no transfer vector, 10% of S200 and 10% of D9370, respectively, under abiotic conditions. Similarly, enhancements in CH₄ biodegradation of approx. 51% were recorded in a continuous ALR by increasing gas recirculation from 0 to 1 vvm in the absence of transfer vector or in the presence of 10% of S200. However, the addition of 10% of S200 or D9370 operating at 1 vvm did not result in enhanced CH₄-EC, as anticipated by the higher $k_L a_{O_2}$ recorded under abiotic conditions. This suggests that CH₄ abatement could be limited by microbial activity rather than by mass transfer limitation. Nevertheless, the poor dispersion of S200 in the presence of bacteria does not allow ruling out the occurrence of mass transfer limitations and additional experiments using novel measurement techniques should be conducted to properly describe the hydrodynamic behavior of the system. In addition, it must be highlighted that although the ECs herein observed (≈ 19 – 22 g m⁻³ h⁻¹) were approximately half those reported in STRs, the lower power requirements of ALRs guarantee the cost-effectiveness of this biotechnology for the removal of hydrophobic gaseous pollutants.

ACKNOWLEDGMENTS

The Spanish Ministry of Education and Science is gratefully thanked for supporting José Rocha-Rios' research stay (RYC-2007-01667 contract, and projects CTQ2009-07601 and CONSOLIDER- CSD 2007-00055) in Valladolid University. The Regional Government of Castilla y Leon (Ref. GR76) and AUIP support for moving expenses are also gratefully acknowledged.

Finally, Kevin Regan is also thanked for his English proof reading.

Supporting information

Supporting information may be found in the online version of this article.

REFERENCES

- 1 Copenhagen Accord of United Nations Framework Convention on Climate Change 2009 (UNFCCC-2009). <http://unfccc.int/resource/docs/2009/cop15/eng/107.pdf>.
- 2 Du Plessis C, Strauss J, Sebalalo E and Riedel K, Empirical model for methane oxidation using a composted pine bark biofilter. *Fuel* **82**:1359–1365 (2003).
- 3 Nikiema J, Brzezinski R and Heitz M, Elimination of methane generated from landfills by biofiltration: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol* **6**:261–284 (2007).
- 4 Mohseni M and Allen D, Biofiltration of mixtures of hydrophilic and hydrophobic volatile organic compounds. *Chem Eng Sci* **55**:1545–1558 (2000).

- 5 Muñoz R, Villaverde S, Guieysse B and Revah S, Two-phase partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds. *Biotechnol Adv* **25**:410–422 (2007).
- 6 Galindo E, Pácek A and Nienow A, Study of drop and bubble sizes in a simulated mycelial fermentation broth of up to four phases. *Biotechnol Bioeng* **69**:213–221 (2000).
- 7 Quijano G, Rocha-Rios J, Hernández M, Villaverde S, Revah S, Muñoz R, et al, Determining the effect of solid and liquid vectors on the gaseous interfacial area and oxygen transfer rates in two-phase partitioning bioreactors. *J Hazard Mater* **175**:1085–1089 (2010).
- 8 Rocha-Rios J, Muñoz R and Revah S, Effect of silicone oil fraction and stirring rate on methane degradation in a stirred tank reactor. *J Chem Technol Biotechnol* **85**:314–319 (2010).
- 9 Quijano G, Hernández M, Villaverde S, Thalasso F and Muñoz R, A step-forward in the characterization and potential applications of solid and liquid oxygen transfer vectors. *Appl Microbiol Biotechnol* **85**:543–551 (2010).
- 10 Daugulis A and Boudreau N, Removal and destruction of high concentrations of gaseous toluene in a two-phase partitioning bioreactor by *Alcaligenes xylosoxidans*. *Biotechnol Lett* **25**:1421–1424 (2003).
- 11 Rocha-Rios J, Bordel S, Hernández S and Revah S, Methane degradation in two-phase partition bioreactors. *Chem Eng J* **152**:289–292 (2009).
- 12 OECD, Organization for Cooperation and Development. Guidelines for testing of chemicals. Test 302 B: Zahn-Wellens/EMPA; Test 302 C: Modified MITI Test (II). OECD, Paris, France (1993). http://www.oecd.org/home/0,3305,en_2649_201185_1_1_1_1_1_1,00.html.
- 13 Hernández M, Quijano G, Thalasso F, Daugulis A, Villaverde S and Muñoz R, A comparative study of solid and liquid non-aqueous phases for the biodegradation of hexane in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnol Bioeng* **106**:731–740 (2010).
- 14 Muñoz R, Chambaud M, Bordel S and Villaverde S, A systematic selection of the non-aqueous phase in a bacterial two-phase partitioning bioreactor treating α -pinene. *Appl Microb Biotechnol* **79**:33–41 (2008).
- 15 Beyenal H, Chen S and Lewandowski Z, The double substrate growth kinetics of *Pseudomonas aeruginosa*. *Enzyme Microb Technol* **32**:92–98 (2003).
- 16 Ruchti G, Dunn IJ and Bourne JR, Practical Guidelines for the determination of oxygen transfer coefficients ($k_L a$) with the sulfite oxidation method. *Chem Eng J* **30**:29–38 (1985).
- 17 Chisti Y and Moo-Young M, Airlift reactors: characteristics, applications and design considerations. *Chem Eng Commun* **60**:195–242 (1987).
- 18 Chisti Y, *Airlift Bioreactors*. Elsevier Science Publishing Co., New York, p. 102 (1989).
- 19 Littlejohns J and Daugulis A, A two-phase partitioning airlift bioreactor for the treatment of BTEX contaminated gases. *Biotechnol Bioeng* **103**:1077–1086 (2009).
- 20 Littlejohns J and Daugulis A, Oxygen transfer in a gas–liquid system containing solids of varying oxygen affinity. *Chem Eng J* **129**:67–74 (2007).
- 21 Yu Y, Ramsay J and Ramsay B, On-line estimation of dissolved methane concentration during methanotrophic fermentations. *Biotechnol Bioeng* **95**:789–793 (2006).
- 22 Yazdian F, Shojaosadati S, Nosrati M, Hajiabbas M and andheghani-Farahani E, Investigation of gas properties, design, and operational parameters on hydrodynamic characteristics, mass transfer, and biomass production from natural gas in an external airlift loop bioreactor *Chem Eng Sci* **64**:2455–2465 (2009).
- 23 Galaction A, Cascaval D, Oniscu C and Turnea M, Enhancement of oxygen mass transfer in stirred bioreactors using oxygen-vectors. 1. Simulated fermentation broths. *Bioprocess Biosyst Eng* **26**:231–238 (2004).
- 24 Clarke K and Correia L, Oxygen transfer in hydrocarbon-aqueous dispersions and its applicability to alkane bioprocesses: a review. *Biochem Eng J* **39**:405–429 (2008).



Short communication

Determining the effect of solid and liquid vectors on the gaseous interfacial area and oxygen transfer rates in two-phase partitioning bioreactors

Guillermo Quijano^{a,b}, José Rocha-Ríos^{a,c}, María Hernández^a, Santiago Villaverde^a, Sergio Revah^d, Raúl Muñoz^{a,*}, Frédéric Thalasso^b

^a Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, Universidad de Valladolid, Paseo del Prado de la Magdalena, s/n, 47005 Valladolid, Spain

^b Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios, Avanzados del IPN (Cinvestav), Apdo. Postal 14-740, 07360 México, D.F., Mexico

^c Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica (IPH), Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México, D.F., Mexico

^d Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, c/o IPH, UAM-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, 09340 México, D.F., Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 July 2009

Received in revised form 1 September 2009

Accepted 6 October 2009

Available online 13 October 2009

Keywords:

Desmopan

Gaseous interfacial area

Mass transfer

Silicone oil

Transfer vector

TPPBs

ABSTRACT

The effect of liquid and solid transfer vectors (silicone oil and Desmopan, respectively) on the gaseous interfacial area (a_g) was evaluated in a two-phase partitioning bioreactor (TPPB) using fresh mineral salt medium and the cultivation broth of a toluene degradation culture (*Pseudomonas putida* DOT-T1E cultures continuously cultivated with and without silicone oil at low toluene loading rates). Higher values of a_g were recorded in the presence of both silicone oil and Desmopan compared to the values obtained in the absence of a vector, regardless of the aqueous medium tested (1.6 and 3 times higher, respectively, using fresh mineral salt medium). These improvements in a_g were well correlated to the oxygen mass transfer enhancements supported by the vectors (1.3 and 2.5 for liquid and solid vectors, respectively, using fresh medium). In this context, oxygen transfer rates of $2.5 \text{ g O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and $1.3 \text{ g O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ were recorded in the presence of Desmopan and silicone oil, respectively, which are in agreement with previously reported values in literature. These results suggest that mass transfer enhancements in TPPBs might correspond to an increase in a_g rather than to the establishment of a high-performance gas/vector/water transfer pathway.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The mechanisms of mass transfer in two-phase partitioning bioreactors (TPPBs) continue being disputed in spite of the advances made in such multiphase systems in the last 15 years. According to Dumont and Delmas [1], when a non-aqueous phase (also called transfer vector) is added to a gas/water dispersion, the overall transfer (N_{tot}) from the gas to the aqueous phase can be described by the following equation:

$$N_{tot} = N_{g/w} + N_{g/v/w} \quad (1)$$

where $N_{g/w}$ and $N_{g/v/w}$ represent the gas/water and the gas/vector/water mass transfer pathways ($\text{mol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), respectively. Several authors hypothesized that the observed mass transfer enhancement of poorly water soluble organic compounds (e.g. hexane, pentane, α -pinene) is based on the establishment of a high-performance gas/vector/water pathway. This hypothesis is based on the fact that the solubility of the target compound in the vector is much higher than in water, and thus, a higher concentra-

tion gradient for mass transfer is expected for the gas/vector/water pathway than for the gas/water one [2]. However, the mass transfer enhancement might also be related to an enhanced gas/water interfacial area (a_g) rather than to the establishment of a preferential gas/vector/water transfer pathway. In this context, Pulido-Mayoral and Galindo [3] observed that the addition of castor oil significantly reduced the air bubble diameter. These authors determined an overall mass transfer coefficient ($K_L a$) considering both liquid phases (aqueous phase and vector) as a single homogeneous phase, and observed that the reduction in air bubble diameters was associated to an increase in $K_L a$, although a quantitative analysis of these phenomena was not developed. In addition, the surface tension of the aqueous phase can also affect the mass transfer through modifications of a_g in a TPPB [4]. Thus, the presence of extracellular surface active compounds such as biosurfactants could affect the value of a_g and therefore the overall mass transfer, and must be taken into account when evaluating mass transfer in TPPBs [5–7]. Therefore, there is a lack of systematic evaluations of the role of a_g in the mass transfer enhancements observed in TPPBs.

This work was devised to investigate the effect of liquid and solid vectors (silicone oil and Desmopan, respectively) on a_g . Oxygen transfer rates were also experimentally determined to evaluate the impact of the interfacial area modifications on the overall mass

* Corresponding author. Tel.: +34 983184934; fax: +34 983423013.

E-mail address: mutora@iq.uva.es (R. Muñoz).

transfer. The influence of potential biosurfactant production on the interfacial area was also evaluated in the cultivation broth of a continuous toluene degradation process (supplied with and without silicone oil) inoculated with *Pseudomonas putida* DOT-T1E.

2. Materials and methods

2.1. Determination of the gaseous interfacial area and oxygen transfer rates

A 1.2-L jacketed glass stirred tank reactor (0.1 m inner diameter, 0.155 m height) equipped with two six-blade Rushton turbines (0.05 m impeller diameter, 0.012 m blade length, 0.04 m distance between turbines, 0.02 m distance between the impeller and the bottom of the reactor) was used for the determination of a_g and the oxygen mass transfer rates. The reactor was operated at 300 rpm, 25 °C and supplied with air at 0.45 L min⁻¹ (using a porous stainless steel sparger of 10 μm of pore size). Three different aqueous phases (0.9 L) were tested: fresh MSM prepared according to Muñoz et al. [8] (from now on referred to as FMSM); residual MSM from a continuous *P. putida* DOT-T1E culture (mechanically agitated at 300 rpm and 30 °C) supplied with 10% (v/v) silicone oil 200 cSt and toluene as the sole carbon and energy source at 3 ± 0.5 g m⁻³ in the gas phase via aeration (RMSM⁺); and residual MSM from a continuous *P. putida* culture carried out as above described but in the absence of silicone oil (RMSM⁻). *P. putida* DOT-T1E represents an efficient toluene degrading microorganism able to tolerate high toluene concentrations [9,10]. The cultivation broth drawn at day 5 of operation was centrifuged at $15,300 \times g$ for 10 min (Sorvall Legend RT Plus, Thermo Scientific, Spain) and further used in the bubble size experiments. The effect of vector addition was estimated under three conditions: no vector, addition of 5% (v/v) silicone oil 200 cSt (Sigma–Aldrich) and addition of 5% (v/v) Desmopan DP9370A. The polymer Desmopan consisted of 3 mm × 3 mm cylinders of polyurethane (poly[oxytetramethylene]glycol and methyldiisocyanate) with a density of 1060 kg m⁻³ [11].

Measurements of the surface tension of the aqueous media used were performed at 25 °C using the Wilhelmy plate method with a tensiometer (*Easy Dyne*, KRUSS, Germany). A Sony DSLR-A200 camera (10.2 Megapixels, maximum shutter speed 1/4000) located at 15 cm from the reactor surface was used to determine the bubble size distribution. The images were processed using Image-Pro Plus (Media Cybernetics, 2006) with a minimum of 400 automatic measurements of the bubble diameter from each photograph. The software was carefully calibrated with photographs of several internal parts of the reactor of known dimensions under static conditions (without mixing or aeration). Fig. 1 depicts a typical set of images used for the determination of the bubble diameter. The Sauter mean diameter (d_{32}) was estimated using bubble diameter as follows:

$$d_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (2)$$

where n_i represents the number of bubbles with an equivalent diameter d_i . The interfacial area between the gaseous phase and the overall liquid phase, a_g (or liquid–solid phases in the case of Desmopan) was estimated using Eq. (3), according to Chaumat et al. [12]:

$$a_g = \frac{6\varepsilon_G}{d_{32}} \quad (3)$$

where ε_G represents the overall gas holdup determined according to Vandu et al. [13]. In brief, the system was allowed to reach steady state conditions after adjusting the air flow rate and the increase in dispersion height was recorded. The value of ε_G was obtained from

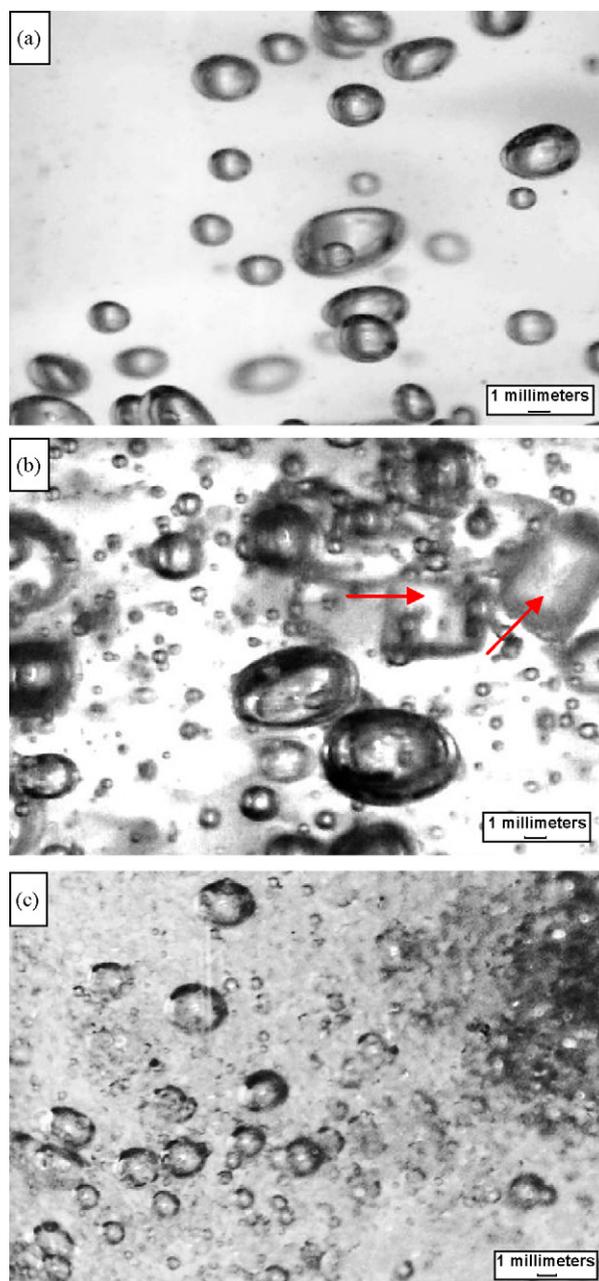


Fig. 1. Typical set of images for bubble diameter determination in FMSM with (a) no vector, (b) Desmopan (narrowes indicating the Desmopan beads), and (c) silicone oil.

the following equation:

$$\varepsilon_G = \frac{H - H_0}{H} \quad (4)$$

where H_0 is the unaerated water/vector height and H is the air/water/vector dispersion height. The error in ε_G measurements was always lower than 10%.

2.2. Oxygen mass transfer

The overall oxygen transfer rate (OTR) from the gas to the aqueous phase was determined according to Quijano et al. [14]. The reactor containing FMSM with Na₂SO₃ at 0.03 mol L⁻¹ and the corresponding vector was aerated for 30 min prior to experimentation. The kinetics of oxygen absorption were recorded after the addition of the catalyst (CoSO₄) via monitoring sulfite depletion.

Table 1
Effect of vectors on ε_G , d_{32} and a_g in different aqueous phases.

Aqueous phase	Surface tension (mN m ⁻¹)	Vector	Vector hydrodynamic behavior	ε_G	d_{32} (mm)	a_g^a (m ⁻¹)
Fresh MSM	64.3 ± 0.4	–	–	0.026	2.7 ± 0.02	58 ± 0.4 (A)
Fresh MSM		Desmopan	Practically all the polymer was accumulated at the top of the reactor and only few dispersed beads were observed	0.067	2.2 ± 0.20	183 ± 15 (B)
Fresh MSM	56.0 ± 0.1	Silicone oil	Well dispersed	0.029	1.9 ± 0.01	92 ± 0.5 (C)
Residual MSM ⁺		–	–	0.035	2.3 ± 0.10	91 ± 4 (C)
Residual MSM ⁺		Desmopan	Few beads accumulated at the top of the reactor, the rest was well dispersed	0.046	2.2 ± 0.13	125 ± 7 (D)
Residual MSM ⁺		Silicone oil	Well dispersed	0.039	2.1 ± 0.27	111 ± 13 (D)
Residual MSM ⁻	57.6 ± 1.1	–	–	0.026	2.2 ± 0.15	71 ± 4 (E)
Residual MSM ⁻		Desmopan	All the polymer was well dispersed in the reactor	0.035	1.9 ± 0.11	110 ± 6 (D)
Residual MSM ⁻		Silicone oil	Well dispersed	0.033	1.7 ± 0.08	116 ± 0.5 (D)
Residual MSM ⁻		–	–	–	–	–

^a Tukey–Kramer test results are presented in parenthesis ($\alpha=0.05$); values with the same capital letter are not significantly different.

Aqueous samples of 5 mL were periodically taken from the bottom of the reactor and sulfite concentration was determined by iodometric back-titration according to Zhao et al. [15]. This parameter describes the lumped oxygen transfer rate through the gas/water and the gas/vector/water pathways.

2.3. Statistical analyses

Statistical analyses were performed with NCSS[®] software (Jerry Hintze, 2001). Analyses of variance ($\alpha=0.05$) and Tukey–Kramer tests were performed in order to evaluate significant differences among the a_g values obtained in the different aqueous media tested. The error in all experimental procedures was expressed as the standard error of the mean.

3. Results and discussion

Biosurfactant production can be detected via surface tension measurement of the aqueous phase. This decrease in the surface tension is expected to increase the value of a_g by inhibiting bubble coalescence [4]. Indeed, significant differences in surface tension (10–13%) were observed between the residual aqueous phases from the cultures of *P. putida* (RMSM⁺ and RMSM⁻) and the FMSM (Table 1). However, no significant difference was observed between RMSM⁺ and RMSM⁻, which suggests that no additional excretion of surface active metabolites was induced by the presence of this vector. Since both RMSM⁺ and RMSM⁻ were obtained from steady state continuous cultures of *P. putida* operated at low toluene loading rates and high pollutant removal efficiencies (low toluene aqueous concentrations), the presence of any potential bioreaction intermediate was ruled out. On the other hand, while silicone oil was well dispersed (small droplets) during stirred tank reactor operation regardless of the aqueous phase tested, the hydrodynamic behavior of Desmopan was a function of the type of aqueous phase. Thus, most of the solid polymer remained entrapped at the top of the reactor in the presence of FMSM, practically all the polymer beads were dispersed in the reactor with RMSM⁺, and a complete dispersion of the polymer was achieved in RMSM⁻.

The smallest values of d_{32} were observed in the presence of silicone oil, regardless of the aqueous phase present (Table 1). In all cases, silicone oil supported a fairly smooth bubble size distribution in the range of 0.3–2 mm, diameters outside this range were scarce. However, a detailed analysis of the bubble diameter distribution (Fig. 2) revealed that Desmopan generated the largest number of 0.2 and 0.3 mm diameter bubbles (16% and 21%, respectively) in all aqueous phases. This apparent mismatch between the Sauter mean diameter and the bubble size distribution might be explained

by the fact that Desmopan also induced a significant number of large bubbles (2.6–4.5 mm), which had a strong impact on the value of d_{32} . This particular bubble diameter distribution obtained with Desmopan and FMSM might be due to the entrapment of the solid polymer at the top of the reactor (see Table 1). On one hand, bubble disruption was mediated by the layer of Desmopan beads located at the top of the reactor, which resulted in very small bubbles in the vicinity of this layer. However, the relatively high d_{32} recorded in the presence of Desmopan was likely induced by the formation of large bubbles due to bubble coalescence in regions far from the disrupting layer. Conversely, the well dispersed silicone oil droplets might have induced a more homogeneous bubble diameter distribution, which resulted in a lower d_{32} value despite not exhibiting the largest number of low diameter bubbles.

On the other hand, no clear correlation between the cultivation conditions of *P. putida* (with or without silicone oil) and the value of d_{32} was found. For instance, no significant differences in d_{32} were found in systems provided with silicone oil or Desmopan and operated with FMSM or RMSM⁺ (Table 1). In addition, it cannot be concluded that an additional excretion of metabolites during toluene biodegradation in the presence of silicone oil decreased the air bubble diameter.

The highest value of ε_G was obtained with Desmopan in FMSM, despite the poor vector dispersion. The values of ε_G imposed by the presence of Desmopan were higher than those obtained with silicone oil or in the absence of a vector, regardless of the aqueous

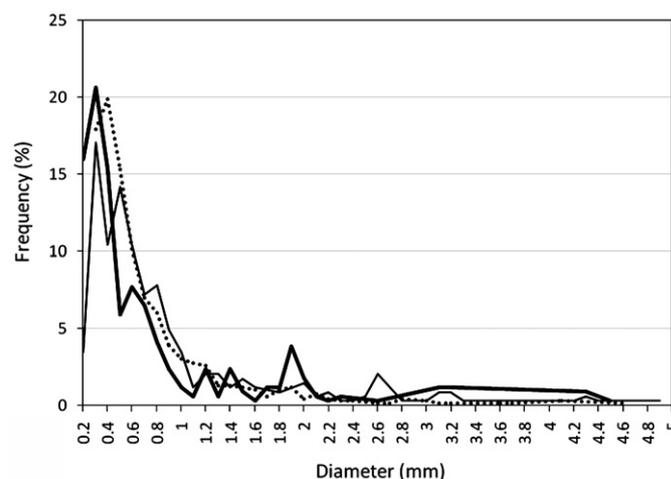


Fig. 2. Bubble size distribution in FMSM with (—) no vector, (—) Desmopan, and (···) silicone oil.

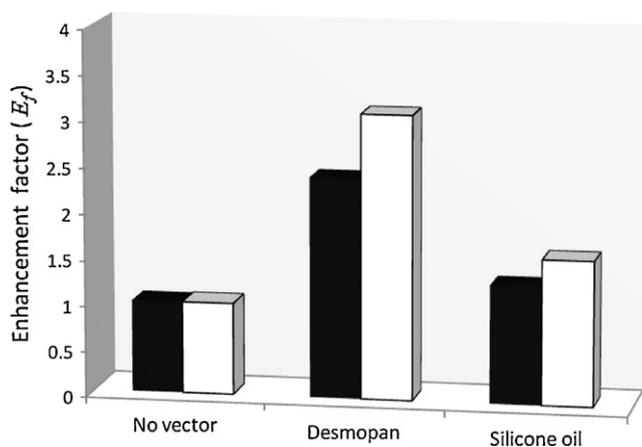


Fig. 3. Enhancement factors for OTR (black bars) and a_g (white bars).

medium tested (0.067 vs. 0.029 and 0.026, respectively, in FMSM), which suggest that Desmopan promoted bubble disruption and break-up processes, even when it was not properly dispersed in the bulk liquid phase. In this context, the presence of small bubbles in Desmopan-supplemented tests probably supported the higher ε_G observed, as previously reported by Prakash et al. [16]. These authors found that the low rise velocities inherent to small bubbles increased the gas residence time and consequently the ε_G .

Higher values of a_g were recorded in the presence of both Desmopan and silicone oil compared to the tests carried out in the absence of a vector, regardless of the aqueous medium employed. Desmopan and silicone oil supported the highest increases in the presence of FMSM, a_g being approximately 3 and 1.6 times higher than in the control tests, respectively. However, no significant differences in a_g were found between Desmopan and silicone oil in the presence of RMSM⁺ or RMSM⁻ (average values of 115 m⁻¹ in both aqueous phases). In addition, both RMSM⁺ and RMSM⁻ presented significantly higher a_g values than FMSM, regardless of the vector evaluated (with the exception of Desmopan in FMSM). This suggests that the addition of silicone oil during toluene degradation cultures did not promote the production of additional surface active metabolites, but the occurrence of toluene biodegradation did cause a significant increase in the gaseous interfacial areas. Overall, these results agree with those previously reported in literature [1,3,17], however, to the best of our knowledge, this is the first report concerning the effect of solid polymers such as Desmopan on a_g .

Measurements of OTR were performed in order to correlate the increase in a_g to the enhancements in substrate mass transfer previously reported in literature [1,18,19]. The measurements were carried out with the aqueous media supporting the highest differences in a_g (FMSM). Fig. 3 depicts the enhancement factor, E_f , for OTR ($E_f = OTR_{vector}/OTR_{no\ vector}$) and a_g ($E_f = a_{g,vector}/a_{g,no\ vector}$) due to the presence of the vectors. From Fig. 3, it is clear that the a_g increases estimated in our experimental set-up were highly correlated to the oxygen mass transfer enhancements observed. A clear linear correlation between a_g and OTR was observed ($r^2 = 0.997$), but for a 100% increase in a_g the corresponding OTR increase was 61%. This confirms that other factors, probably hydrodynamic ones, were negatively impacted on oxygen transfer. Hence, the OTR observed with Desmopan and silicone oil were approximately 2.5 and 1.3 times higher than those recorded in the absence of a vector, respectively. These enhancements were comparable to the 3 and 1.6 fold increases in a_g recorded in the presence of Desmopan and silicone oil, respectively. This suggests that the mass transfer enhancement was probably due to an increase in a_g rather than to the establishment of a high-performance gas/vector/water pathway. In this

context, Quijano et al. [14] reported that the addition of silicone oil 20 cSt at 5% (v/v) increased OTR up to 64% as compared with the control. The estimated contribution of the gas/vector/water pathway to this enhancement was only 2%. Littlejohns and Daugulis [20] observed that solid vectors with extremely low oxygen diffusivities (Nylon 6,6 and glass beads) increased oxygen mass transfer up to 270% due to a mechanically mediated increase in the interfacial areas available for mass transfer from the gas phase. On the other hand, Nielsen et al. [21] quantified the effect of a liquid vector (*n*-hexadecane) on oxygen transfer by means of an overall mass transfer coefficient (K_La). They found that despite the overall K_La decreased with vector addition, the OTR increased as a result of an enhanced gradient concentration mediated by the higher oxygen solubility in the vector. In our work, the higher oxygen solubility in the vector compared to water could not explain the OTR improvements recorded and these improvements were attributed to the increase in a_g , as shown by the high correlation coefficient of this relationship.

The results obtained in this work suggest that the mass transfer enhancements of poorly soluble gaseous substrates such as oxygen, previously reported in literature, might correspond to a vector-mediated increase in a_g rather than to the establishment of a high-performance gas/vector/water transfer pathway. Thus, the high affinity of the vector for the target gaseous substrate (represented by the gas/vector partition coefficient), generally accepted as a key vector selection criterion, might be neglected in the case of poorly soluble gases, and other selection criteria such as the vector hydrodynamic behavior and bubble-disruption capacity should be considered. This work constitutes, to the best of our knowledge, the first systematic study aiming to elucidate the fundamental mechanisms governing mass transport in TPPBs. The elucidation of the processes responsible for gaseous substrate mass transport is crucial to achieve an optimum design of TPPBs in oxygen limited fermentations or in the off-gas treatment of volatile organic contaminants. However, more research is needed to quantify the contribution of this vector-mediated a_g increase to the mass transfer enhancements recorded in TPPBs in the case of extremely hydrophobic organic compounds such as hexane or α -pinene, where the enhancement factors are up to one order of magnitude higher than those recorded for oxygen. In addition, further research devoted to investigate the effect of vector percentage and solid bead size on a_g and OTR will be acknowledged.

Acknowledgments

The authors faithfully thank the financial support received from the Mexican Council of Science and Technology (Guillermo Quijano grant #164283, José Rocha-Rios grant #295496). Likewise, the Spanish Ministry of Education and Science (RYC-2007-01667, PPQ2006-08230, CONSOLIDER-CSD 2007-00055) and the Regional Government of Castilla y Leon (Ref. GR76) are gratefully acknowledged. Dr. Ana Segura Carnicero is also acknowledged for kindly supplying the bacterial strain.

References

- [1] E. Dumont, H. Delmas, Mass transfer enhancement of gas absorption in oil-in-water systems: a review, *Chem. Eng. Process.* 42 (2003) 419–438.
- [2] R. Muñoz, S. Villaverde, B. Guieysse, S. Revah, Two partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds, *Biotechnol. Adv.* 25 (2007) 410–422.
- [3] N. Pulido-Mayoral, E. Galindo, Phases dispersion and oxygen transfer in a simulated fermentation broth containing castor oil and proteins, *Biotechnol. Prog.* 20 (2004) 1608–1613.
- [4] H. Chaumat, A.M. Billet, H. Delmas, Hydrodynamics and mass transfer in bubble column: Influence of liquid phase surface tension, *Chem. Eng. Sci.* 62 (2007) 7378–7390.

- [5] A.A. Bodour, C. Guerrero-Barajas, B.V. Jiorle, M.E. Malcomson, A.K. Paull, A. Somogyi, L.N. Trinh, R.B. Bates, R.N. Maier, Structure and characterization of flavolipids, a novel class of biosurfactants produced by *Flavobacterium* sp. strain MTN11, *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (2004) 114–120.
- [6] F.J.S. Oliveira, L. Vazquez, N.P. de Campos, F.P. de Franca, Production of rhamnolipids by a *Pseudomonas alcaligenes* strain, *Process. Biochem.* 44 (2009) 383–389.
- [7] P. Painmanakul, K. Loubiere, G. Hébrard, M. Mietton-Peuchot, M. Roustan, Effect of surfactants on liquid-side mass transfer coefficients, *Chem. Eng. Sci.* 60 (2005) 6480–6491.
- [8] R. Muñoz, L.F. Diaz, S. Bordel, S. Villaverde, Inhibitory effects of catechol accumulation on benzene biodegradation in *Pseudomonas putida* F1 cultures, *Chemosphere* 68 (2007) 244–252.
- [9] E. Duque, J.J. Rodríguez-Herva, J. de la Torre, P. Domínguez-Cuevas, J. Muñoz-Rojas, J.L. Ramos, The RpoT regulon of *Pseudomonas putida* DOT-T1E and its role in stress endurance against solvents, *J. Bacteriol.* 189 (2007) 207–219.
- [10] M. Hernandez, J. Gouveia, A. Segura, S. Villaverde, R. Muñoz, Addressing the role of the extrusion pump-bearing pGRT1 plasmid on toluene biodegradation by *Pseudomonas putida* DOT-T1E under real case scenarios. *Water Sci. Technol.*, in press.
- [11] G. Quijano, M. Hernandez, S. Villaverde, F. Thalasso, R. Muñoz, A step-forward in the characterization and potential applications of solid and liquid oxygen transfer vectors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (2009), doi:10.1007/s00253-009-2146-x.
- [12] H. Chaumat, A.M. Billet-Duquenne, F. Augier, C. Mathieu, H. Delmas, Mass transfer in bubble column for industrial conditions-effects of organic medium, gas and liquid flow rates and column design, *Chem. Eng. Sci.* 60 (2005) 5930–5936.
- [13] C.O. Vandu, K. Koop, R. Krishna, Volumetric mass transfer coefficient in a slurry bubble column operating in the heterogeneous flow regime, *Chem. Eng. Sci.* 59 (2004) 5417–5423.
- [14] G. Quijano, S. Revah, M. Gutierrez-Rojas, L.B. Flores-Cotera, F. Thalasso, Oxygen transfer in three-phase airlift and stirred tank reactors using silicone oil as transfer vector, *Process. Biochem.* 44 (2009) 619–624.
- [15] S. Zhao, S.G. Kuttuva, L.K. Ju, Oxygen transfer characteristics of multiple-phase dispersions simulating water-in-oil xanthan fermentations, *Bioprocess. Eng.* 20 (1999) 313–323.
- [16] A. Prakash, A. Margaritis, M.A. Bergougnou, Hydrodynamics and local heat transfer measurements in a bubble column with suspension of yeast, *Biochem. Eng. J.* 9 (2001) 155–163.
- [17] E. Galindo, A.W. Pacey, A.W. Nienow, Study of drop and bubble sizes in a simulated mycelial fermentation broth of up to four phases, *Biotechnol. Bioeng.* 69 (2000) 213–221.
- [18] J. Rocha-Rios, S. Bordel, S. Hernández, S. Revah, Methane degradation in two-phase partition bioreactors, *Chem. Eng. J.* 152 (2009) 289–292.
- [19] R. Muñoz, M. Chambaud, S. Bordel, S. Villaverde, A systematic selection of the non-aqueous phase in a bacterial two liquid phase bioreactor treating α -pinene, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79 (2008) 33–41.
- [20] J.V. Littlejohns, A.J. Daugulis, Oxygen transfer in a gas-liquid system containing solids of varying oxygen affinity, *Chem. Eng. J.* 129 (2007) 67–74.
- [21] D.R. Nielsen, A.J. Daugulis, P.J. McLellan, A novel method of simulating oxygen mass transfer in two-phase partitioning bioreactors, *Biotechnol. Bioeng.* 83 (2003) 735–742.

Degradación de metano en biorreactores de partición de dos fases.

13.2 Presentaciones en congresos.

Rocha-Rios J, Revah S. Methane degradation in two-phase partition bioreactors. Conference on Biofiltration for Air Pollution Control (USC-UAM 2008), Long Beach California, 22-24 Octubre. Presentación oral.

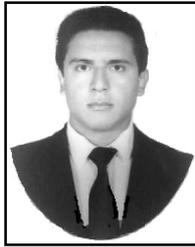
Rocha-Rios J, Muñoz R, Revah S. Effect of silicone oil fraction and stirring rate on methane degradation in a stirred tank reactor. Biotechniques for Air Pollution Control (UNESCO-IHE 2009), Delft The Netherlands, 28-30 Septiembre. Presentación oral.

Rocha-Rios J, Revah S. Experiences on methane degradation in two-phase partition bioreactors. Leading-Edge Conference on Water and Wastewater Technologies (IWA 2010), Arizona Biltmore Phoenix, 2-4 Junio. Presentación de poster.

Rocha-Rios J, Kraakman NJR, Revah S, Kleerebezem R, Kreutzer MT, van Loosdrecht MCM. Using a capillary reactor and an organic phase to increase methane transfer and consumption. Conference on Biofiltration for Air Pollution Control (DUKE-UAM 2010), Washington D.C., 28-29 Octubre. Presentación oral.

Kraakman NJR, **Rocha-Rios J**. Mass transfer and biological gas treatment. Conference on Biofiltration for Air Pollution Control (DUKE-UAM 2010), Washington D.C., 28-29 Octubre. Presentación oral.

13.3 Información curricular del autor.



José Martiniano Rocha Rios nació el 3 de Noviembre de 1975 en Tuxpan Veracruz. En 1999 concluyó los estudios en **Ingeniería Bioquímica** del Instituto Tecnológico de Veracruz (ITV) y en 2005 la **Maestría en Biotecnología** del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional

(CINVESTAV-IPN); su interés por la transferencia de masa y calor en reactores químicos lo condujo al **Doctorado en Ingeniería Química** de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM-Iztapalapa) para poder estudiar de forma integral (con conocimiento de ambas áreas, Biología e Ingeniería) los fenómenos de transporte en biorreactores.

Su experiencia profesional la ha desarrollado en empresas de la industria alimentaria (Gómez-Cuéstara Hermanos, Supervisor de producción) y biofarmacéutica (PROBIOMED, S.A.de C.V., Supervisor de biorreactores), mientras que la experiencia docente la ha adquirido en universidades públicas y privadas (ESIQUE-IPN, UNITEC y ANAHUAC).