

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD IZTAPALAPA**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA**



**“Estudio del comportamiento de biopelículas  
aerobias en membranas permeables”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

Margarita Mercedes González Brambila

COMITÉ TUTORIAL:

DIRECTOR:	Dr. Felipe López Isunza
CO-DIRECTOR:	Dr. Oscar Monroy Hermosillo
ASESOR:	Dr. Hugo Jiménez Islas
ASESOR:	Dr. Alejandro Olmos Dichara

MÉXICO, D. F.

6 de octubre de 2006

La presente tesis se desarrolló en el programa de Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa, el cual pertenece al Padrón Nacional de Postrados del CONACYT.

Iztapalapa, D. F., a 6 de octubre de 2006.

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

**“Estudio del comportamiento de biopelículas aerobias en  
membranas permeables”**

Que presentó:

**Margarita Mercedes González Brambila**

Jurado:

Presidente: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Secretario: Dr. Sergio Huerta Ochoa

Sinodal: Dr. Sergio Revah Moiseev

Sinodal: Dr. Hugo Jiménez Islas

*Dedico esta tesis con todo cariño a:*

*Mis padres: Oscar y Mercedes*

*Mis hijos: Rafael, Oscar y Ricardo*

*Mi esposo: Ascensión*

*Mis hermanos: Silvia, Oscar, Claudia, Sergio, Virginia  
y José*

*Mis sobrinos: Silvita y ...*

*Porque su amor cotidiano es la fuerza para levantarme  
cuando caigo, la esperanza de que lograré mis  
objetivos, la paciencia para continuar día tras día y, el  
motivo y la alegría de vivir.*

*Margarita*

## **Agradecimientos:**

Agradezco profundamente al Dr. Felipe López Isunza todas sus enseñanzas, el tiempo, la comprensión y la paciencia que me ayudaron para llegar aquí.

Agradezco a mis asesores: Dr. Oscar Monroy Hermosillo, Dr. Hugo Jiménez Islas y Dr. Alejandro Olmos Dichara sus valiosos comentarios para realizar este trabajo.

Agradezco al Dr. Uriel Aréchiga por su valiosa amistad y por la preparación de las membranas cerámicas.

Agradezco al Dr. José Sepúlveda Sánchez por su colaboración para obtener las fotografías con el microscopio electrónico de barrido.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio: Noemí, Celia, Inés, Hugo, Víctor Hugo y Omar por los gratos momentos y su comprensión en momentos de desesperación.

Agradezco al CONACYT por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

# Resumen

El objetivo de este estudio fue encontrar la mejor forma de llevar a cabo un proceso aerobio de tratamiento de aguas residuales por medio de la utilización de una biopelícula de lodos activados adherida a una membrana permeable al oxígeno.

Con este propósito se llevaron a cabo diversos experimentos, algunos de ellos para encontrar un soporte adecuado para la adherencia de una biopelícula aerobia, otros para estudiar el consumo de un sustrato modelo y el suministro de oxígeno disuelto en el líquido a través del tiempo; algunos otros para entender mejor el comportamiento de la biopelícula.

Así mismo, se desarrollaron dos modelos matemáticos capaces de describir los fenómenos de transferencia de masa y biorreacción del sistema experimental, lo que permite estudiar, de manera más detallada, lo que sucede al interior de la biopelícula, y la forma en que las diversas condiciones de operación afectan el comportamiento de la misma. Uno de los modelos toma en cuenta la estructura heterogénea de la biopelícula y el otro no.

También se llevó a cabo el estudio de la estructura de la biopelícula utilizando las técnicas de microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido. En esta tesis se presentan algunas de las fotografías obtenidas y algunas mediciones del tamaño de las fibras de polisacáridos y de algunos agregados celulares.

Durante el desarrollo de esta investigación se encontró que utilizar una biopelícula de lodos activados adherida a una membrana permeable es más eficiente que llevar a cabo el proceso con células suspendidas. Se logró saber la forma más eficiente de proporcionar oxígeno a la biopelícula, así como la más económica de entre los cinco casos estudiados. Se observó que al aumentar la velocidad de recirculación dentro del reactor aumenta el coeficiente de transferencia de masa y por lo tanto el consumo de sustrato.

Utilizando los modelos desarrollados, se encontró que las áreas activas al interior de una biopelícula dependen de la forma de alimentación de oxígeno y de la velocidad de recirculación en el reactor. Se estimaron los parámetros más importantes en el proceso y se encontró un espesor de biopelícula óptimo para el sistema.

Con los modelos desarrollados se presenta una comparación entre las áreas activas de una biopelícula homogénea y otra heterogénea, en donde se considera la transferencia de masa entre las partes que conforman a la biopelícula.

# Abstract

The main objectives of this work were 1) to find a better process to improve the aerobic waste water treatment using a membrane attached biofilm reactor; 2) the developing of mathematical models to describe mass transport and reaction in the biofilm reactor.

To achieve those objectives some experimental work was performed to find an adequate membrane for the biofilm growth, to test the substrate and oxygen consumption and the effect of varying the volumetric flow rate, and finally to prove different modes of oxygen supply. The structure of the biofilm using optical and electronic microscopes was also investigated.

Two mathematical models were developed: the first model describes a homogeneous two-phase biofilm composed by a solid phase (mass transfer by diffusion) in contact with an external liquid phase (mass transfer by convection). The second model considers a system formed by a heterogeneous porous medium built by a time-evolving structure of extracellular polymers clusters containing the cells (mass transfer by diffusion) surrounded by a series of interconnected pores and channels filled with liquid (mass transfer by diffusion and convection), and an external liquid phase (mass transfer by convection). The work compares the prediction with both two models, of the concentration of substrates (sodium acetate and dissolved oxygen), and the evolution of the reaction profiles inside the solid phase during the transient operation of the membrane attached bioreactor, based on experiments using different modes of oxygen supply and different flow rates.

The comparison between the theoretical and the experimental results was aimed to know when oxygen is provided from the two sides of the biofilm, this is more efficient than when oxygen is provided only by one side. It is concluded that the reason for this is that the active area inside the biofilm is larger in the former case, achieving a faster substrate elimination.

When the recirculation flow rate increases the substrate consumption also increases due to the high mass transfer coefficient in the biofilm-liquid interphase.

This work presents the comparison between the homogenous model and a novel heterogeneous model developed here. The main difference in the prediction between both models is that for the case of the homogeneous model the predictions showed a small active area of cell activity whereas with the heterogeneous model the prediction shows a that all the biofilms is active.

# Índice

<b>1. Introducción y objetivos</b>	<b>1</b>
<b>2. El estado del arte sobre los reactores de biopelícula</b>	<b>5</b>
<b>3. La experimentación y el sistema experimental</b>	<b>15</b>
3.1. La configuración del biorreactor	15
3.2. Los métodos analíticos	18
3.3. La elección de la membrana	20
3.3.1. Las membranas cerámicas de $\alpha$ -alúmina	20
3.3.2. Las membranas poliméricas	21
3.4. Experimentos a diferentes velocidades de flujo de recirculación	25
3.4.1. Alimentación de aire por la membrana	25
3.4.2. Alimentación de oxígeno a través de la membrana y burbujeo de aire en el líquido	28
3.5. Experimentos a diferentes concentraciones iniciales de sustrato	30
3.5.1. Alimentación de aire a través de la membrana	30
3.5.2. Alimentación de oxígeno a través de la membrana y burbujeo de aire en el líquido	32
3.6. Los experimentos con diferentes espesores de biopelícula	34
3.7. Los experimentos con diferentes formas de suministro de oxígeno	36
3.7.1. El desempeño de las células libres versus la biopelícula	41
3.8. Los experimentos dinámicos	43
3.8.1. Flujo con una recirculación de 120 ml/min	43
3.8.2. Flujo con una recirculación de 350 ml/min	45
3.9. La determinación de la densidad y la concentración de biomasa	45
3.10. Discusión de resultados y conclusiones	46
<b>4. Las características morfológicas de la biopelícula</b>	<b>49</b>
4.1. Determinación por microscopía óptica	49
4.2. Determinación por microscopía electrónica de barrido (MEB)	51
4.3. Discusión y conclusiones	56

<b>5. Los modelos matemáticos del reactor de biopelícula inmovilizada en una membrana permeable</b>	<b>57</b>
5.1. El modelo homogéneo	58
5.1.1. Consideraciones del modelo homogéneo	59
5.1.2. Desarrollo del modelo homogéneo	61
5.1.3. Las condiciones inicial y de frontera del modelo homogéneo	62
5.1.4. El modelo homogéneo adimensional	64
5.1.5. La solución numérica del modelo homogéneo por colocación ortogonal.	67
5.1.6. Resultados de la simulación con el modelo homogéneo	75
5.2. El modelo heterogéneo	79
5.2.1. Consideraciones del modelo heterogéneo	80
5.2.2. Desarrollo del modelo heterogéneo	81
5.2.3. Las condiciones inicial y de frontera del modelo heterogéneo	83
5.2.4. El modelo heterogéneo adimensional	84
5.2.5. La solución numérica del modelo heterogéneo por colocación ortogonal	86
5.2.6. Resultados de la simulación con el modelo heterogéneo	90
5.3. La estimación de los parámetros cinéticos y de transporte	94
5.4. Conclusiones	52
<b>6. Las diferentes formas de suministro de oxígeno a la biopelícula</b>	<b>101</b>
6.1. Comparación de las diferentes formas de suministro de oxígeno de acuerdo con las predicciones del modelo homogéneo	102
6.2. Comparación de las diferentes formas de suministro de oxígeno de acuerdo con las predicciones del modelo heterogéneo	109
6.3. La biopelícula parcialmente activa	118
6.3. Discusión de resultados y conclusiones	121
<b>7. El efecto del transporte convectivo de masa debido a los diferentes flujos de recirculación</b>	<b>123</b>
7.1. Comparación del consumo de sustrato a diferentes flujos de recirculación	123
7.2. Los perfiles calculados de concentración en el líquido y en la biopelícula de acuerdo con el modelo homogéneo	126
7.3. Los perfiles calculados de concentración en el líquido y en la biopelícula de acuerdo con el modelo heterogéneo	133
7.4. La influencia del coeficiente de transporte de masa interfacial interno	141
7.5. Discusión de resultados y conclusiones	149

<b>8. Sistemas dinámico y continuo</b>	<b>151</b>
8.1. Sistema dinámico	151
8.2. Simulación de la operación continua del biorreactor	155
8.3. Discusión de resultados y conclusiones	161
<b>9. Conclusiones generales</b>	<b>163</b>
<b>10. Nomenclatura</b>	<b>167</b>
<b>11. Referencias</b>	<b>173</b>
<b>12. Apéndice 1. Los resultados experimentales</b>	<b>179</b>
<b>13. Apéndice 2. Estudio sobre membrana polimérica</b>	<b>191</b>
<b>14. Apéndice 3. Técnicas de preparación de las muestras para el Uso de microscopía electrónica de barrido (MEB)</b>	<b>193</b>
<b>15. Apéndice 4. El artículo publicado</b>	<b>195</b>

# ***Capítulo 1***

## **Introducción y objetivo**

Uno de los retos más importantes de la humanidad es el mantener su nivel de vida y costumbres sin dañar al medio ambiente que lo rodea, que a la vez es el que le permite sobrevivir. Ello incluye el aire, la tierra, el agua y los seres vivos que habitan nuestro planeta. En nuestra vida diaria utilizamos y contaminamos grandes cantidades de agua dulce que debemos devolver al ambiente: mares, ríos, lagos, etc., en las mismas condiciones en que la tomamos. De ahí podemos deducir la gran importancia que tiene el tratamiento de las aguas residuales.

Actualmente se han desarrollado diversos métodos para el tratamiento de aguas residuales, entre los más utilizados se encuentran el de lodos activados y el de filtros percoladores, ambos con problemas particulares en su operación (Metcalf and Eddy, 1991). El proceso de lodos activados tiene como principal factor limitante la baja solubilidad de oxígeno en agua, por lo que es un proceso lento. El proceso de filtros percoladores presenta problemas de taponamiento por desprendimiento de pedazos de biopelícula, debido a que las células que se encuentran pegadas a los filtros dejan de recibir sustratos cuando la biopelícula ha crecido, por lo cual mueren y se desprenden del soporte. Uno de los factores limitantes más importantes en el tratamiento aerobio de aguas residuales es la baja solubilidad del oxígeno en el agua, lo cual define el crecimiento de las bacterias en lodos activados y por tanto restringe la velocidad de consumo de materia orgánica en el agua residual. La baja velocidad de remoción de materia orgánica ocasiona que los “reactores” de tratamiento de aguas residuales sean excesivamente grandes y que el proceso en general sea lento. Adicionalmente, es necesario eliminar la biomasa, formada durante el proceso, de la corriente de salida de agua tratada, lo cual representa un gasto adicional al proceso.

Por otro lado, la inmovilización de microorganismos de lodos activados para el tratamiento de aguas residuales sobre membranas permeables al oxígeno, se

presenta como una alternativa viable a este proceso (Pavasant *et al.*, 1997; Freitas dos Santos *et al.*, 1997; Casey *et al.*, 1999; Nicolella, *et al.*, 2000), ya que permite una mejor oxigenación a los microorganismos depositados alrededor de la membrana permeable. Esta membrana además, sirve como soporte a los microorganismos para que formen una película alrededor de ella y por lo tanto permanezcan en el reactor y no sean arrastrados con la corriente de salida.

La concentración de biomasa que se puede alcanzar en un biorreactor de membrana es diez veces mayor que la de un reactor de lodos activados convencional (30 g/l en un biorreactor de membrana contra 3 g/l en un reactor de lodos activados), de acuerdo con Casey *et al.*, 1999. Esta mayor concentración de biomasa en un reactor de biopelícula, puede permitir que el proceso de tratamiento de aguas residuales utilizando una biopelícula sea más eficiente que el proceso convencional.

El estudio desarrollado en este trabajo considera a una corriente que ha salido de un proceso anaerobio dentro de un reactor de lecho granular expandido, (EGSB) por sus siglas en inglés, el cual presenta tiempos de residencia hidráulica entre 2 y 6 horas. La corriente de salida del tratamiento anaerobio contiene como principales contaminantes a los ácidos grasos volátiles, de los cuales el 80 % es ácido acético. Por ello es de gran importancia que el sistema desarrollado proporcione la mayor cantidad de oxígeno con la mayor rapidez y que el tratamiento aerobio se lleve a cabo en el menor tiempo posible para poder tratar la corriente de salida del proceso anaerobio de manera secuencial.

Tomando en consideración que los contaminantes principales de la corriente de salida del tratamiento anaerobio serán ácidos grasos volátiles, los trabajos experimentales llevados a cabo en este trabajo, se realizaron utilizando un agua residual modelo consistente en una solución de acetato de sodio enriquecida con peptona de caseína como fuente de nitrógeno, vitaminas y minerales.

En el biorreactor propuesto en este trabajo, se hace pasar una corriente de aire u oxígeno por el interior de una membrana permeable, el cual difunde a través de la pared de ésta hasta llegar a la biopelícula de lodos activados. Adicionalmente al oxígeno alimentado a través de la membrana, se puede o no burbujear aire en el líquido. El burbujeo de aire o nitrógeno en la fase líquida se utiliza también como una forma de agitación.

El objetivo de este estudio es el desarrollo de modelos matemáticos que describan: los procesos de crecimiento de microorganismos, los procesos de transporte de sustratos y la degradación de materia orgánica dentro de una biopelícula de lodos activados en un biorreactor de membrana. Uno de los modelos considera a la biopelícula como un sólido homogéneo y el segundo considera la estructura heterogénea de la misma. Los resultados obtenidos con ambos modelos se comparan con los resultados experimentales, se realiza la estimación de los parámetros más importantes del proceso, y se analiza el comportamiento de la biopelícula.

Los modelos desarrollados son modelos no estructurados en los que se consideran a todos los microorganismos en la biopelícula como una sola especie, y los ácidos grasos volátiles contaminantes del agua se consideran como un solo sustrato, que es la fuente de carbono. Ambos modelos consideran la presencia de tres fases en el reactor: una líquida en la que se encuentran disueltos sustratos y oxígeno; dos fases sólidas: la pared de la membrana y la biopelícula; y dos fases gaseosas: el gas dentro de la membrana y las burbujas de aire en el líquido. El primer modelo desarrollado considera a la biopelícula como una fase sólida homogénea en donde se lleva a cabo el consumo de materia orgánica, mientras que el segundo modelo considera a la biopelícula como un sistema heterogéneo formado por una fase sólida interconectada por poros y canales llenos de líquido, y considera el transporte de materia entre las dos fases que conforman a la biopelícula. Ambos modelos describen al biorreactor experimental incluyendo los procesos de transporte de masa, biorreacción y crecimiento del espesor de la biopelícula. La solución numérica de ambos modelos se llevó a cabo utilizando los métodos de colocación ortogonal y Runge Kutta de 4<sup>o</sup> orden. La estimación de los parámetros cinéticos y de transporte se llevó a cabo utilizando el método de mínimos cuadrados derivado por Marquardt (Meeter, 1965; Draper and Smith, 1966). Para la solución del sistema de las ecuaciones diferenciales ordinarias resultantes, se elaboró un programa en lenguaje Fortran 90, que predice los perfiles de concentración en el líquido y en la biopelícula, así como el crecimiento de biomasa y el espesor de la biopelícula.

La biopelícula es considerada como un conjunto de microorganismos y materiales inorgánicos encerrados en una matriz de polisacáridos que segregan las células, y que las mantienen unidas entre sí y adheridas a una superficie, en este caso la membrana. Los microorganismos se alimentan del sustrato y el oxígeno disueltos en el líquido y del oxígeno disuelto que difunde a través de los poros llenos de líquido de la membrana.

Dentro del estudio experimental realizado en este trabajo, se buscaron diferentes soportes para la biopelícula entre los que se encontraban membranas cerámicas y poliméricas. Las primeras fueron desechadas debido a que sus poros se obstruyeron y no permitieron el paso de aire al cabo de algunos días. De entre las segundas, se realizó un análisis experimental para encontrar aquella que permitiera una mayor difusión de aire a través de sus poros, y con la mejor de éstas se llevaron a cabo el resto de las pruebas experimentales. Se realizaron experimentos donde se estudiaron la concentración de sustrato y oxígeno disuelto (OD) en el líquido variando la concentración inicial de sustrato, la velocidad de recirculación en el reactor, el espesor de la biopelícula, utilizando diferentes formas de suministrar oxígeno a la biopelícula, así como otros experimentos dinámicos para comprender mejor el comportamiento de ésta.

Debido a la influencia de la estructura de la biopelícula en el transporte de masa al interior de ésta, se llevó a cabo un estudio sobre la estructura morfológica de la biopelícula, para lo cual se tomaron fotografías de la biopelícula utilizando un

microscopio óptico y un microscopio electrónico de barrido. Mediante este estudio se observó que la biopelícula utilizada no es un sólido homogéneo como la mayoría de los modelos encontrados en la literatura la describen, sino que se encuentra formada por pequeñas fibras en donde se encuentran adheridas colonias de células. También se observó la existencia de bacterias, hongos y algunos protozoarios.

Dos de las contribuciones más importantes de este trabajo son: haber realizado una comparación entre cinco diferentes formas de suministrar oxígeno a una biopelícula y desarrollar el modelo heterogéneo, el cual predice resultados al interior de la biopelícula que habían sido medidos experimentalmente por otros autores, pero que no se habían obtenido con ningún modelo publicado en la literatura.

En el capítulo 2 de este trabajo se presentan las características más importantes de las biopelículas y se resumen los trabajos desarrollados por diversos autores relacionados con este estudio. En el capítulo 3 se presentan las técnicas experimentales utilizadas y los resultados de todas las corridas experimentales, junto con un análisis de los datos obtenidos. En el capítulo 4 se presenta el estudio estructural de la biopelícula y se muestran las fotografías obtenidas. En el capítulo 5 se describen los modelos, todas las suposiciones y simplificaciones que se consideraron para desarrollarlos, y la forma en la que se resolvieron numéricamente las ecuaciones que describen el comportamiento de la biopelícula dentro del reactor; también se incluyen algunos resultados de los modelos y la comparación entre ellos. El capítulo 6 muestra un estudio sobre la manera en que influye la forma de alimentar oxígeno a la biopelícula en el consumo de sustrato; se analizan los resultados experimentales de 3 diferentes formas de suministrar oxígeno a la biopelícula y se comparan los resultados experimentales y los resultados de la simulación del modelo homogéneo así como de los perfiles al interior de la biopelícula predichos. El capítulo 7 contiene el estudio de la influencia del flujo de recirculación en el biorreactor sobre el consumo de sustrato; se analizan los resultados experimentales comparándolos con los resultados simulados con el modelo homogéneo y se estiman los parámetros de transferencia de masa debido a los cambios en la hidrodinámica en el biorreactor. En el capítulo 8 se analizan los resultados experimentales dinámicos y se simula el aumento en el espesor de la biopelícula durante la operación continua por un período de 250 horas; se estudia la influencia del espesor en el transporte de masa en el interior de la biopelícula.

Finalmente en el Apéndice 1 se dan los resultados experimentales obtenidos; en el Apéndice 2 se presenta un estudio estructural de los poros de la membrana polimérica utilizada; el Apéndice 3 se describe el método utilizado para fijar la biopelícula que se analizó utilizando microscopía electrónica de barrido; en el Apéndice 4 se incluye el artículo derivado de este trabajo y publicado en la revista Chemical Engineering Science.

# Capítulo 2

## El estado del arte

*En este capítulo se describen las principales características de las biopelículas, los factores que afectan su desarrollo, las investigaciones previas que se han realizado para determinar su estructura, así como algunos de los principales estudios llevados a cabo por diversos autores sobre biopelículas y sobre los modelos matemáticos que se han desarrollado.*

Las biopelículas han sido tema de un gran número de estudios, principalmente en últimos diez años, entre otras razones debido a que es ésta la manera en que la mayor parte de los microorganismos crecen en estado natural.

La mayoría de los microorganismos, incluyendo a aquellos presentes en lodos activados para tratamiento de aguas residuales, tienden a unirse entre sí, a adherirse a diversas superficies sólidas, a reproducirse y a crecer mediante la producción de polisacáridos extracelulares (PEC) (Freitas dos Santos and Livingston, 1995a). Al conjunto de las poblaciones de microorganismos, fijos dentro de un espacio y encerradas en una matriz de PEC, se les denomina biopelícula (Costerton *et al.*, 1995). Las biopelículas pueden estar formadas por una o varias especies de microorganismos los cuales interactúan entre sí, ya sea en forma simbiótica o compitiendo por el espacio y por los sustratos disponibles. La composición de una biopelícula está determinada por tres factores principalmente: por la composición del medio, la expansión volumétrica de la biomasa y por el transporte de sustratos hacia el interior de la biopelícula (Costerton *et al.*, 1995). Las bacterias que intervienen en el proceso de lodos activados incluyen los géneros *Pseudomonas*, *Zoogloea*, *Aclimobacter*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Bdellovibrio*, *Mycobacterium*, y las dos bacterias nitrificantes más comunes, los *Nitrosomas* y las *Nitrobacter*. Adicionalmente, se pueden presentar diversas formas filamentosas tales como la *Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, *Thiorhrix*, *Lecicothrix* y *Geotrichum*. En tanto que las bacterias son los microorganismos que realmente degradan el residuo orgánico del efluente, las actividades metabólicas de otros microorganismos son también

importantes en el sistema de lodos activados. Por ejemplo, los protozoos y rotíferos ejercen una acción de refinación de los efluentes. Los protozoos consumen a las bacterias dispersas que no han floculado y los rotíferos consumen a cualquier partícula biológica pequeña que no haya sedimentado (Metcalf and Eddy, 1991).

Las características del soporte de la biopelícula también son decisivas durante las primeras etapas de formación de ésta, ya que influyen tanto en la velocidad de formación como en la distribución de las especies dentro de la biopelícula. Si el soporte es poroso proporciona protección a los microorganismos contra los esfuerzos de corte, contra otros organismos depredadores y contra la abrasión (Lewandowski and Characklis, 1991).

Por otra parte, los PEC son responsables de la integridad de la biopelícula ya que forman una estructura porosa similar a la de una esponja, con espacios vacíos rellenos con agua por donde el líquido y las sustancias solubles en él pueden moverse libremente, mientras que los coloides, las células y las partículas sólidas permanecen atrapados entre la red de PEC (Widerer and Characklis, 1989). Los PEC son cadenas de carbohidratos y amino-azúcares con estructura primaria, secundaria y/o terciaria. La matriz de PEC puede representar entre el 50 y el 90 % del carbono orgánico en la biopelícula (Bakke, 1986; Christensen and Characklis, 1990). La red que forman los PEC es una estructura porosa por donde el líquido puede circular, lo cual facilita que las sustancias nutritivas lleguen a un mayor número de células dentro de la biopelícula. (De Beer *et al.*, 1984; De Beer *et al.*, 1994; Stoodley *et al.*, 1997).

Los sustratos disueltos en la fase líquida fuera de la biopelícula, se transportan hacia la interfase biopelícula – líquido por convección y hacia el interior de la biopelícula por difusión. Sin embargo, la superficie de las biopelículas es elástica (Klapper *et al.*, 2002) y tiende a volver a su forma original después de ser deformada por los esfuerzos de corte; estas deformaciones contribuyen al transporte convectivo en la superficie y dentro de la biopelícula (Christensen and Characklis, 1990).

Si se toma en cuenta que los microorganismos forman biopelículas de manera espontánea, se puede suponer que esta forma de vida es la mejor para ellos, y que si los microorganismos se encuentran en estas condiciones pueden realizar de manera más eficiente el consumo de la materia orgánica disuelta en el agua residual.

Diversos autores han desarrollado modelos para simular el transporte dentro de las biopelículas, el desprendimiento de células debido a esfuerzos de corte y el crecimiento de la misma; otros autores han publicado modelos más detallados para simular el comportamiento completo de una biopelícula dentro de un biorreactor. Algunos de los más importantes, que se relacionan con este trabajo se mencionan a continuación:

Matson y Characklis (1976) desarrollaron un modelo con una cinética de orden cero para describir los procesos acoplados de difusión y reacción en micro colonias esféricas, y reportan cambios significativos en los coeficientes de

difusión, dependiendo de la edad de las colonias y de la relación carbono/nitrógeno (C/N) en el medio de crecimiento.

Powell y Slater (1983) proponen un modelo para biopelículas naturalmente formadas, basado en que una biopelícula contiene un número determinado de especies microbianas con diferentes requerimientos nutricionales y actividades metabólicas, que produce interacciones entre las especies llamadas "comunicación metabólica". Los productos de la actividad metabólica de algunas especies pueden servir como sustrato a otras. Estos autores proponen un modelo para determinar el crecimiento de una especie en función de los productos de otra y toma en cuenta las posibles limitaciones de crecimiento por producto. Sin embargo este modelo presenta la desventaja de que al incrementarse el número de especies y sustratos se vuelve muy complejo, y las constantes de crecimiento requeridas son muy numerosas. Además este modelo considera que el crecimiento y toda actividad microbiana es lo suficientemente lenta como para suponer períodos cortos en estado cuasi-estacionario.

Cunningham (1989) describe al transporte en la interfase líquido-biopelícula como el resultado de tres procesos: el mezclado debido a la distribución de la velocidad del flujo dentro de los poros individuales en la biopelícula, el mezclado resultante de las diferentes velocidades de flujo en diferentes poros debido a la diferencia en diámetro y rugosidad de los mismos, y el mezclado debido a la convergencia y divergencia de los poros individuales. Indica que un incremento en la rugosidad de la superficie de la biopelícula incrementa el transporte convectivo en la superficie, proporciona refugio contra los esfuerzos de corte e incrementa el área superficial.

Rittman (1989) desarrolló un modelo para determinar la velocidad de desprendimiento de pequeñas partes superficiales de la biopelícula debido a la erosión y la abrasión. Concluye que el desprendimiento puede afectar la distribución de especies dentro de la biopelícula, ya que las especies que vivan cerca de la superficie se verán más afectadas por el desprendimiento en el corto plazo; sin embargo a largo plazo la biopelícula puede adelgazarse lo suficiente como para que las especies en el interior queden expuestas. Un alto coeficiente de desprendimiento solo favorecerá a las especies de rápido crecimiento que normalmente viven en la superficie. Un modelo más reciente para predecir el desprendimiento de partículas de la biopelícula es el desarrollado por Bivar *et al.* (2005), el cual consiste en modelar el desprendimiento en forma multidimensional, tomando en cuenta la uniformidad de la biopelícula y su heterogeneidad. Este modelo considera a los mecanismos que actúan en la superficie de la biopelícula como son la erosión y a aquellos eventos que están fuera de la biopelícula como la depredación.

Wanner (1989) considera a las biopelículas como sistemas bifásicos compuestos por una fase sólida y otra líquida que se encuentra entre los espacios vacíos de la fase sólida. La fase sólida está compuesta por partículas unidas entre sí que pueden ser células, PEC, partículas orgánicas, partículas abióticas e inclusive organismos superiores. Considera que al

reproducirse las células, éstas ocupan un espacio adicional que ocasiona un desplazamiento en el volumen de las células vecinas.

Arvin y Harremoes (1990) proponen que la cinética de reacción en una biopelícula depende de la penetración de los sustratos. Consideran que si una tasa de difusión es baja se tendrá una reacción de 1er orden en el interior de la biopelícula. Si los sustratos atraviesan toda la biopelícula se tendrá una reacción de orden cero, y se presentará una cinética de orden 1/2 si los sustratos penetran parcialmente la biopelícula. Además, proponen un esquema estratificado en la biopelícula donde definen el tipo de reacciones cinéticas y las especies de microorganismos que se encuentran en cada estrato, dependiendo de los sustratos y de su penetración.

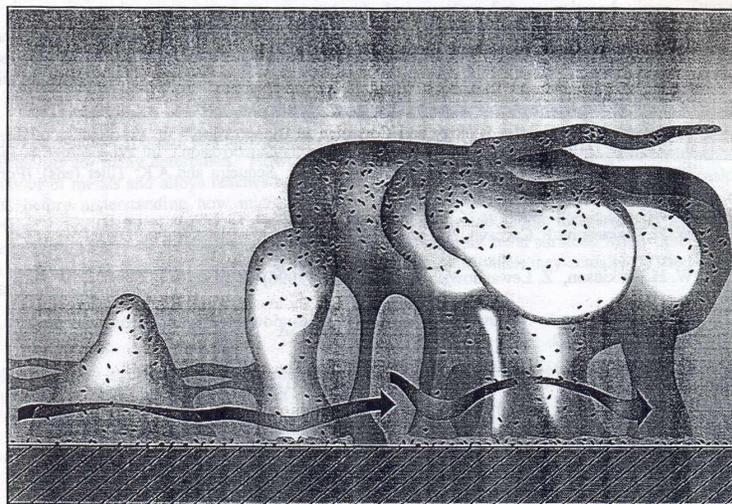
Cheng *et al.* (1992) desarrollaron un modelo dinámico de difusión-adsorción-biodegradación en flóculos para calcular el efecto de los fenómenos de transporte internos y externos sobre la degradación. Este modelo supone que la difusión dentro de los flóculos se lleva a cabo de acuerdo con la Ley de Fick, que la adsorción es isotérmica y lineal, y que la reacción se lleva a cabo siguiendo una cinética de primer orden. Además, suponen que los microorganismos se encuentran dentro de agregados esféricos porosos, de igual diámetro, porosidad y densidad, inmersos en una solución homogénea de volumen constante. Cuantifican la cantidad de carbono incorporado dentro de los microorganismos por biodegradación midiendo el CO<sub>2</sub> formado.

Lewandowski y Characklis (1991) evaluaron los coeficientes de difusión de OD (oxígeno disuelto) a través de una biopelícula de lodos activados utilizando microelectrodos, y encontraron valores para la difusión de éste de entre 20 y 100 % el valor de su difusividad en agua. Así mismo, utilizando imágenes obtenidas por medio de resonancia magnética nuclear y microelectrodos para OD, De Beer *et al.* (1994), midieron la concentración de éste en el líquido externo y en el interior de la biopelícula, con lo que obtuvieron los coeficientes cinéticos en la ecuación de Monod para oxígeno.

Cuando comenzaron a estudiarse las biopelículas, éstas se consideraron como estructuras organizadas de microorganismos, los cuales se ensamblan en monocapas. Sin embargo, con la utilización de nuevos métodos de análisis como los microelectrodos para la medición de OD (Horn, 1994; De Beer and Schramm, 1999) y la microscopía confocal junto con microelectrodos de OD (De Beer *et al.*, 1994; Stoodley *et al.*, 1994; De Beer y Kühl, 2001), se encontró que la estructura de las biopelículas presenta una red de canales llenos de líquido que la atraviesan (Abrahamson *et al.*, 1996; Lewandowski, 1998), lo cual facilita el transporte de sustancias nutritivas al interior de la misma. El esquema de una biopelícula concebida de esta nueva manera se presenta en la Figura 2.1. Estas observaciones describen a las biopelículas como estructuras heterogéneas formadas por células agrupadas dentro de estructuras de polímeros extracelulares en forma de hongos, las cuales se encuentran rodeadas por poros y canales llenos de líquido en movimiento, que las interconectan. Esta estructura heterogénea se encuentra en contacto con la fase líquida externa en la cual se encuentran disueltos los diversos sustratos.

Una de las principales consecuencias de la estructura heterogénea de las biopelículas es la magnitud de los perfiles de concentración de sustratos disponibles para los microorganismos, dado que la concentración dentro de las microcolonias es diferente a la concentración en el líquido dentro de poros y canales. Lewandowski (1998), encontró perfiles de concentración de OD muy diferentes, en diversas posiciones dentro de una misma biopelícula, colocando microelectrodos en el interior de la misma, a una distancia aproximada de 150 micras, uno de otro. Esto se debe a que una de estas posiciones está ocupada por el líquido en canales y poros, y la otra por los conglomerados de células contenidas en los polímeros extracelulares, como se ilustra en las mediciones de OD presentadas en la figura 2.2. Estos resultados sugieren que, además del transporte de masa en la dirección perpendicular al crecimiento de la biopelícula, también existe un transporte de masa en sentido lateral. El primero se lleva a cabo por el gradiente de concentración entre el líquido exterior y la superficie de la biopelícula heterogénea, mientras que el segundo se realiza, por convección, entre el líquido interior contenido en poros y canales y las microcolonias.

Con base en esta nueva estructura de biopelícula, el transporte de masa se lleva a cabo principalmente por convección en toda la biopelícula y no únicamente en la superficie que se encuentra en contacto con el líquido externo. La estructura heterogénea de la biopelícula sugiere que los sustratos disueltos en el líquido fuera de la biopelícula, llegan a la interfase líquido-sólido por convección. Dentro de la parte sólida de la biopelícula el transporte de masa se lleva a cabo por difusión, y en los poros y canales llenos de líquido el transporte de masa tiene lugar tanto por convección como por difusión.



*Figura 2.1. Representación esquemática de la estructura de una biopelícula con colonias de bacterias dentro de una matriz de polisacáridos y espacios llenos de líquido (Lewandowski, 1998).*

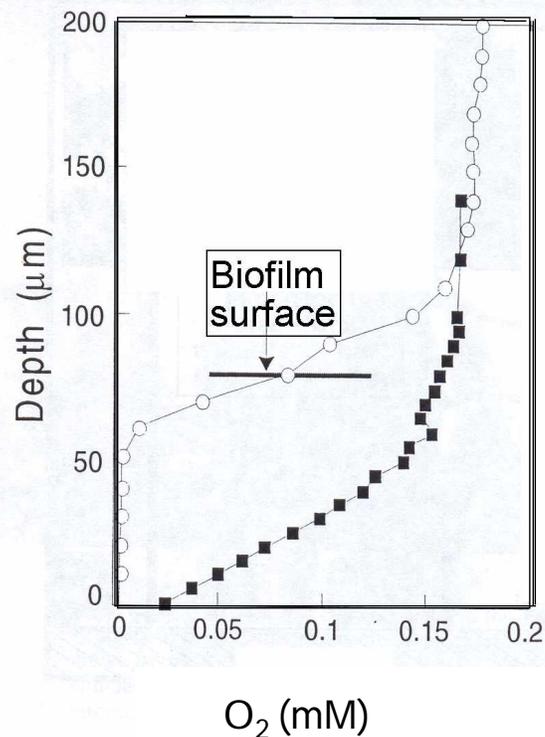


Figura 2.2. Mediciones de la concentración de oxígeno disuelto en dos posiciones en una misma biopelícula (Lewandowski, 1998). ○ Concentraciones de OD según microelectrodo colocado en el líquido, ■ concentraciones de OD según microelectrodo colocado en el conglomerado de células de la parte sólida de la biopelícula.

Stewart (1998) propuso que la difusividad efectiva y los coeficientes de transferencia de masa dependen de la densidad de la biopelícula y del tipo de soluto; y si bien no desarrolló ningún modelo, presenta una clasificación de solutos en función de su polaridad y de su peso molecular.

Uno de los modelos homogéneos que describe tanto a la biopelícula como al biorreactor es el desarrollado por Livingston y colaboradores (Freitas dos Santos and Livingston, 1995 a, b; Pavasant *et al.*, 1996) para el caso de un reactor extractivo de membrana para tratamiento de aguas residuales contaminadas con dicloroetano (DCE). El principal objetivo de este biorreactor es evitar que el agua con DCE se mezcle con la corriente de aire con que se proporciona oxígeno a las bacterias capaces de utilizar el DCE como fuente de carbono para evitar su evaporación por arrastre. Este modelo dinámico incluye el transporte de masa de los reactivos en la interfase y al interior de la biopelícula, la biorreacción utilizando la ecuación de Monod, el desprendimiento de pequeñas porciones de biopelícula según el modelo de Rittman (1989), y el aumento en el espesor de la biopelícula con el tiempo. En este modelo el

oxígeno fluye hacia el interior de la biopelícula en contracorriente al transporte de la fuente de carbono. Como parte de este estudio se desarrolló un sistema para medir el espesor de la biopelícula sin alterar su crecimiento, el cual fue utilizado en este trabajo (Freitas dos Santos and Livingston, 1995 a). Se encontró que el espesor de la biopelícula influye tanto positiva como negativamente en el consumo de DCE, ya que un espesor de biopelícula muy pequeño favorece la difusión pero afecta la degradación por tener una menor cantidad de biomasa. Otros estudios reportan (Freitas dos Santos *et al.*, 1997) los problemas que presenta una biopelícula con un espesor excesivo y el control del crecimiento del espesor haciendo que las células utilicen mayor cantidad de energía para mantenimiento, por medio de la adición de cloruro de sodio en el medio. En artículos más recientes, se realizó un análisis matemático de los factores limitantes en la reacción dentro de la biopelícula, y se encontró que ésta está limitada por la concentración de oxígeno, y que la zona de reacción se encuentra localizada cerca de la interfase biopelícula-líquido. En estudios posteriores (Ferreira y Livingston, 2000) este grupo de investigadores realizó un estudio sobre el crecimiento dinámico de una biopelícula formada por dos especies capaces de utilizar como fuente de carbono uno de entre dos diferentes sustratos, los cuales fueron alimentados de manera alterna. Encontraron que en todo el tiempo que duró el experimento, ambas especies se encontraron activas dentro de la biopelícula, por lo cual sugieren que existe cierta interacción entre las especies que conforman a la biopelícula. Además reportan que esta capacidad de las biopelículas puede ser benéfica para el tratamiento de aguas contaminadas con diversos tipos de contaminantes.

Otro de los modelos homogéneos desarrollados para un biorreactor de biopelícula es el publicado por Karel y Robertson (1987), el cual fue utilizado posteriormente por Casey *et al.* (1999, 2000). En el primer trabajo se considera el suministro de oxígeno por el interior de una membrana permeable hacia una biopelícula rodeada de un agua residual modelo. Los autores consideran que el biorreactor opera en un estado pseudo estacionario, basados en el hecho de que el tiempo característico de difusión-reacción está dado en segundos mientras que el de crecimiento de biomasa está dado en horas. También se supone que las tasas de reacción son de orden cero, dado que las concentraciones de ambos sustratos en la biopelícula son mucho mayores que las constantes de saturación de Monod. En ambos modelos se reporta la existencia de una zona de reacción dentro de la biopelícula, que puede ubicarse en diferentes posiciones dependiendo de la relación de concentración de sustrato y de la presión de oxígeno en el interior de la membrana. Sus resultados muestran que la reacción se lleva a cabo en una pequeña porción de la biopelícula.

Semmens *et al.* (2003) reportaron excelentes resultados en el tratamiento de aguas residuales utilizando un biorreactor con numerosos tubos de membrana por los que proporcionaron oxígeno a una biopelícula de lodos activados. Obtuvieron consumos tanto de compuestos fuente de carbono como de compuestos nitrogenados de 95 % en 6 horas. En este trabajo no se publicó ningún modelo.

Tomando en cuenta la estructura heterogénea de las biopelículas Picioreanu *et al.* (1998, 2000, 2001) desarrollaron dos modelos de biopelícula detallados en 2 y 3 dimensiones, en los cuales toman en cuenta la naturaleza elástica de la biopelícula. Desarrollan un modelo de desprendimiento de pequeñas y grandes porciones de biopelícula dependiendo de los esfuerzos de corte y del envejecimiento de la biopelícula, los cuales consideran responsables en parte de conservar los poros y canales dentro de ésta. En una serie de estudios teóricos Eberl *et al.* (2000) y Picioreanu *et al.*, (2000, 2001) desarrollaron modelos para comprender la influencia de la estructura de las biopelículas sobre la hidrodinámica, el transporte de masa y el crecimiento de la biopelícula. En todos los modelos se representa a la biopelícula como una fase sólida rígida en contacto con una fase líquida que incluye a los poros y canales. El transporte se describe con un modelo de convección-difusión en la fase líquida acoplado con un modelo de difusión-reacción en la fase sólida. La hidrodinámica en estos modelos se describe con las ecuaciones de Navier-Stokes en dos y tres dimensiones. Los autores concluyen que el transporte de masa se lleva a cabo principalmente por convección en el líquido externo, que también incluye a los poros y canales, para flujos medios y altos.

Recientemente Beyenal y Lewandoski (2005) desarrollaron un modelo seudo heterogéneo para una biopelícula en el cual consideran a un coeficiente efectivo de difusión de sustrato variable como una función de la profundidad de la biopelícula, con el objeto de simular la naturaleza heterogénea de la biopelícula. Sus resultados, demuestran que el sustrato penetra dos veces la profundidad de la biopelícula, si se compara con la predicción de un modelo cuyo coeficiente efectivo de difusión es constante. Sin embargo el cambio en el coeficiente de difusión es sólo uno de los efectos de la naturaleza heterogénea de la biopelícula y además en este trabajo no se muestra la simulación de los dos perfiles de concentración de oxígeno encontrados experimentalmente por este grupo (De Beer *et al.*, 1994; Stoodlely *et al.*, 1994; Lewandoski, 1998). Esto se debe a que el modelo desarrollado describe únicamente la difusión en los agregados celulares, pero ignora su interacción con el líquido contenido en los poros y canales, que a su vez también interactúa con el líquido fuera de la biopelícula.

En general, se han reportado numerosos estudios sobre diversos tipos y usos de biorreactores de membrana con biopelículas adheridas, algunos utilizados para la eliminación de compuestos orgánicos volátiles (Livingston *et al.*, 1998; Pavasant *et al.*, 1997), algunos otros para proporcionar mayor cantidad de oxígeno en la degradación de xileno (Debus and Wanner 1992), de amoniacó (Brindle and Stephenson, 1996), de fenol (Woolard and Irvine, 1994) y de clorofenoles (Wobus *et al.*, 1995); todos ellos compuestos volátiles que no se desea que pasen a la fase gas. También se han realizado estudios para medir los perfiles de flujo en biopelículas capaces de retener metales pesados en su estructura utilizando imágenes de resonancia magnética nuclear en 3 dimensiones (Nott *et al.*, 2005)

Recientemente se han desarrollado numerosas investigaciones sobre biopelículas, la mayoría enfocadas al estudio biológico y descriptivo de las mismas. Sin embargo el estudio de las variables que influyen en el

comportamiento de las biopelículas aún no ha sido completamente estudiado, especialmente en el campo de tratamiento de aguas residuales. Los mecanismos de suministro de oxígeno presentados en este trabajo no han sido reportados en la literatura y los perfiles de concentración al interior de la biopelícula no han sido estudiados en su totalidad. La mayoría de los estudios realizados hasta ahora no incluyen el aumento en el espesor de la biopelícula como resultado del crecimiento celular y de la producción de polímeros extracelulares. Así mismo es importante señalar que en este trabajo se han relacionado los resultados experimentales con los resultados obtenidos mediante la modelación teórica del sistema. Aunque algunos trabajos presentan tanto resultados experimentales como teóricos, éstos han sido desarrollados para otras aplicaciones.

Finalmente una de las principales contribuciones de este trabajo es el desarrollo y comparación de dos modelos. Uno de ellos considera a las biopelículas como sistemas homogéneos en los cuales el transporte de masa al interior de ellos, se lleva a cabo por difusión y el transporte hasta la superficie de la biopelícula se lleva a cabo por convección. El otro modelo, el cual se presenta por primera vez en este trabajo (ver González-Brambila, Monroy y López-Isunza, 2006, en el Apéndice 4), toma en cuenta la estructura heterogénea de la biopelícula y la representa como un sistema bifásico, en el cual la fase sólida está formada por células y PEC y la fase líquida contenida en los poros y canales llenos de líquido; además el modelo heterogéneo contempla la existencia de una fase líquida externa, de tal forma que los sustratos entran a la biopelícula desde la superficie con el líquido externo y desde el líquido contenido en los poros y canales. También se presenta una comparación entre los resultados de ambos modelos.



# Capítulo 3

## Experimentación

*Dentro de este capítulo se describen las características de los biorreactores construidos, las técnicas experimentales con las que se midieron las concentraciones de sustrato y oxígeno, las técnicas y condiciones bajo las cuales se llevaron a cabo todos los experimentos y los resultados experimentales obtenidos en forma gráfica. Cabe señalar que las gráficas incluidas en este capítulo únicamente muestran las tendencias de los datos experimentales. También se presenta una breve discusión sobre los resultados experimentales; algunos de los cuales se comparan con los modelos y discuten con mayor profundidad en los capítulos siguientes. Al final del capítulo se presentan los parámetros estimados con base en los resultados experimentales utilizando los modelos descritos en el capítulo anterior. Los resultados numéricos obtenidos a partir de cada uno de los experimentos se encuentran reportados en el Apéndice 1 y se hace mención de ellos en cada sección para su fácil localización.*

### 3.1. La configuración del biorreactor

Se construyeron cuatro reactores de forma cilíndrica iguales, con las siguientes características:

Volumen	200 ml
Altura	300.0 mm
Diámetro externo	30.0 mm
Espesor	2.0 mm
Material	vidrio pyrex

Al interior de cada uno de los reactores se colocó la membrana sujetándola a ambos extremos del reactor. Las características de la membrana son las siguientes:

Longitud	290 mm
Radio interno	1.5 mm
Espesor	0.3 mm
Material	silicón

La membrana se encuentra unida en uno de sus extremos a las válvulas que permiten el paso de aire u oxígeno al interior de ésta y por el otro, se encuentra parcialmente sellada para forzar al aire u oxígeno a que difunda a través de las paredes de la membrana; en este sistema no se controló la presión en la membrana y sólo se varió manualmente el flujo de oxígeno o aire a través de la membrana. Ver Figura 3.1.

El reactor opera haciendo pasar una corriente de oxígeno o aire, según el caso estudiado, por el interior de la membrana. Por la parte externa de la membrana se hace crecer una biopelícula y por fuera de la ésta última se encuentra la fase líquida (el agua residual modelo), donde se encuentra la fuente de carbono.

El agua se recircula continuamente entre el biorreactor y el tanque agitado mediante una bomba. En el tanque agitado se puede burbujear aire como fuente adicional de oxígeno, o se burbujea nitrógeno para agitar el medio. El flujo al interior de la membrana se fijaba en 0.0033l/s y el flujo de burbujeo en 0.005 l/s.

Los lodos activados utilizados se recolectaron de la planta de tratamiento de aguas residuales de Iztapalapa en la Ciudad de México. Este inóculo fue colocado en un recipiente con burbujeo continuo de aire y alimentado con acetato de sodio y peptona de caseína durante dos semanas para lograr que las bacterias se alimentaran únicamente de esta fuente de carbono. Los reactores se inoculaban con 20 ml del inóculo original y las bacterias de lodos activados formaban una biopelícula muy delgada, al principio, en la parte exterior de la membrana, que crece en forma irregular a lo largo de toda la membrana. Las figuras 4.5 y 4.6 muestran a la biopelícula creciendo alrededor de la membrana dentro de uno de los reactores. El espesor de la biopelícula no se pudo controlar.

Para simular un agua residual pre-tratada anaeróbicamente, que tuviera como principal contaminante ácidos grasos volátiles, se utilizó una solución de acetato de sodio como fuente de carbono, enriquecida con peptona de caseína como fuente de nitrógeno, vitaminas y sales minerales.

Antes de comenzar cada corrida experimental se hacía circular nitrógeno por el interior de la membrana y se recirculaba agua destilada durante dos horas para estabilizar el reactor. Mientras tanto se preparaba la solución nutritiva con acetato



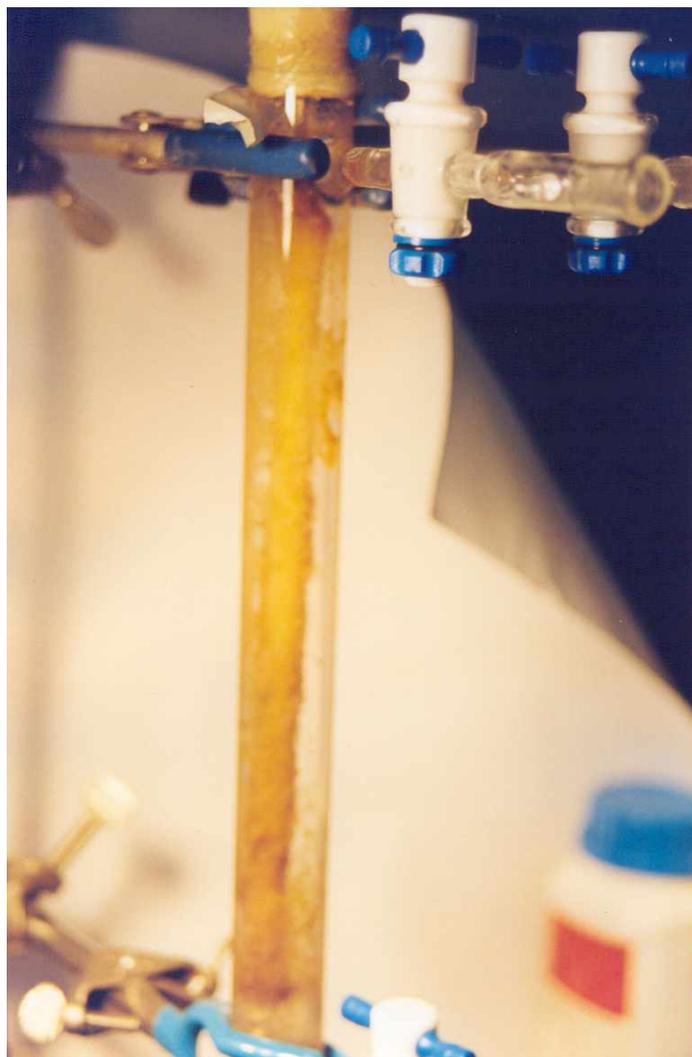
*Figura. 3.1. Sistema experimental de biorreactor con tanque agitado anexo.*

de sodio y peptona de caseína. La solución de acetato de sodio no se esterilizaba ya que durante el proceso de esterilización el acetato de sodio se evaporaba y la solución esterilizada no contenía acetato de sodio, ya que éste se evapora a 118.1 °C (Perry y Green, 1997) Posteriormente se vaciaba el reactor y se abrían las válvulas de aire u oxígeno de entrada a la membrana y de burbujeo por el líquido y se comenzaba a circular la solución de acetato de sodio. En ese momento se tomaba la muestra a tiempo cero de concentración de sustrato y de oxígeno disuelto. Los experimentos comparativos se realizaron en el mismo biorreactor consecutivamente para que el espesor de la biopelícula y por tanto la concentración de biomasa afectaran lo menos posible el consumo de sustrato y oxígeno.

Todas las corridas experimentales se llevaron a cabo con biopelículas cuyo espesor fue de entre 0.2 y 0.3 cm, por lo cual no se consideraron los posibles efectos del envejecimiento de la biopelícula sobre la tasa de crecimiento y el rendimiento.

### 3.2. Los métodos analíticos

Durante las corridas experimentales, se tomaron muestras de 950  $\mu\text{l}$ , las cuales se prepararon para su conservación y posterior análisis, añadiendo 50  $\mu\text{l}$  de solución de ácido clorhídrico al 50 % en volumen, se centrifugaron durante 5 minutos a 13,000 RPM, se separó el sobrenadante y se colocaron en tubos viales. Si no eran inyectadas inmediatamente en el cromatógrafo de líquidos, se congelaban para ser analizadas posteriormente.



*Figura. 3.2. Biorreactor de membrana con biopelícula adherida.*

La concentración de acetato de sodio fue analizada por medio de cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) (Moreira dos Santos et al., 2003) en un equipo Perkin Elmer serie 200, con un detector de ultravioleta modelo 785<sup>a</sup> y una columna tipo Spheri-10 RP-18 empacada con partículas de 10  $\mu\text{m}$  y de 220 x 4.6 mm., también Perkin Elmer.

La fase móvil utilizada fue ácido sulfúrico 1.0 mM, a un flujo de 1.0 ml/ min. El tiempo de retención del acetato de sodio, bajo éstas condiciones, fue de 3.5 min. Se elaboró una curva patrón para acetato de sodio a concentraciones de 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.5 g/l, la cual presentó un ajuste de 0.99867.



*Figura. 3.3. Crecimiento de una biopelícula dentro de un biorreactor de membrana.*

La concentración de oxígeno disuelto en el líquido fue cuantificada utilizando un medidor de oxígeno disuelto Cole Parmer, modelo 01971-00 y un electrodo Cole Parmer modelo 60061.

El espesor de la biopelícula fue medido con el método desarrollado por Freitas dos Santos y Livingston (1995a) utilizando un proyector de transparencias ELMO Co. Este procedimiento consiste en colocar una pantalla con una escala en milímetros a cierta distancia del proyector. Se coloca un objeto de dimensiones conocidas y se obtiene una relación entre el tamaño real del

objeto y el tamaño de la sombra que proyecta en la pantalla. Posteriormente se coloca el biorreactor pegado al proyector y se mide el tamaño de la sombra de la biopelícula en la pantalla. A la medición obtenida se le multiplica por el factor de relación entre el tamaño real y el proyectado, se le resta el diámetro de la membrana y se divide entre dos; la cantidad obtenida será el espesor de la biopelícula.

La concentración de biomasa se estimó por medio del método de peso seco utilizando un horno de microondas (Schulze, 1998).

### **3.3. La Elección de la membrana**

Dentro de la fase experimental de este trabajo, se procedió primeramente a elegir una membrana permeable al oxígeno que permitiera el crecimiento de una biopelícula alrededor y que no sufriera cambios estructurales debido a este crecimiento. Esto es, que el oxígeno continuara difundiendo a través de la pared de la membrana y llegara hasta la biopelícula aunque ésta se encontrara rodeada totalmente por la biopelícula. En un principio se eligieron membranas cerámicas debido a que se esperaba que fueran útiles en este sistema y que además, debido a su resistencia, permitieran la construcción de reactores experimentales con varias membranas. Sin embargo las membranas cerámicas no resultaron útiles en este sistema y se utilizaron membranas poliméricas.

#### **3.3.1. Las membranas cerámicas de $\alpha$ -alúmina con poros de 200 nm**

Para determinar el tipo de membrana a utilizar para crecer biopelículas adheridas se probaron varios tipos de membranas cerámicas porosas y en ninguno de los casos se obtuvieron resultados satisfactorios. En las membranas con poros menores a 200 nm, éstos se obstruyeron con las sales minerales contenidas en el agua, con lo cual el oxígeno dejó de difundir a través de sus poros.

En el grupo del Ing. Uriel Aréchiga Viramontes de la Universidad Autónoma Metropolitana se construyeron membranas con diámetro de poro mayor a 200 nm y se intentó crecer una biopelícula alrededor de ellas, sin embargo, después de permanecer inmersas en agua durante 3 días o más se volvieron muy frágiles rompiéndose con gran facilidad. Esto se puede deber a que el caolín se hidroliza generando micro fracturas. Por estas razones no se pudo utilizar tampoco este tipo de membranas para crecer la biopelícula, por lo que se probaron membranas de tipo polimérico.

#### **3.3.2. Las membranas poliméricas**

Se probaron una serie de membranas poliméricas las cuales no presentaron los problemas de taponamiento por deposición de sales, ni sinterización (cambios en el tamaño y forma de los granos y poros, ocurridos en el proceso

de calcinación, (Kingery *et al.*, 1976)) que presentaron las membranas de tipo cerámico. Por el contrario, estas membranas dieron un mejor resultado y se procedió a evaluar la difusión de oxígeno a través de la pared de dos de ellas para seleccionar la que permitiera una mayor densidad de flujo (flux) de oxígeno a través de sus poros.

Se analizó la difusión de aire a través de los dos tipos de membrana polimérica sin biopelícula para elegir de entre ellas la que tuviera menor resistencia a la difusión. Las mediciones de oxígeno disuelto se llevaron a cabo haciendo recircular el agua a través de los reactores sin biopelícula a diferentes velocidades de recirculación y haciendo pasar una corriente de aire a través de las membranas.

La primera membrana analizada fue una membrana permeable de silicón proporcionada por el Dr. Andrew Livingston del Imperial College of Science, Technology and Medicine, U.K. Este tipo de membrana ha sido utilizada en experimentos similares, y cuyas características son: radio interno de 1.5 mm y espesor de 0.3 mm. Los resultados obtenidos con esta membrana se presentan en la Figura 3.4. y se encuentran reportados en la tabla 1 del Apéndice 1. En el Apéndice 2 se muestra el estudio estructural realizado a esta membrana en el Instituto Mexicano del Petróleo.

Se realizaron mediciones de oxígeno disuelto para flujos de recirculación de agua de 0.35, 0.6, 1.0 y 2.0 ml/min y se encontró que al ir aumentando la velocidad de recirculación de líquido va aumentando la velocidad con la que el oxígeno se transfiere a la fase líquida y se disuelve en ella. Con un flujo de recirculación de 2.0 ml/min la concentración de oxígeno en el líquido se incrementa más rápido que

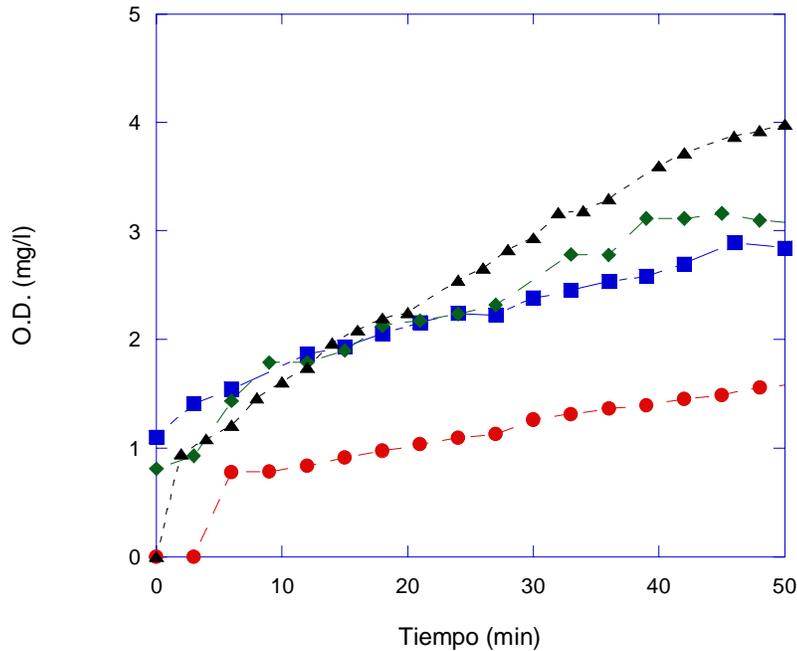


Fig. 3.4. Difusión a través de membrana de silicón sin biopelícula. ● - Flujo de agua = 0.35 ml/min, ■ - Flujo de agua = 0.6 ml/min. ◆ - Flujo de agua = 1.0 ml/min. ▲ - Flujo de agua = 2.0 ml/min.

con el resto de las velocidades. Durante el experimento se formaron pequeñas burbujas de oxígeno alrededor de la membrana, de aproximadamente 0.5 mm, las cuales, al aumentar el flujo de recirculación, eran arrastradas en mayor cantidad por el líquido que rodea a la membrana.

La segunda membrana utilizada fue una fibra hueca (hollow fiber) de la compañía PCI Membranas con diámetro de 1.5 mm y espesor de 0.07 mm.

Los resultados obtenidos con esta membrana se presentan en la Figura 3.5. y los datos correspondientes se encuentran reportados en la tabla 2 del Apéndice 1.

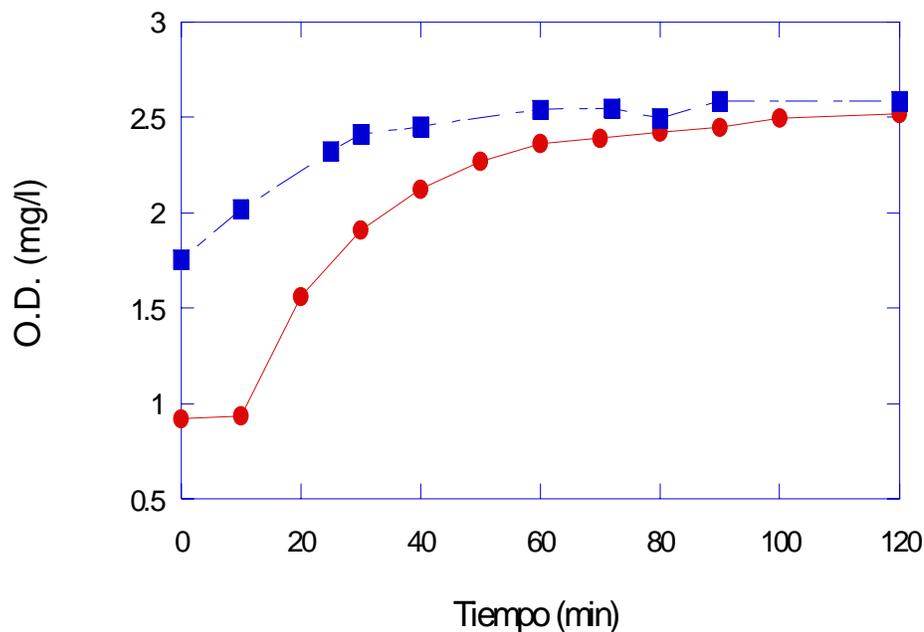


Figura. 3.5. Difusión a través de fibra hueca (hollow fiber) sin biopelícula. ● - Flujo de agua = 1.0 ml/min, ■ - Flujo de agua = 2.0 ml/min

En el caso de la membrana 2 se realizaron mediciones de oxígeno disuelto en el líquido para flujos de recirculación de agua de 1.0 y 2.0 ml/min y como en el caso anterior, un mayor flujo de recirculación presenta un mayor aumento en la concentración de oxígeno disuelto en el líquido con respecto al tiempo.

Al comparar los resultados obtenidos para las dos membranas se observa que la membrana 1 permite una mejor transferencia de oxígeno al líquido que la membrana 2. Al comparar el oxígeno disuelto en el líquido a un tiempo dado (50 minutos), para ambas membranas, se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 3.1. Concentración de O.D. en el líquido para las dos membranas analizadas, a diferentes flujos de recirculación, después de 50 min.

Membrana	Flujo (ml/min)	O. D. (mg/l)
1	0.35	1.6
1	0.60	2.9
1	1.00	3.2
1	2.0	4.0
2	1.0	2.25
2	2.0	2.50

La concentración de OD en el líquido medida de acuerdo con los resultados mostrados en las Figuras 3.4. y 3.5. está dada por la ecuación 3.1:

$$\frac{dC_{Ol}}{dt} = k_l a_v (C_O^* - C_{Ol}) \quad (3.1)$$

Integrando la ecuación 3.1 se obtiene la ecuación de una recta cuya pendiente es el coeficiente de masa interfacial  $k_l a_v$ :

$$\ln(C_O^* - C_{Ol}|_{t=1}) = \ln(C_O^* - C_{Ol}|_{t=2}) - k_l a_v (t_2 - t_1) \quad (3.2)$$

La Figura 3.6. muestra las gráficas correspondientes a cada una de las diferentes velocidades de recirculación para cada membrana y los valores de los diferentes coeficientes de masa interfacial, los cuales aumentan al aumentar la velocidad de recirculación, de acuerdo con la tabla 3.2:

*Tabla 3.2. Coeficientes de transferencia de masa interfacial en las membranas 1 y 2 sin biopelícula.*

Flujo (ml/min)	Membrana 1 (s <sup>-1</sup> )	$k_l a_v$	Membrana 2 (s <sup>-1</sup> )	$k_l a_v$
0.35	0.7898 x 10 <sup>-4</sup>		---	
0.6	1.8377 x 10 <sup>-4</sup>		---	
1.0	2.8432 x 10 <sup>-4</sup>		0.7120 x 10 <sup>-4</sup>	
2.0	4.4867 x 10 <sup>-4</sup>		1.2813 x 10 <sup>-4</sup>	

En la figura 3.6 se muestran las pendientes de las rectas que corresponden al coeficiente de transferencia de masa interfacial multiplicado por el área volumétrica ( $k_l a_v$ ). De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 3.2 y la figura 3.6. se decidió utilizar la membrana de silicón para realizar el resto de los experimentos.

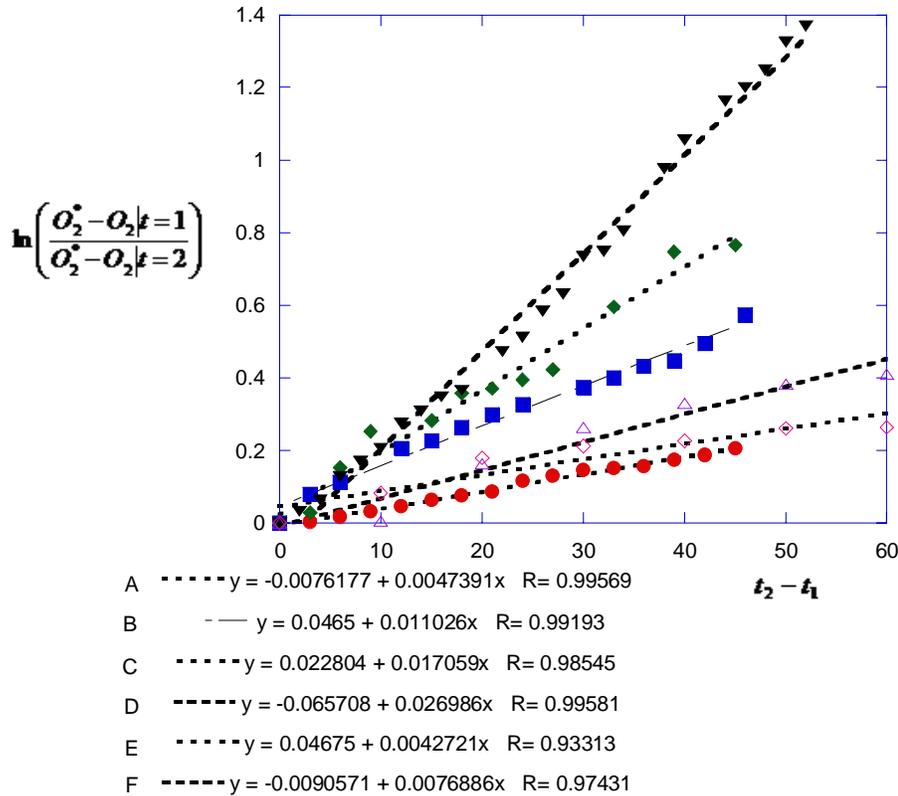


Figura 3.6. Cálculo de  $k_a$ , en membrana de silicón sin biopelícula: A ● - Flujo de agua = 0.35 ml/min, B ■ - Flujo de agua = 0.6 ml/min, C ◆ - Flujo de agua = 1.0 ml/min, D ▼ - Flujo de agua = 2.0 ml/min. Membrana hueca sin biopelícula: E ◇ - Flujo de agua = 1 ml/min, F △ - Flujo de agua 2 ml/min.

### 3.4. Experimentos a diferentes velocidades de recirculación

Con el objeto de estudiar el comportamiento de una biopelícula sometida a diferentes flujos de recirculación, que ocasionan diferentes esfuerzos de cortes, se llevaron a cabo dos series de experimentos: la primera serie se llevó a cabo alimentando aire a través de la membrana y la segunda alimentando oxígeno a través de la membrana y burbujeando aire por el líquido. Los flujos de recirculación se variaron entre 20 y 350 ml / min.

#### 3.4.1. Alimentación de aire por la membrana

La primera serie de experimentos se llevó a cabo en el Reactor # 3, suministrando aire a través de la membrana, el espesor de la biopelícula fue de aproximadamente 2.0 mm y las pruebas se realizaron a una temperatura de 24 °C y pH = 7.2. La recirculación es completa y los datos se analizaron por un período de 100 horas. Los flujos estudiados fueron: 20, 60, 120 y 350 ml/min.

Los resultados obtenidos se presentan en las figuras 3.7 y 3.8 y en las tablas 3 a 7 del Apéndice 1.

En la figura 3.7 se muestra una comparación de la concentración de sustrato a través del tiempo para los cuatro flujos estudiados; la tendencia muestra que el consumo de sustrato aumenta al aumentar la velocidad de recirculación.

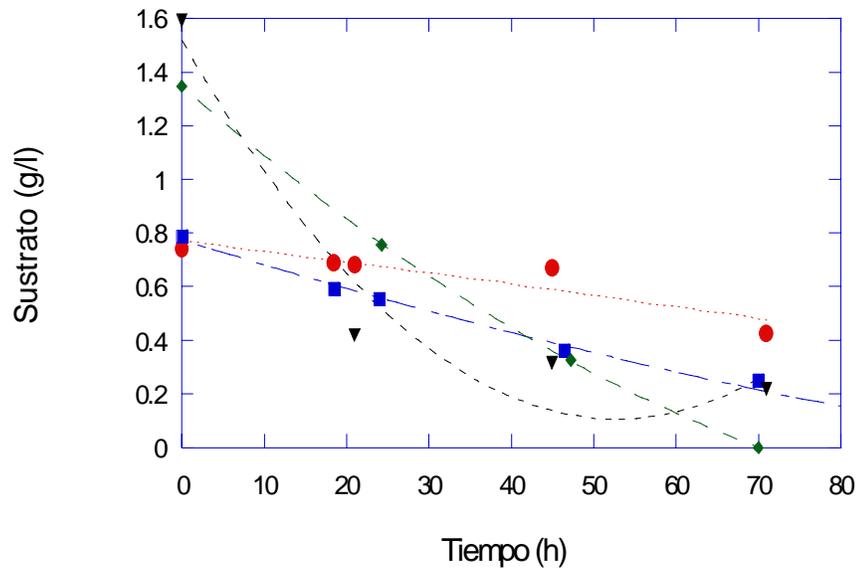


Figura 3.7. Concentración de sustrato a diferentes flujos de recirculación con alimentación de aire a través de la membrana. ● - 20 ml/min, ■ - 60 ml/min, ◆ - 120 ml/min, ▼ - 350 ml/min.

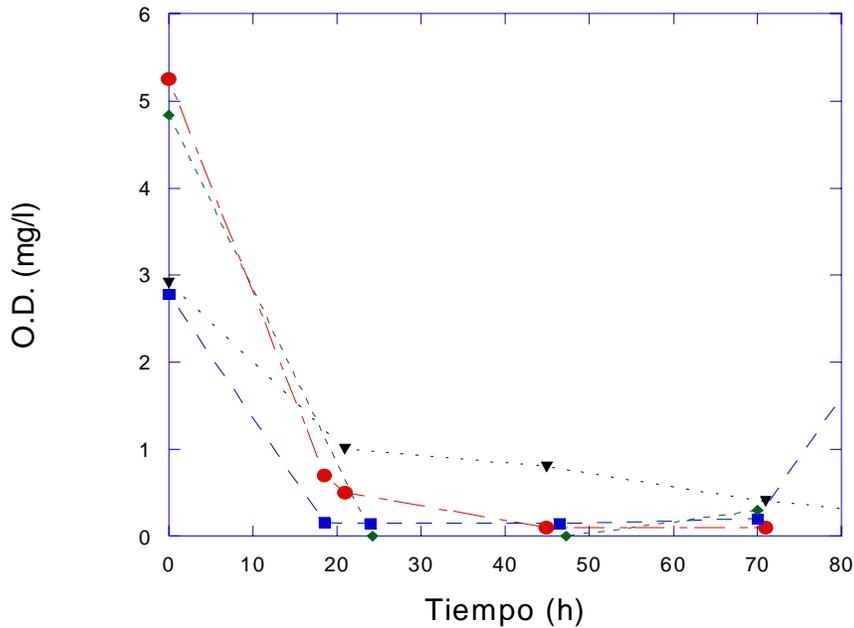


Figura 3.8. Concentración de sustrato a diferentes flujos de recirculación con alimentación de aire a través de la membrana. ● - 20 ml/min, ■ - 60 ml/min, ◆ - 120 ml/min, ▼ - 350 ml/min.

Con el propósito de analizar los resultados experimentales se han calculado y graficado las conversiones de sustrato para los diferentes casos. La conversión se define como la diferencia entre la concentración inicial menos la concentración a un tiempo (t) dividido entre la concentración inicial, y se expresa como un porcentaje de la alimentación:

$$\text{Conversión} = \frac{C(t=0) - C(t)}{C(t=0)} \quad (3.3)$$

La Figura 3.9 muestra las conversiones para los cuatro flujos analizados, en ésta se observa que la conversión de sustrato aumenta al aumentar la velocidad de recirculación. Esto se debe a que al aumentar la velocidad, aumenta el Número de Reynolds, lo cual produce una disminución en el espesor de la capa límite; y dado que el coeficiente de masa interfacial es inversamente proporcional al espesor de capa límite, éste aumenta al aumentar la velocidad; por lo tanto el sustrato atraviesa más rápido la interfase líquido-biopelícula.

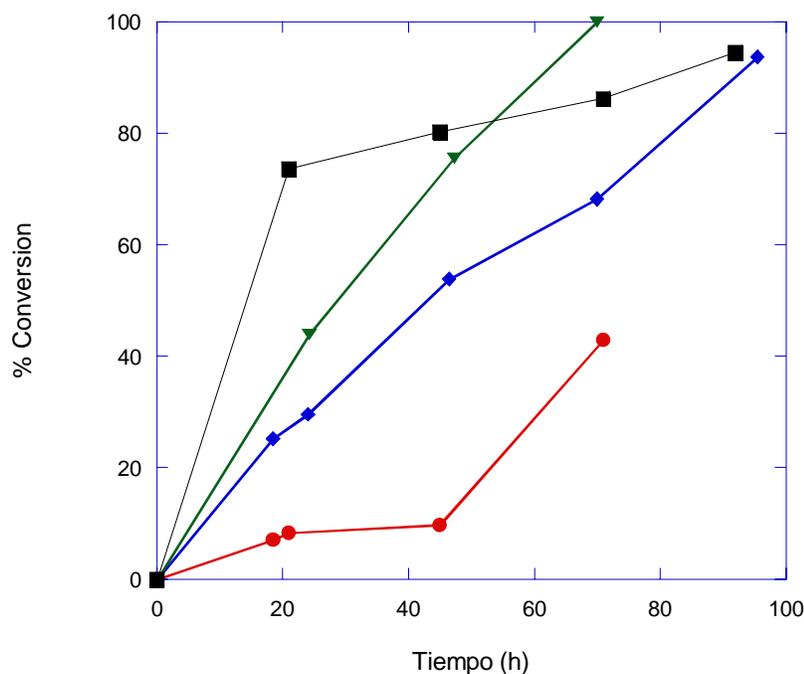


Figura 3.9. Conversión de sustrato para diferentes flujos de recirculación con alimentación continua de aire a través de la membrana. ● - 20 ml/min, ◆ - 60 ml/min, ▼ - 120 ml/min, ■ - 350 ml/min.

### 3.4.2. Alimentación de oxígeno a través de la membrana y burbujeo de aire en el líquido.

Dado que las tendencias observadas en los experimentos a diferentes flujos alimentando aire por la membrana no presentan una tendencia clara, se repitieron

los experimentos anteriores proporcionando oxígeno a la biopelícula a través de la membrana y burbujeando aire en el líquido. Dichos experimentos se realizaron en el Reactor # 4 bajo las mismas condiciones descritas en el inciso 3.4.1, para el cual el espesor de la biopelícula fue de 2.5 mm, y los flujos utilizados fueron 30, 120 y 350 ml/min; los resultados obtenidos se presentan en las tablas 7, 8 y 9 del Apéndice 1.

La Figura 3.10 presenta la comparación entre la concentración de sustrato a diferentes tiempos para los tres flujos de recirculación estudiados y en ella se observa una tendencia más clara que la del inciso anterior, ya que en esta caso el flujo más alto de recirculación presenta consumos mayores de sustrato durante todo el período de prueba, seguido por el flujo intermedio y por último el flujo de recirculación más bajo presenta un consumo de sustrato más lento. Como se comentó en el inciso anterior en el que se compararon los consumos de sustrato a diferentes velocidades de recirculación, alimentando aire

continuamente por la membrana, pero sin burbujear aire en el líquido; el aumento en el consumo de sustrato se debe a que aumentar la velocidad de recirculación se aumenta el número de Reynolds y por lo tanto el coeficiente de transferencia de masa interfacial en la interfase líquido-biopelícula.

Alimentar oxígeno por la membrana y burbujear aire en el líquido produce tasas de consumo de sustrato más altas que alimentar aire por la membrana, esto hace que los resultados experimentales sean más precisos y se observe mejor la comparación entre los diferentes flujos de recirculación.

La figura 3.11 confirma las observaciones mencionadas cuando éstas se analizan en términos de la conversión de sustrato para los tres flujos estudiados, alimentando continuamente oxígeno por la membrana y burbujear aire en el líquido. Si comparamos las tasas de conversión, después de una hora de reacción, para cada una de las corridas experimentales, observamos que la corrida a 120 ml/min presenta una tasa de reacción aproximadamente del doble de la tasa de reacción correspondiente a 30 ml/min y la corrida a 350 ml/min presenta una tasa de reacción de aproximadamente el doble de la corrida a 120 ml/min. El capítulo 7 presenta un estudio detallado de estos resultados experimentales y su justificación teórica, aquí solo se analizan brevemente estos resultados.

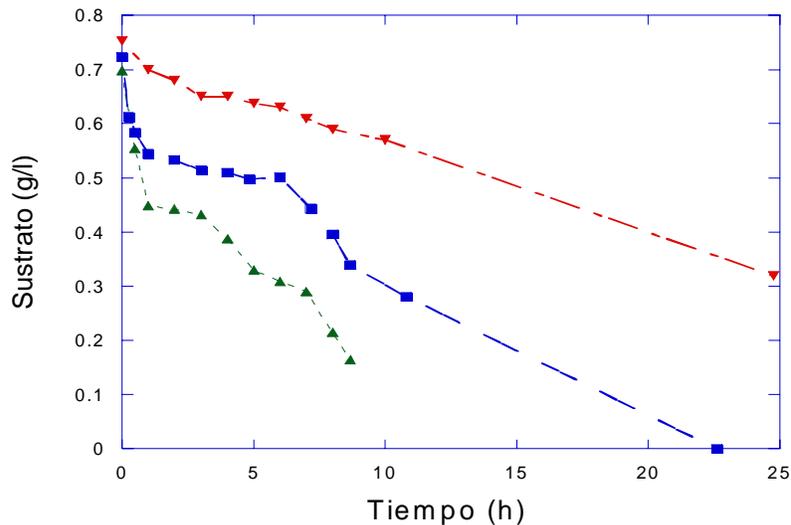


Figura 3.10. Comparación entre el consumo de sustrato a través del tiempo para tres diferentes flujos de recirculación, alimentando oxígeno a través de la membrana y burbujear aire por el líquido. ▼ - 30 ml/min, ■ - 120 ml/min, ▲ - 350 ml/min.

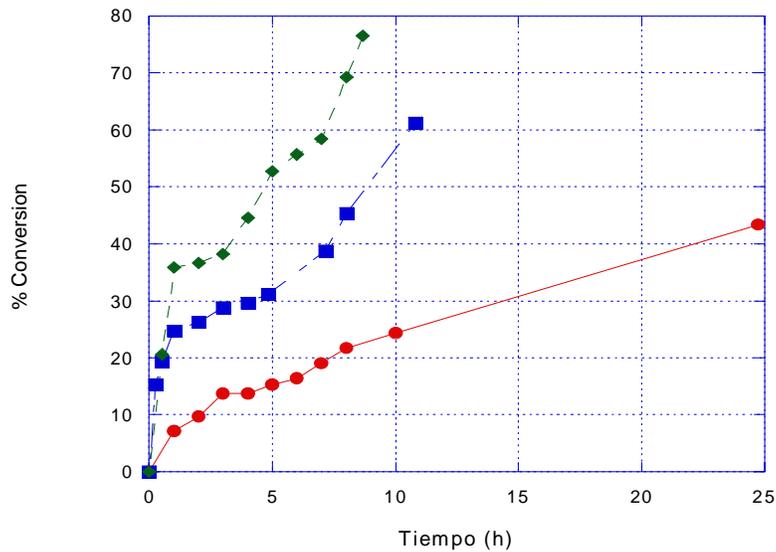


Figura 3.11. Comparación entre la conversión de sustrato a través del tiempo para tres diferentes flujos de recirculación, alimentando oxígeno a través de la membrana y burbujeando aire por el líquido. ● - 30 ml/min, ■ - 120 ml/min, ◆ - 350 ml/min.

### 3.5 Experimentos a diferentes concentraciones iniciales de sustrato

Se realizaron dos grupos de experimentos para estudiar la influencia de la concentración inicial de sustrato en la velocidad de consumo del mismo por la biopelícula. El primer grupo de experimentos se realizó alimentado únicamente aire a través de la membrana y el segundo grupo alimentando oxígeno por la membrana y burbujeando aire en el líquido.

#### 3.5.1. Alimentación de aire a través de la membrana.

Los experimentos para estudiar el comportamiento de la biopelícula a diferentes concentraciones iniciales de sustrato, alimentado aire por la membrana, se llevaron a cabo en el Reactor # 1 con una biopelícula de espesor de 0.5 mm, a una temperatura de 24 °C, pH= 7.5 y un flujo de recirculación de 120 ml/min y los datos se analizaron por un período de 100 horas aproximadamente. Se analizaron tres diferentes concentraciones iniciales de sustrato: 0.8, 1.4 y 2.0 g/l; los resultados se presentan en las tablas 10, 11 y 12 del Apéndice 1.

La figura 3.12 muestra la comparación entre el consumo de sustrato presentado por las tres diferentes concentraciones iniciales estudiadas y no se observa una tendencia muy clara al comparar los resultados de las tres concentraciones iniciales de sustrato. En cuanto a las concentraciones de oxígeno disuelto obtenidas tampoco se observa una tendencia clara, ya que en

la concentración inicial intermedia, la concentración de oxígeno en el líquido se mantuvo en niveles cercanos a 2 mg/l, mientras que en los otros dos casos se agotó, como se muestra en la Figura 3.13.

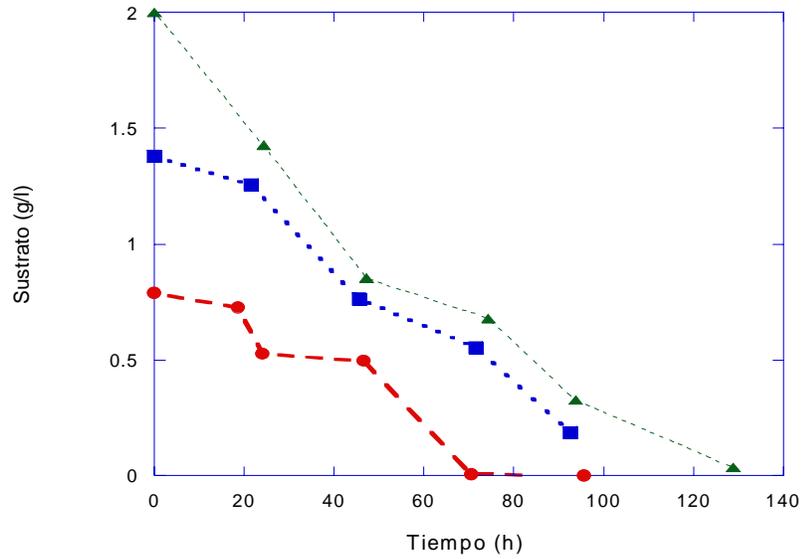


Figura 3.12. Comparación entre la concentración de sustrato a través del tiempo para tres diferentes concentraciones iniciales, alimentando aire a través de la membrana. ● - 0.5 g/l, ◆ - 1.0 g/l, ▲ - 2.0 g/l.

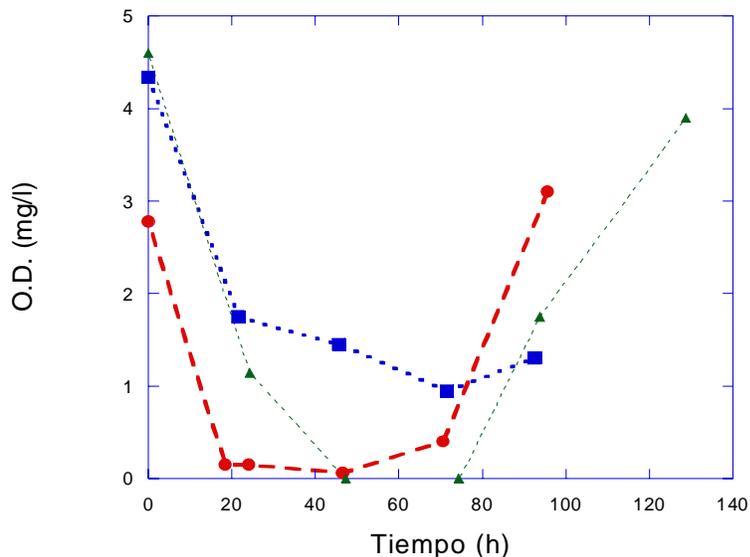


Figura 3.13. Comparación entre la concentración de O.D. a través del tiempo para tres diferentes concentraciones iniciales, alimentando aire a través de la membrana. ● - 0.5 g/l, ■ - 1.0 g/l, ▲ - 2.0 g/l.

### 3.5.2. Alimentación de oxígeno a través de la membrana y burbujeando de aire en el líquido.

Debido a que los experimentos para estudiar la influencia de la concentración inicial de sustrato sobre la velocidad de consumo utilizando aire por la membrana no fueron determinantes, se decidió repetir esta serie de experimentos utilizando oxígeno a través de la membrana y burbujeando aire en el líquido. Las corridas se realizaron en el Reactor # 4 con un flujo de recirculación de 350 ml/min, una biopelícula con un espesor de 3.0 mm, una temperatura de 24 °C y un pH = 7.3. Las concentraciones iniciales analizadas fueron 0.23 g/l, 0.6 g/l y 2.6 g/l. Los resultados obtenidos con las tres diferentes concentraciones iniciales de sustrato se presentan en las tablas 13 a 15 del Apéndice 1. En caso de una concentración inicial intermedia es donde se observa un mayor consumo de oxígeno, ya que la concentración de oxígeno disuelto en el líquido disminuye hasta cero en la mayor parte del experimento; lo cual no ocurre en ninguno de los otros dos casos, el concentración inicial baja, ni el de concentración inicial alta, en donde el oxígeno disuelto disminuye lentamente y no llegó a cero durante todo el experimento.

La figura 3.14 muestra la comparación entre el consumo de sustrato para cada uno de los tres casos y en la figura 3.15 se comparan las conversiones obtenidas para cada uno de ellos; en esta se observa que la concentración inicial intermedia de sustrato fue la que presentó conversiones más altas de sustrato, principalmente en la fase inicial de reacción. Esta baja tasa de reacción en la concentración inicial alta no se debe a falta de oxígeno, debido a

que éste se encuentra en el líquido en mayores cantidades que en el caso de la concentración inicial intermedia.

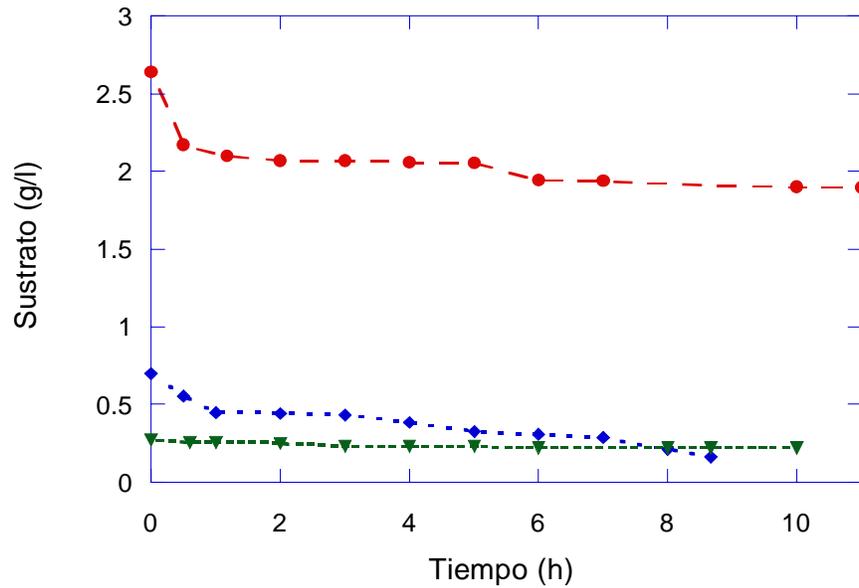


Figura 3.14. Comparación entre el consumo de sustrato a través del tiempo para tres diferentes concentraciones iniciales de sustrato, alimentando oxígeno a través de la membrana y aire por el líquido. ● - alto, ◆ - medio, ▼ -bajo.

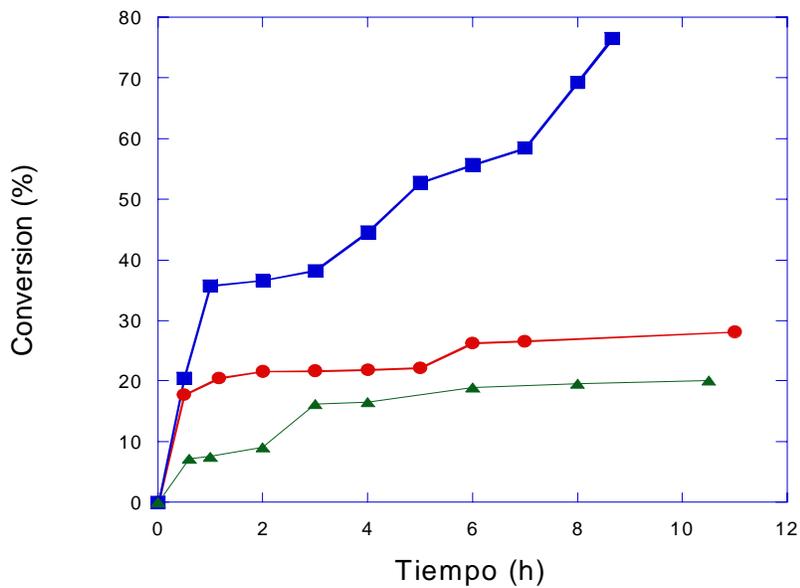


Figura 3.15. Comparación entre la conversión de sustrato a través del tiempo para tres diferentes concentraciones iniciales de sustrato, alimentando oxígeno a través de la membrana y aire por el líquido. ● - alto, ■ - medio, ▲ -bajo.

### 3.6 Los Experimentos a diferentes espesores de biopelícula

Los experimentos realizados con diferentes espesores de biopelícula se llevaron a cabo en los reactores 1 y 3, el primero con una biopelícula de espesor de 0.5 mm y el segundo con una biopelícula de 2.0 mm. Ambos experimentos se realizaron alimentando aire a través de la membrana, con un flujo de recirculación de 120 ml/min, una temperatura de 24 °C y un pH = 7.6.

El espesor de la biopelícula se midió utilizando el método no destructivo propuesto por el Dr. Livingston y sus colaboradores (Freitas dos Santos and Livingston, 1995). Se utilizó un proyector de diapositivas Elmo serie 300 y se midió la sombra reflejada por la biopelícula en una pantalla.

La figura 3.16 muestra la evolución de la concentración de sustrato a través del tiempo para los dos espesores de biopelícula estudiados y las respectivas concentraciones de oxígeno disuelto en el líquido. En ambos casos se observa que el oxígeno disuelto en el líquido (aunque presenta diferentes concentraciones al inicio), baja a concentraciones de cero cerca de las 20 horas después de iniciada la reacción y después, también en ambos casos, la concentración de oxígeno aumenta cuando la concentración de sustrato ya es muy baja. En cuanto a la concentración de sustrato en el líquido, se observa un mayor consumo de éste en la biopelícula de mayor espesor.

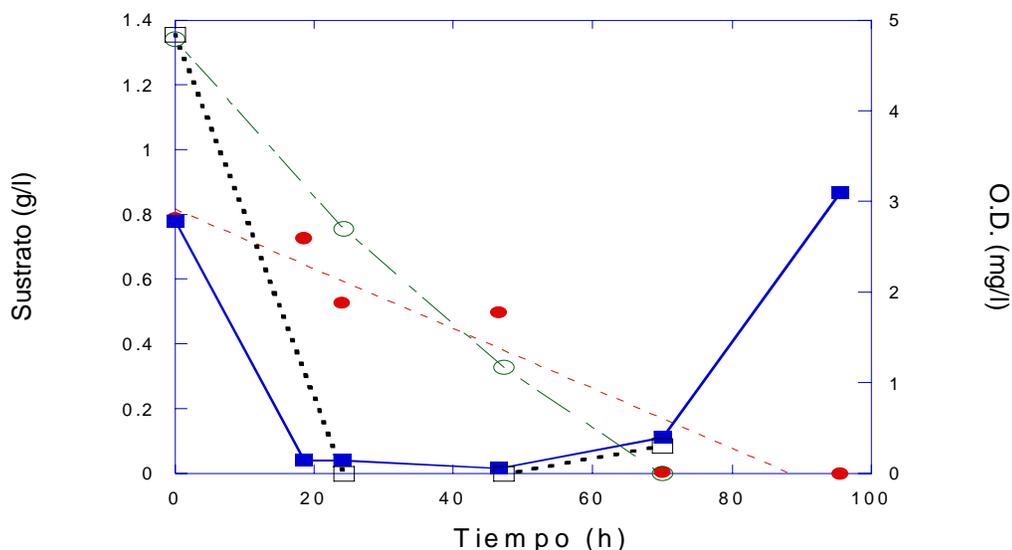


Figura 3.18. Comparación entre la concentración de sustrato y el OD a diferentes espesores de biopelícula. ● – Sustrato espesor 0.5 mm, ○ – Sustrato espesor 2.0 mm, ■ – Oxígeno espesor 0.5 mm, □ - Oxígeno espesor 2.0 mm.

La figura 3.19 muestra la conversión de sustrato para los dos espesores estudiados y en ella se observa que la conversión presentada por la biopelícula de mayor espesor es mayor que la de la biopelícula más delgada durante todo el tiempo de reacción. Esto se debe a que la cantidad de biomasa es mayor en la biopelícula con mayor espesor. Este resultado no concuerda con lo reportado por algunos autores (Livingston, et al., 1998, Nicolella, et al., 2000), los cuales encuentran que las biopelículas más efectivas en cuanto a conversión de sustrato son de espesores mucho menores (aproximadamente 1 mm); sin embargo si se toma en cuenta la estructura heterogénea de la biopelícula, en la cual la mayoría de las células tienen acceso a sustrato y oxígeno, entonces es adecuado suponer que una biopelícula con mayor concentración de biomasa consume una mayor cantidad de sustrato. Estas diferencias de conversión entre las dos biopelículas de diferente espesor, indican que toda la biopelícula es activa y que por lo tanto las resistencias difusionales no son tan severas. En el Capítulo 8 se presenta un estudio más detallado acerca del espesor de la biopelícula y el espesor óptimo encontrado utilizando el modelo homogéneo.

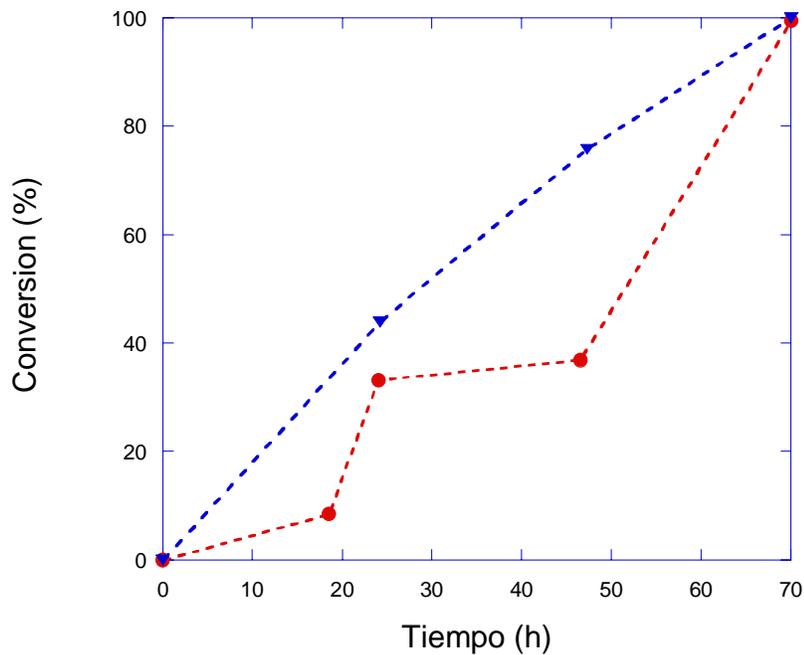


Figura 3.19. Comparación entre la conversión de sustrato a dos diferentes espesores de biopelícula. ● – Conversión espesor 0.5 mm, ▼ Conversión espesor 2.0 mm.

### 3.7 Los experimentos con diferentes formas de suministro de oxígeno

Se realizaron experimentos para estudiar la manera en que influye la forma de suministrar oxígeno a una biopelícula sobre el consumo de sustrato por la biopelícula. Se analizaron cinco diferentes formas de alimentar aire y/u oxígeno a la biopelícula, algunas únicamente por la membrana y otras tanto por la membrana como en el líquido. Al finalizar las corridas se desarmó el biorreactor, se desprendió la biopelícula, se colocó en un matraz y se rompió la biopelícula por agitación para deshacerla y estudiar el consumo de sustrato de las mismas células que formaban a esta biopelícula, pero ahora en un proceso de célula en suspensión. En esta sección se presentan los resultados obtenidos para todos estos casos de suministrar oxígeno a la biopelícula y para el caso en que las células se encuentran libres, en suspensión.

Las corridas experimentales se llevaron a cabo sucesivamente en el mismo reactor, utilizando un flujo de recirculación de 120 ml/min, a una temperatura de 24°C, un pH que varió entre 7.1 y 7.6 y con el tanque de recirculación anexo. El espesor de la biopelícula fue de 0.3 mm y no cambió considerablemente. Las combinaciones estudiadas se muestran en la Tabla 3.3:

*Tabla 3.3. Diferentes formas de suministro de oxígeno a una biopelícula analizadas experimentalmente*

<b>Caso</b>	<b>membrana</b>	<b>líquido</b>
<b>1</b>	<b>Aire</b>	<b>- - - -</b>
<b>2</b>	<b>aire</b>	<b>aire</b>
<b>3</b>	<b>Oxígeno</b>	<b>- - - -</b>
<b>4</b>	<b>Oxígeno</b>	<b>aire</b>
<b>5</b>	<b>N<sub>2</sub></b>	<b>aire</b>
<b>6</b>	<b>Sin memb.</b>	<b>Células libres</b>

Cuando no se deseó suministrar oxígeno ni aire por el interior de la membrana se hizo pasar una corriente de nitrógeno a través de la misma para que no se colapsara debido a la mayor presión del líquido externo sobre ella. Los resultados obtenidos de consumo de sustrato y oxígeno disuelto en el líquido a través del tiempo, para los cinco primeros casos, se presentan en las tablas 16 a 20 del Apéndice 1 y en la Figura 3.20, en donde aparece la concentración de sustrato en el tiempo para los casos 1 a 5 y en la Figura 3.21, en donde aparece la concentración de O.D. en el líquido a través del tiempo para los mismos casos. Las muestras para análisis se obtuvieron a la salida del reactor, al igual que en todos los experimentos.

Los resultados correspondientes al caso 1, de alimentación de aire por el interior de la membrana, muestran que el sustrato se consume muy lentamente, ya que para que éste se consumiera totalmente tuvieron que transcurrir más de 60 horas. La concentración de oxígeno disuelto en el líquido disminuye lentamente hasta llegar casi a cero, sin embargo el sustrato continua consumiéndose mediante la utilización del oxígeno del aire proveniente de la membrana. Cuando la concentración de sustrato es muy baja, el oxígeno disuelto atraviesa la biopelícula hasta llegar al líquido.

En el caso 2, correspondiente a la alimentación de aire por el interior de la membrana y burbujeando aire en el líquido contenido en el tanque agitado anexo al reactor, el tiempo de consumo de sustrato fue mucho menor que el del caso anterior, lo cual nos indica que el suministro de aire por burbujeo es importante. Además el oxígeno disuelto en el líquido aumentó al principio de la reacción y se mantuvo en una concentración cercana a la concentración de equilibrio durante toda la corrida experimental.

En el caso 3 en que se alimentó únicamente oxígeno por el interior de la membrana, se presentó aparentemente una fuga de oxígeno en la membrana en el líquido externo, por la lectura tan alta de la medida de oxígeno disuelto, por lo que los resultados correspondientes al oxígeno no se consideran adecuados, sin embargo el consumo de sustrato aparentemente no se vio afectado por esto.

Para el caso 4, en el cual se alimentó oxígeno por el interior de la membrana y se burbujeó aire en el tanque anexo al reactor se presentaron las mayores tasas de consumo de todos los casos estudiados durante los primeros minutos.

En la figura 3.20 se presenta la comparación del consumo de sustrato para los cinco casos estudiados, el cual fue muy diferente. El consumo de sustrato para el caso aire por membrana (Caso 1) resultó ser el menos eficiente de todos. Le sigue el Caso 5 donde se alimenta aire únicamente a través del líquido. Los casos 2 (aire-aire) y 3 (oxígeno por membrana) presentan tasas de consumo muy similares durante las primeras 3 horas, pero posteriormente el caso 2 (aire-aire) continúa con una tasa de consumo similar hasta las 5 horas, mientras que en el caso 3 la velocidad de consumo disminuye después de las tres primeras horas. El mejor de los casos, durante los primeros 30 minutos de operación, fue el caso 4, (oxígeno por membrana y aire por líquido) ya que presentó un consumo muy alto de sustrato durante este período. Estos resultados sugieren que este último caso podría ser optimizado en cuanto a su operación, y sería el mejor candidato para sustituir al caso convencional de células inmovilizadas. Esto se reafirma en la Figura 3.23, que muestra las curvas de conversión de sustrato a través del tiempo para los cinco casos de estudio presentados en esta sección. Si se comparan los casos 1 (aire por membrana) y 5 (aire por líquido) se observa que es mejor proporcionar aire a la biopelícula burbujeándolo por el líquido que hacerlo a través de la membrana. El transporte de masa es más rápido cuando el sustrato y el oxígeno penetran en una pequeña porción de la biopelícula cercana a la interfase con el líquido, donde ambos son consumidos cerca de ésta, a que el sustrato difunda al

interior de la biopelícula por el lado opuesto al que lo hace el oxígeno. Al alimentar aire por la membrana, el oxígeno atraviesa la pared de la membrana y luego la biopelícula, hasta encontrarse con el sustrato que ha difundido por el lado opuesto, para que ambos sean consumidos en algún lugar en el interior de la biopelícula.

Al comparar los casos 1 y 3, en los que se suministra aire y oxígeno por membrana respectivamente, observamos que durante las primeras horas de reacción el caso 3 presenta tasas de consumo casi 40 veces las del caso 1, debido a que utilizar oxígeno por el interior de la membrana es mucho más eficiente que utilizar aire.

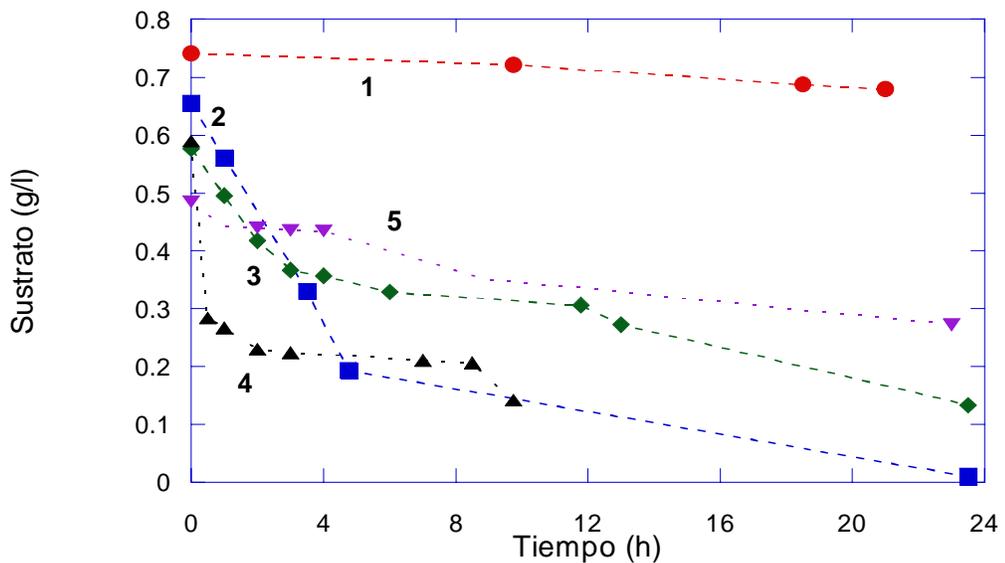


Figura 3.21. Comparación de concentración de sustrato en el tiempo para las cinco diferentes formas de alimentar oxígeno a la biopelícula. 1 ● - Aire por membrana, 2 ■ - Aire-aire, 3 ◆ - oxígeno por membrana, 4 ▲ - oxígeno - aire, 5 ▼ - Aire por líquido.

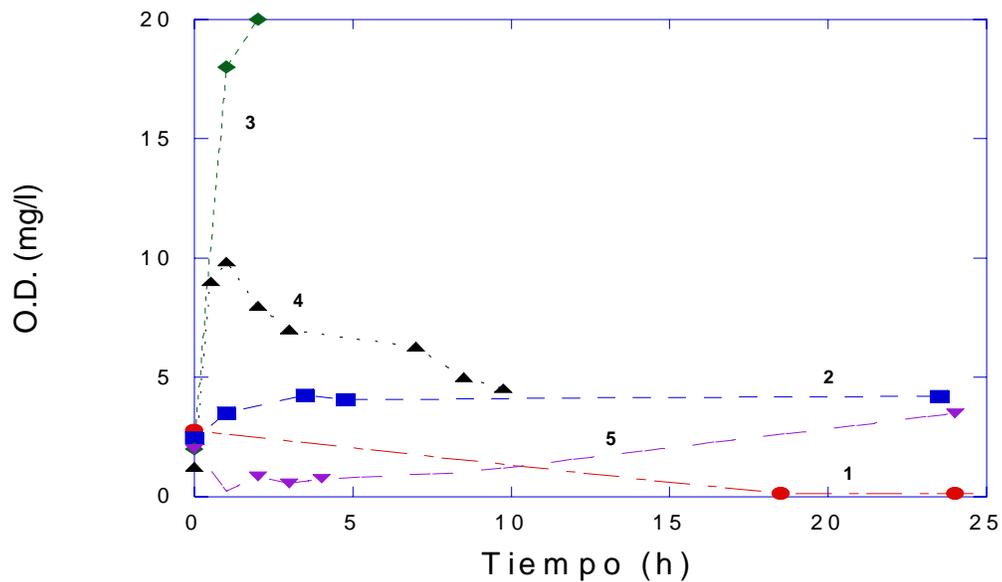


Figura 3.22. Comparación de concentración de oxígeno disuelto en el tiempo para las cinco diferentes formas de alimentar oxígeno a la biopelícula. 1 ● - Aire por membrana, 2 ■ - Aire-aire, 3 ◆ - oxígeno por membrana, 4 ▲ - oxígeno - aire, 5 ▼ - Aire por líquido.

De manera similar, durante la primera hora de reacción, el caso 4 (oxígeno - aire) presenta una tasa de consumo tres veces mayor a la del caso 2 (aire-aire) lo cual corrobora que utilizar oxígeno por la membrana es mejor que utilizar aire. Alimentar oxígeno por el interior de la membrana permite que se llegue a concentraciones de oxígeno mayores en la interfase membrana-biopelícula que las que llegan si se utiliza aire, esto asegura que las concentraciones de oxígeno en la zona de la biopelícula cercana a la interfase con la membrana serán más altas utilizando oxígeno.

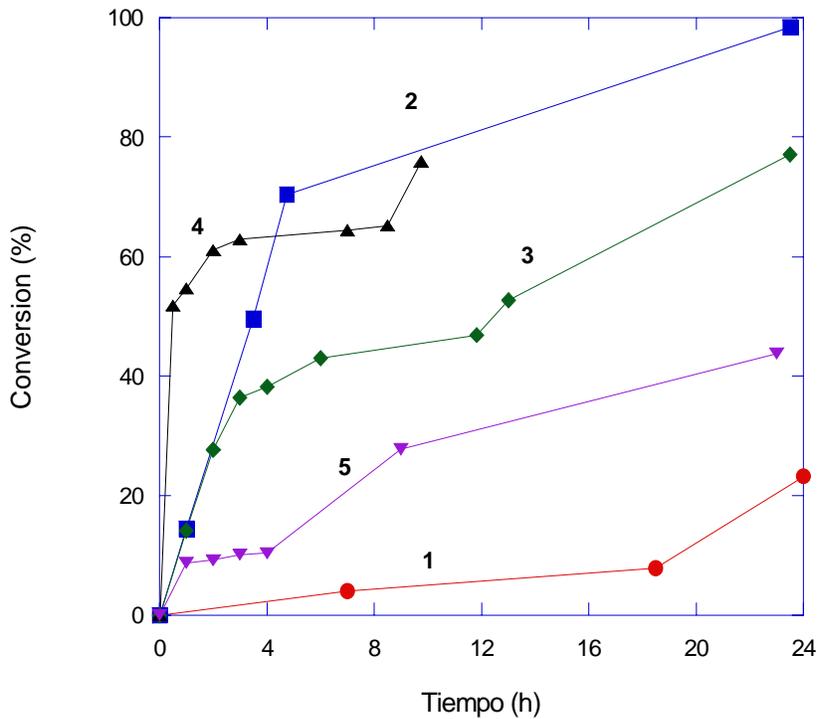


Figura. 3.23. Conversión de sustrato a través del tiempo para los 5 casos de estudio.

● -1- Aire por membrana, ■ -2- Aire-aire, ◆ -3 - oxígeno por membrana, ▲ -4- oxígeno - aire, ▼ - 5- Aire por líquido.

Los resultados obtenidos durante las primeras horas de reacción para los casos 2 (aire-aire) y 3 (oxígeno por membrana) son muy similares; sus tasas de consumo durante la primera hora de reacción son aproximadamente de 0.09 y 0.08 g/cm<sup>3</sup>h, respectivamente, calculados como la pendiente entre los puntos próximos a este intervalo. Sin embargo, después de 3 horas de iniciada la reacción la tasa de consumo de sustrato del caso 3 comienza a disminuir y la del caso 2 se mantiene similar a la de las primeras horas. En la Figura 3.24 se muestran las tasas de difusión-reacción para los cinco casos, después de 1 hora de iniciada la reacción. Alimentar oxígeno a la biopelícula tanto por la membrana como por el líquido permite que el consumo de sustrato se lleve a cabo en una mayor zona al interior de la biopelícula. (Ver perfiles calculados al interior de la biopelícula, en el capítulo 6).

Al observar los resultados de los caso 3 (oxígeno por membrana) y 4 (oxígeno - aire) vemos que durante los primeros 30 minutos de reacción el caso 4 presenta un consumo muy alto de sustrato debido a que existe un mayor volumen de biopelícula activa. Por tanto, si deseamos obtener mejores conversiones de sustrato en un menor tiempo, es mejor suministrar oxígeno por la membrana y airear el líquido.

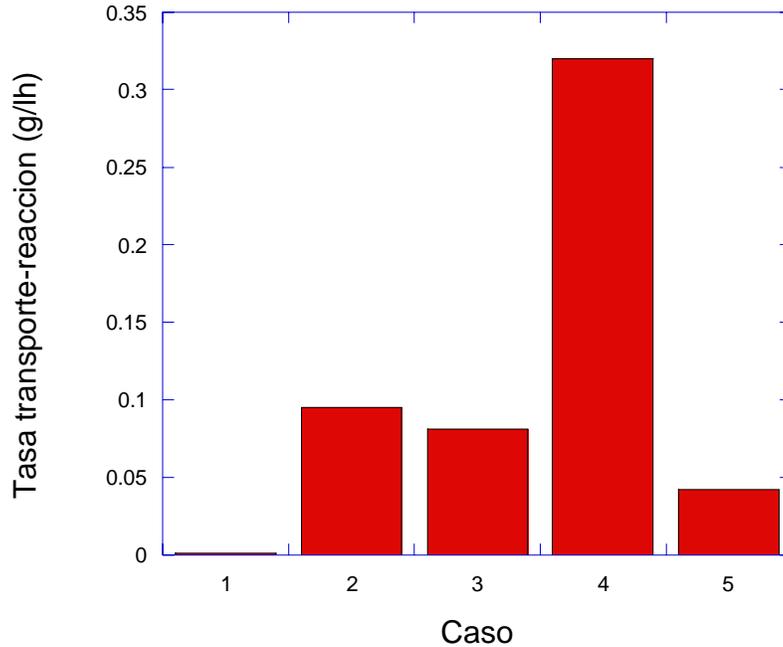


Figura. 3.24. Tasa de difusión-reacción de sustrato después de 1 hora de iniciada reacción para los 5 casos de estudio. 1- Aire por membrana, 2- Aire-aire, 3 - oxígeno por membrana, 4- oxígeno – aire, 5- Aire por líquido.

### 3.7.1. El desempeño de las células libres versus la biopelícula

Con el fin de comparar la eficiencia de una biopelícula con respecto a las células en suspensión, al finalizar las corridas experimentales se desprendió la biopelícula de la membrana, se introdujo en un matraz con una solución de acetato de sodio preparada igual que en los casos anteriores y se agitó para romper la biopelícula. Se realizó una última corrida, con el mismo volumen de líquido que en el caso del biorreactor de membrana, haciendo trabajar a las células en suspensión y analizando el consumo de sustrato y el oxígeno disuelto de la misma manera que para los cinco casos anteriores. La comparación entre los consumos de sustrato para las células suspendidas y la biopelícula alimentada por aire a través de la membrana (el peor caso de entre los cinco estudiados), se muestra en la Figura 3.25 y la comparación entre las concentraciones de oxígeno disuelto en el líquido para los mismos casos se encuentra en la Figura 3.26.

El consumo de sustrato en ambos casos es similar durante las primeras horas de reacción, pero posteriormente el consumo de sustrato en el caso de las células libres es menor que el de la biopelícula cuando se suministra aire a través de la membrana. En la Figura 3.26 se observa que el nivel de oxígeno disuelto en el líquido para el caso de células libres se mantiene casi constante

mientras que en el caso de la biopelícula el oxígeno disminuye a casi cero y es solo después de 48 horas que se recupera el nivel de oxígeno en el líquido debido a que la concentración de sustrato ha disminuido y el aire ha atravesado toda la biopelícula.

Estos resultados reafirman la existencia de poros al interior de la biopelícula, lo cual facilita la llegada tanto de sustrato como de oxígeno al interior de la misma, ya que de otro modo se esperaría que la difusión a través de la biopelícula disminuyera la velocidad de consumo de las células dentro de ésta, con respecto al consumo de las células libres.

En el capítulo 6 se presenta un estudio más detallado de los resultados presentados en esta sección, complementado con los resultados teóricos obtenidos con los modelos homogéneo y heterogéneo presentados en el capítulo 5.

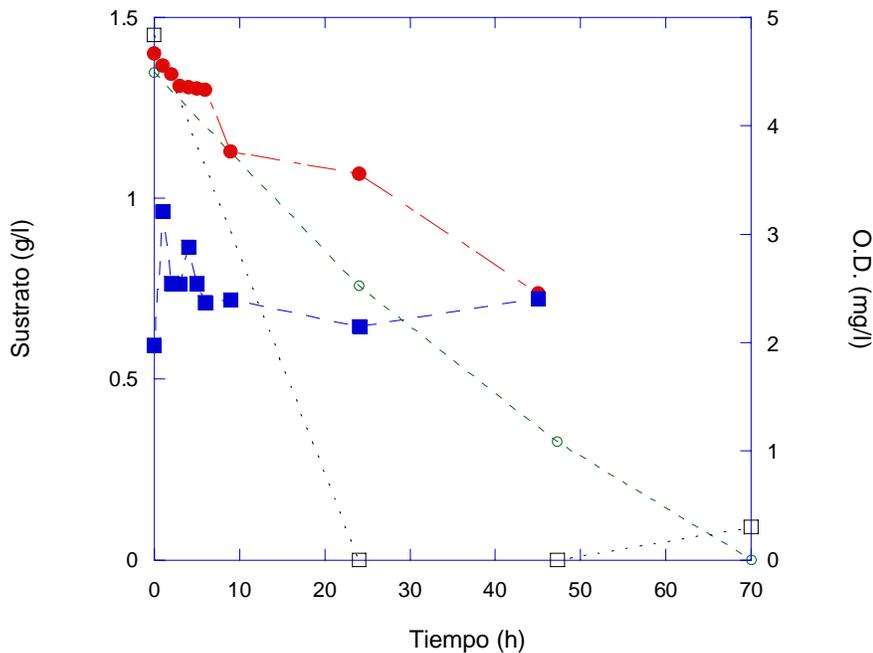


Figura 3.25. Comparación entre el consumo de sustrato en el líquido entre una biopelícula con suministro de aire por membrana y células en suspensión con suministro de aire por burbujeo. ● – Sustrato en células suspendidas, ○- sustrato en biopelícula, ■ – oxígeno en células suspendidas, □ – oxígeno en biopelícula

### 3.8. Los Experimentos dinámicos

Se llevaron a cabo tres experimentos dinámicos para estudiar la variación de la conversión al aumentar repentinamente, con alimentación periódica, en forma de pulso, la concentración de sustrato durante una corrida experimental. En estos experimentos se alimentaron pequeñas cantidades (5 ml) de una solución concentrada de sustrato al reactor, a determinados tiempos de reacción.

Todas las determinaciones se realizaron suministrando oxígeno a través de la membrana y burbujear aire en el líquido, para una biopelícula con espesor de 0.3 mm. Las corridas 1 y 2 se llevaron a cabo con un flujo de recirculación de 120 ml/min y la 3 con una tasa de recirculación de 350 ml/min.

#### 3.8.1. Flujo de recirculación de 120 ml/min

En la primera corrida de esta serie de experimentos a 120 ml/min, se intentó alcanzar una concentración similar a la inicial en cada una de las dos alimentaciones intermedias de sustrato, mientras que en la segunda se alcanzó una concentración de sustrato superior a la inicial en las dos alimentaciones

llevadas a cabo durante la corrida. Estos experimentos se llevaron a cabo en los reactores 3 y 4 a una temperatura de 24 °C. Los resultados se encuentran en las tablas 21 y 22 del Apéndice 1 y se han graficado en las figuras 3.26 y 3.27.

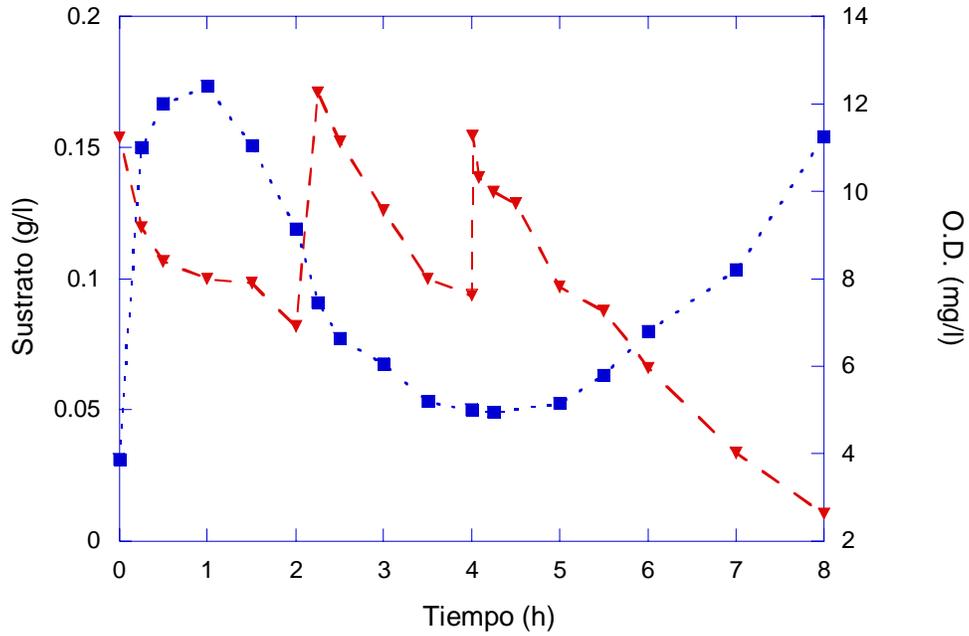


Figura 3.27. Concentración de sustrato y OD a través del tiempo sujetos a una alimentación periódica de sustrato, alimentando continuamente oxígeno por la membrana y aire por el líquido, a un flujo de recirculación de 120 ml/min. ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno.

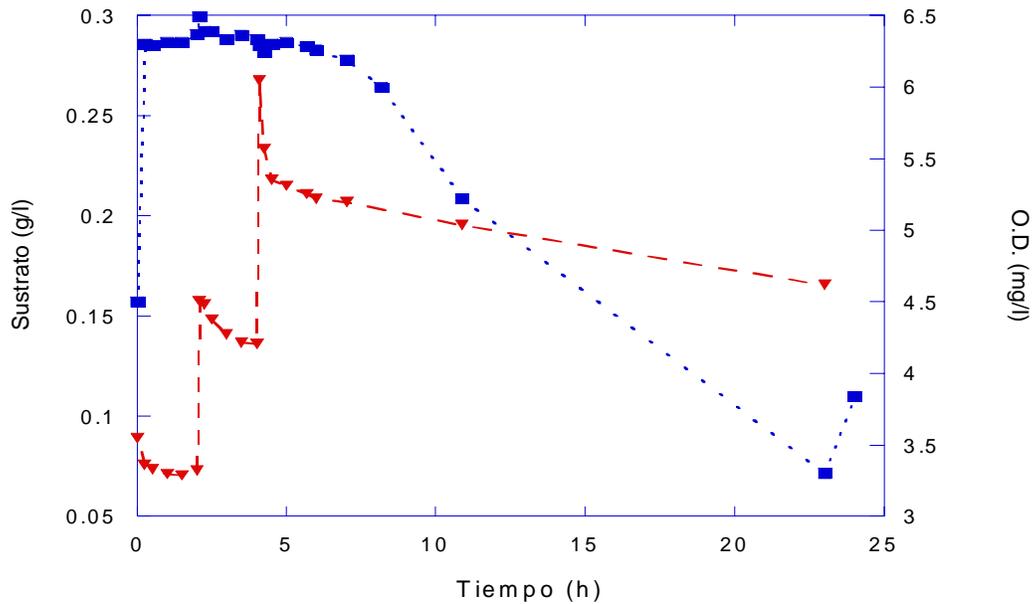


Figura 3.28. Concentración de sustrato y OD a través del tiempo, sujetos a una alimentación periódica de sustrato, alimentando continuamente oxígeno por la membrana y aire por el líquido, a un flujo de recirculación de 120 ml/min. ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno.

### 3.8.2. Flujo de recirculación 350 ml/min

También se llevó a cabo un experimento dinámico con un flujo de recirculación de 350 ml /min en el reactor # 4, a una temperatura de 24 ° C. Los resultados de este experimento se encuentran graficados en la figura 3.29 y en la tabla 23 del Apéndice 1.

En el capítulo 8 se encuentra un estudio detallado del comportamiento dinámico de la biopelícula en el cual se analizan estos resultados experimentales y se comparan con los resultados obtenidos utilizando el modelo homogéneo desarrollado en el capítulo 5.

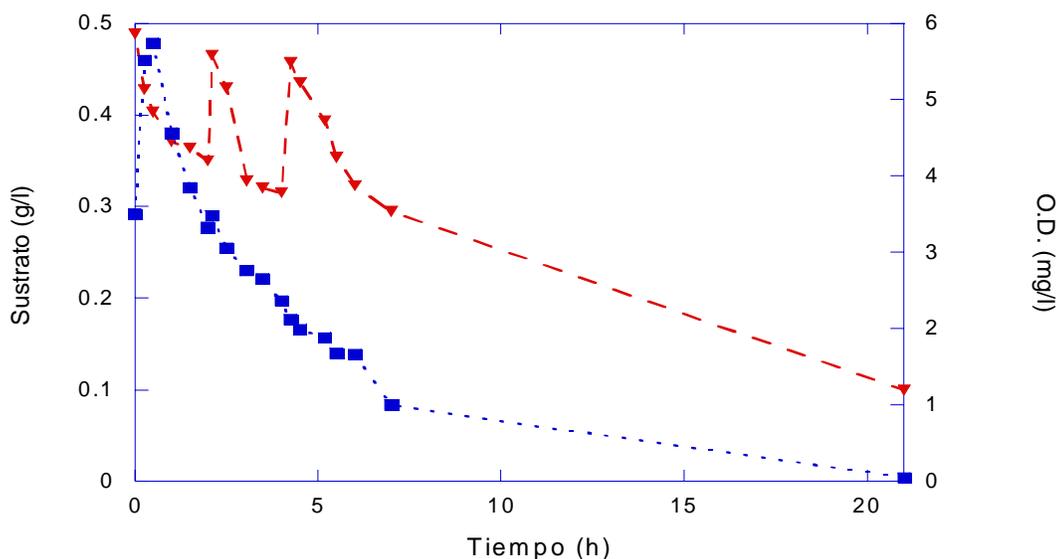


Figura 3.29. Concentración de sustrato y OD a través del tiempo, sujeto a una alimentación periódica de sustrato, alimentando oxígeno por la membrana y aire por el líquido, con flujo de recirculación de 350 ml / min. ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno

### 3.9. La determinación de la densidad y la concentración de biomasa.

La densidad de la biopelícula se obtuvo pesando una probeta con 10 ml de agua destilada y colocando posteriormente la biopelícula en ella húmeda. Entonces, se pesó la probeta nuevamente con la biopelícula y se midió el volumen de agua que ésta había desplazado.

La densidad de la biopelícula se cuantificó en tres ocasiones y se obtuvieron densidades de 0.73 y 0.99 g/l, en base a peso húmedo; estos valores son diferentes ya que la densidad de la biopelícula es función de la edad de la misma y de la velocidad del líquido dentro del reactor.

Para determinar la concentración de biomasa se desprendió la biopelícula de la membrana y se le quitó la mayor parte del líquido posible.

Previamente, utilizando un horno de microondas convencional, se secaron 5 cajas Petri durante 20 minutos a una potencia del horno de 2. El procedimiento se repitió cinco veces hasta que el peso de cada caja fue constante y se hubo registrado. Posteriormente se colocó la biomasa en las cajas. Las cajas se secaron por 20 minutos a una potencia del horno de 2 y se pesaron al terminar. Se secaron durante 5 veces hasta que el peso fue constante. Los resultados obtenidos se encuentran en la tabla 24 del Apéndice 1.

Se obtuvo un peso seco de biomasa de 14.4 g, obtenido a partir de un espesor de biopelícula de 0.32 cm y un volumen de líquido en el reactor de 200 ml. Suponiendo que el 35 % del peso seco obtenido son células, entonces la concentración de biomasa en el reactor fue de 5.04 g. Dado que en el reactor se mantuvo un volumen de líquido de 200 ml, la concentración de biomasa en el reactor fue de 25.2 g/l de líquido dentro del reactor aproximadamente, y la concentración de biomasa por  $\text{cm}^3$  de biopelícula fue de  $4.4 \text{ g/cm}^3$ .

Sin embargo es necesario considerar que el peso seco obtenido incluye los polímeros extracelulares que conforman la biopelícula ya que no se separaron de las células, y que la suposición de que un 35 % del peso seco corresponde a biomasa no se comprobó experimentalmente, por lo cual la concentración de biomasa no es una medición precisa en el caso de las biopelículas. Sin embargo, este valor obtenido se utilizó en los modelos únicamente como un dato sobre la posible concentración de biomasa posible en la biopelícula.

### **3.10. Discusión de resultados y conclusiones.**

En esta sección se resumen las conclusiones más importantes obtenidas a partir de los resultados experimentales descritos anteriormente.

1º. No fue posible crecer biopelículas utilizando membranas de tipo cerámico, debido a que éstas no permiten el paso de aire después de algunas horas de encontrarse sumergidas en agua, ya sea porque sus poros se tapan con las sales contenidos en el agua o porque el material de que están formadas sinteriza tapando también los poros.

2º. Las membranas poliméricas permiten mejor el paso de aire a través de sus poros y son más resistentes que las fibras huecas (hollow fibers).

3º. Al aumentar el flujo de recirculación de líquido al interior del reactor el consumo de sustrato es mayor debido a que el transporte convectivo de masa es mayor y a que se aumenta el coeficiente de transporte de masa interfacial.

4º. La tasa de consumo de sustrato se favorece al aumentar la concentración inicial de sustrato únicamente hasta cierta concentración, (no mayor de 2.0 g/l), ya que más allá se supone que se presenta una inhibición por sustrato.

5°. En cuanto al espesor de la biopelícula, se obtuvieron mayores consumos de sustrato en una biopelícula de mayor espesor que en una más delgada, debido a que una biopelícula más gruesa tiene una mayor cantidad de biomasa en su interior. Sin embargo, se puede esperar que si el espesor sobrepasa cierta dimensión crítica, la difusión se hará muy lenta y existirá una zona de la biopelícula que no reciba alimento y/u oxígeno. Estos resultados no concuerdan con los de algunos autores (Freitas dos Santos, 1995 a y b), que reportan que los espesores eficientes son los más pequeños, aunque es necesario recordar que los sistemas experimentales son diferentes.

6°. El consumo de sustrato por bacterias de lodos activados es más rápido en una biopelícula que en células libres. Al realizar este estudio no se encontró algún trabajo donde se realizara un experimento similar éste, para comparar la efectividad de las células libres con la de una biopelícula.

7°. La tasa de consumo de sustrato varía de manera importante dependiendo de la forma de suministrar oxígeno a una biopelícula. Si se desea una eliminación muy rápida de sustrato es mejor alimentar oxígeno tanto por el interior de la membrana como por el líquido ya sea utilizando aire u oxígeno. La alimentación de aire por el interior de la membrana produce tasas de reacción muy pequeñas. Durante la realización de este trabajo no se encontró referencia alguna donde se alimente oxígeno en diversas formas.

8°. En cuanto a los experimentos dinámicos se observó un ligero aumento en la tasa de reacción después de cada pulso en el reactor. Las corridas realizadas a un flujo de recirculación menor (120ml/min) presentaron niveles de oxígeno disuelto en el líquido mayores que aquellas realizadas a 350 ml/min. Lo mismo se observó en las corridas con diferentes tasas de recirculación, lo cual confirma que al aumentar el Número Reynolds, aumenta el coeficiente de transferencia de masa interfacial líquido-biopelícula. Un estudio más detallado de este fenómeno se presenta en el Capítulo 7.

9°. Es de gran importancia realizar un estudio sobre la evolución de la biopelícula en el tiempo, observando los cambios en su espesor, en sus tasas de consumo de sustrato, y en su densidad.

10°. Los resultados experimentales referentes a las cinco diferentes formas de alimentar oxígeno a la biopelícula y las simulaciones presentadas en el capítulo 6 se reportan en González-Brambila, *et al.*, 2006.



# Capítulo 4

## Características morfológicas de la biopelícula

*Después de haber sido utilizada la biopelícula en los experimentos descritos en el Capítulo 3, se procedió a estudiar su morfología mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido (MEB) de bajo vacío.*

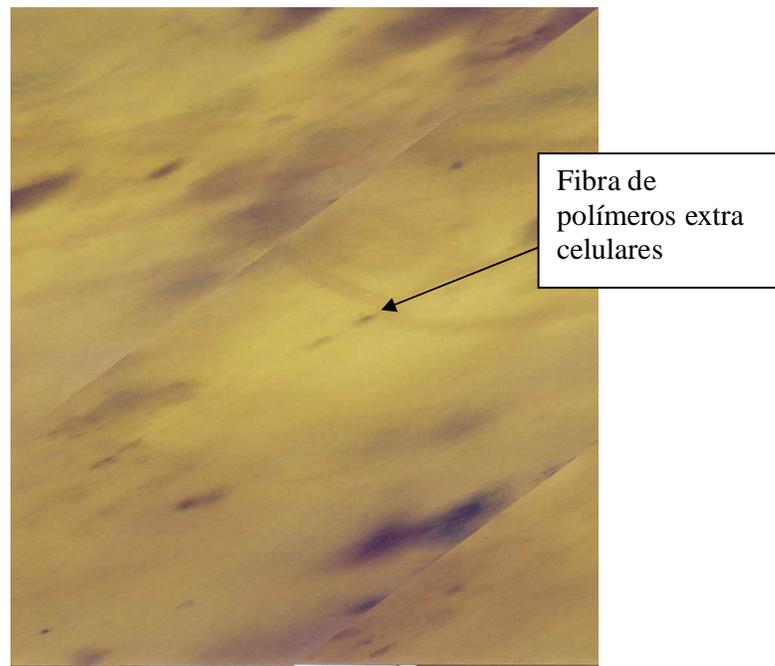
### 4.1. Determinación por microscopía óptica

Los resultados obtenidos con el microscopio óptico mostraron gran cantidad de bacterias y hongos, y en algunas ocasiones se observaron bacterias en movimiento; en otros casos se realizaron tinciones para mejorar las observaciones.

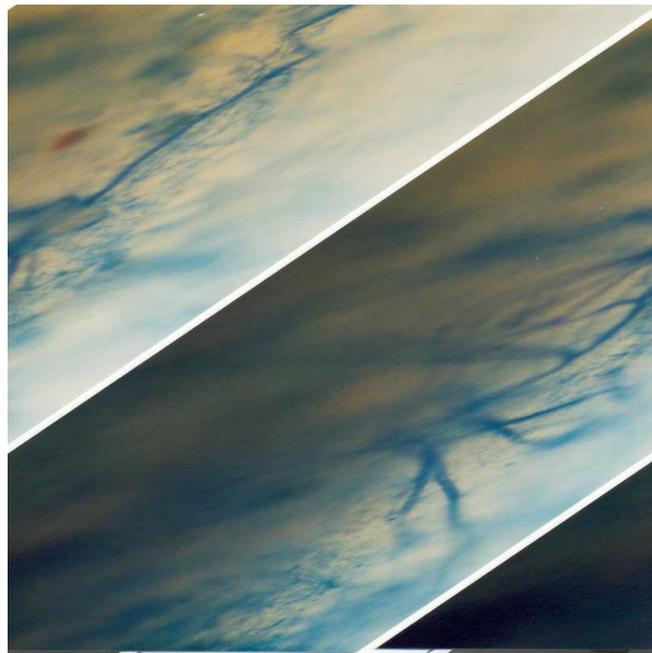
La Figura 4.1 muestra una zona típica de la biopelícula sin ningún tratamiento previo a su observación. Esta fotografía se tomó con un lente de 10 X (10 aumentos). Se puede observar la presencia de material fibroso con un diámetro aproximado de 5  $\mu\text{m}$  y que corresponde a los polímeros extracelulares producidos por las células presentes en los lodos activados cuando forman la biopelícula.

Con el fin de aumentar el contraste entre las fibras y el resto del material, la muestra se preparó mediante la técnica de tinción con azul de algodón. Las Figuras 4.2 y 4.3 corresponden a una superficie de la biopelícula donde se observa claramente la red de fibras de polímeros extracelulares, de las cuales algunas han alcanzado su diámetro máximo de 5 micras y el resto con un diámetro menor y que se encuentran en proceso de crecimiento tanto en longitud como en diámetro. Se puede decir que el mecanismo de crecimiento de la biopelícula en la superficie se lleva a cabo mediante la formación de fibras las cuales se interconectan formando un material poroso en la superficie y a

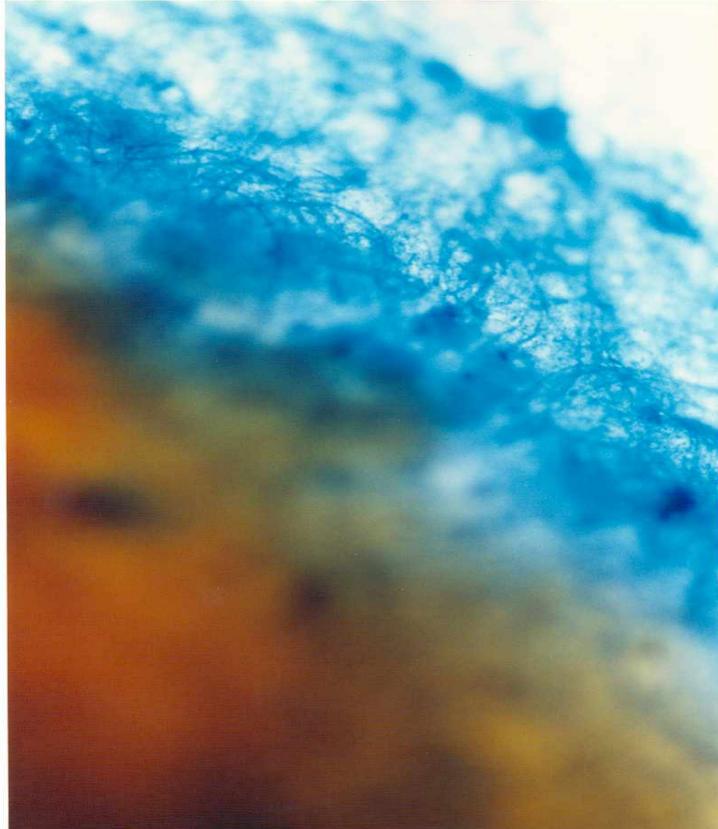
medida que el espesor de la biopelícula aumenta los poros reducen su diámetro.



*Figura 4.1 Biopelícula vista con microscopio óptico, Aumento 10X*



*Figura 4.2 Biopelícula con azul de algodón vista con microscopio óptico, Aumento 10X.*



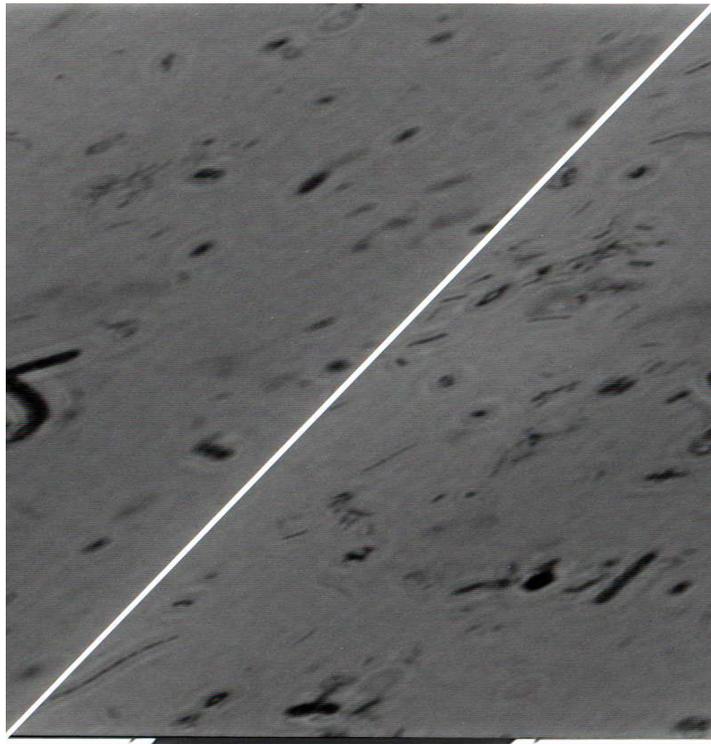
*Figura 4.3 Biopelícula con azul de algodón vista con microscopio óptico, Aumento 10X.*

Para observar a células y hongos presentes en la biopelícula, la muestra se fijó secando con aire y haciendo una tinción Gramm positivo, y usando aceite de inmersión con el objetivo 100X. En la figura 4.4 se observa la presencia de bacterias (las cuáles no se identificaron) de diferentes formas y tamaños y que van desde 0.1  $\mu\text{m}$  hasta 0.5  $\mu\text{m}$ , y de algunos hongos.

#### **4.2. Determinación por microscopía electrónica de barrido (MEB)**

La técnica de MEB presenta la ventaja sobre la microscopía óptica de poder observar la materia a mayores aumentos, esto se debe a la diferencia en la longitud de onda entre los fotones y los electrones. Sin embargo, es importante destacar que para estudiar muestras biológicas mediante MEB es fundamental

la preparación de la muestra. En el Apéndice 3 se describe la metodología utilizada en la preparación de las muestras de biopelícula observadas en el microscopio electrónico y cuyas fotografías se presentan a continuación.



*Figura 4.4 Biopelícula vista con microscopio óptico, Aumento 100X*

La estructura de la biopelícula se observa mediante MEB a diferentes ampliaciones en la figuras 4.5 a 4.10. Estas figuras fueron tomadas en el mismo sitio en la biopelícula inmovilizada por medio de la técnica descrita en el Apéndice 2, utilizando diferentes aumentos. La figura 4.5 fue tomada a 100 aumentos y muestra la complejidad de la estructura superficial. Se aprecia que la muestra está formada por un sistema interconectado de fibras y agregados irregulares. Es claro que la biopelícula es un material altamente poroso, pero que los poros son de tamaño y forma irregular, generando un sistema de alta tortuosidad. La fotografía revela además que la superficie es muy heterogénea. Con el fin de realizar un estudio de la estructura porosa de la biopelícula se obtuvieron imágenes a mayores aumentos, 500, 1000, 2000, 5000 y 10000, correspondientes a las figuras 4.6 a 4.10 respectivamente.

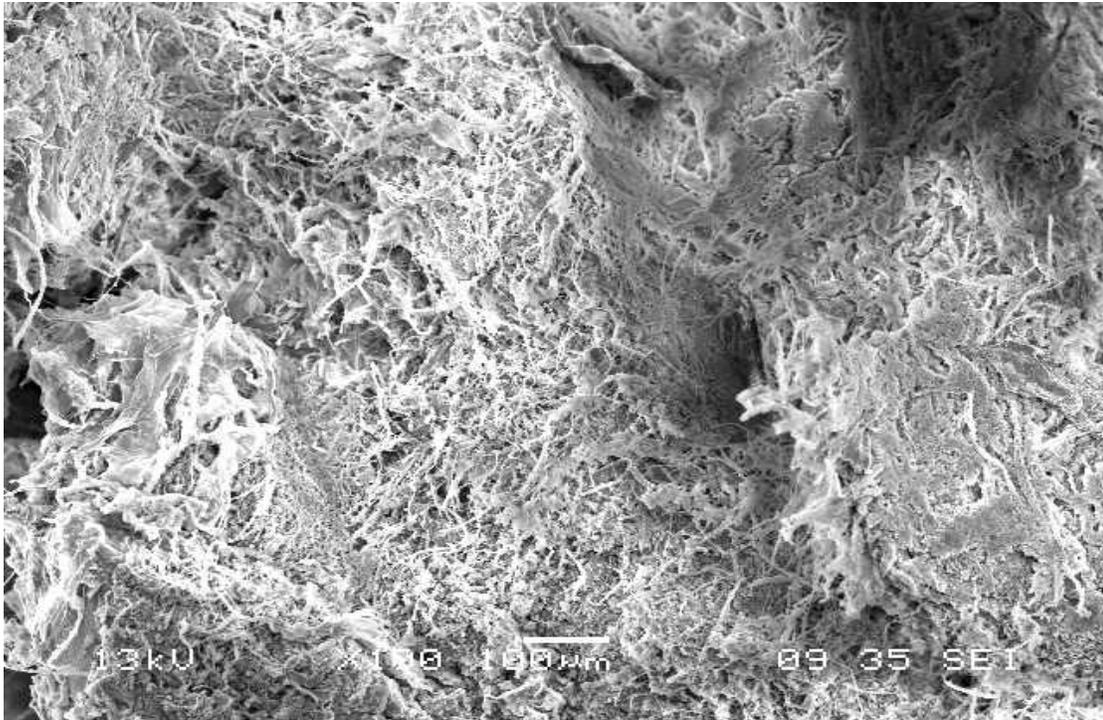


Figura 4.5. Fotografía de una biopelícula observada en microscopio electrónico, a 100 aumentos.

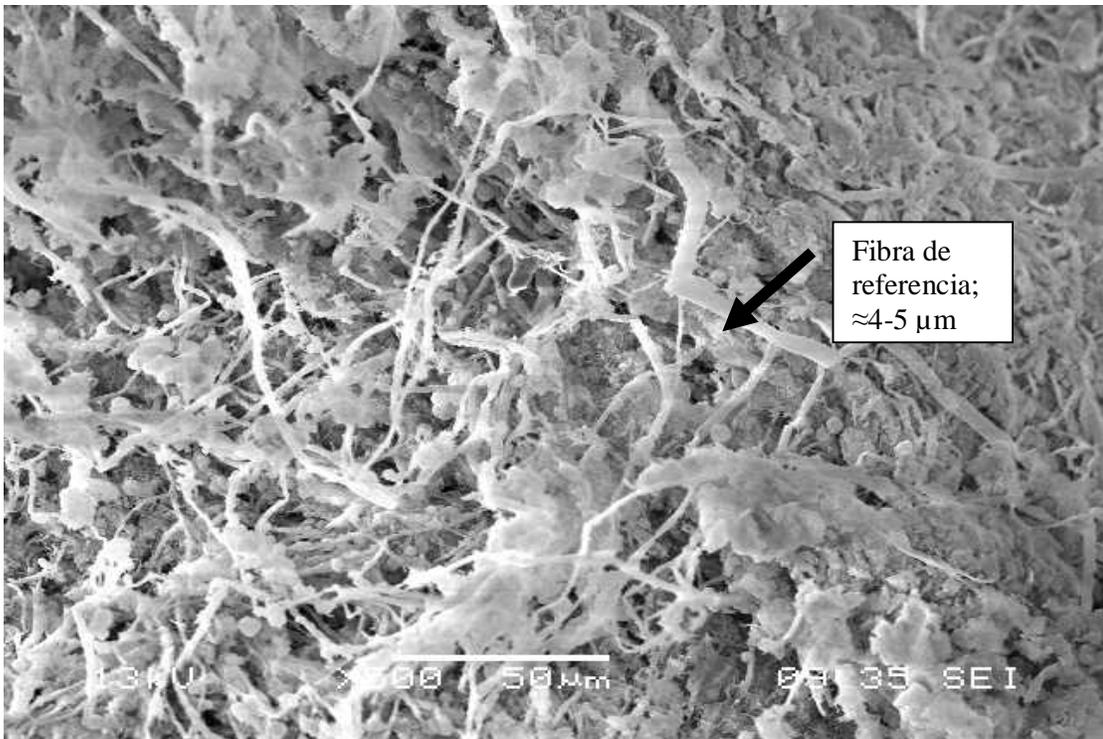


Figura 4.6. Fotografía de una biopelícula observada en microscopio electrónico, a 500 aumentos.

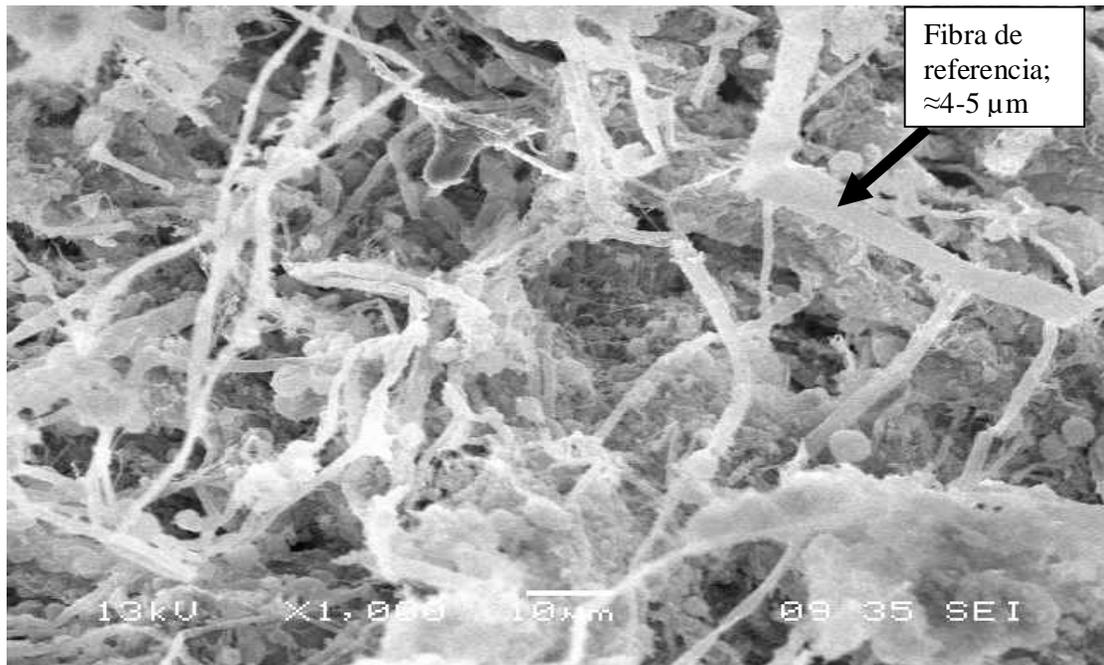


Figura 4.7. Fotografía de una biopelícula observada en microscopio electrónico, a 1000 aumentos.

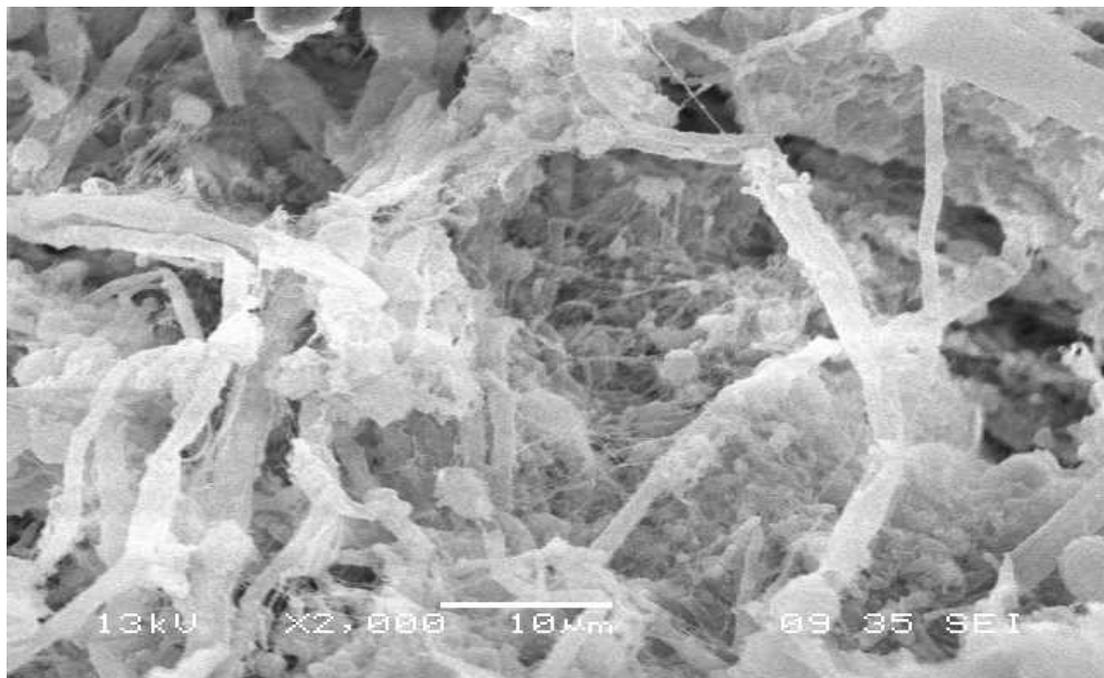
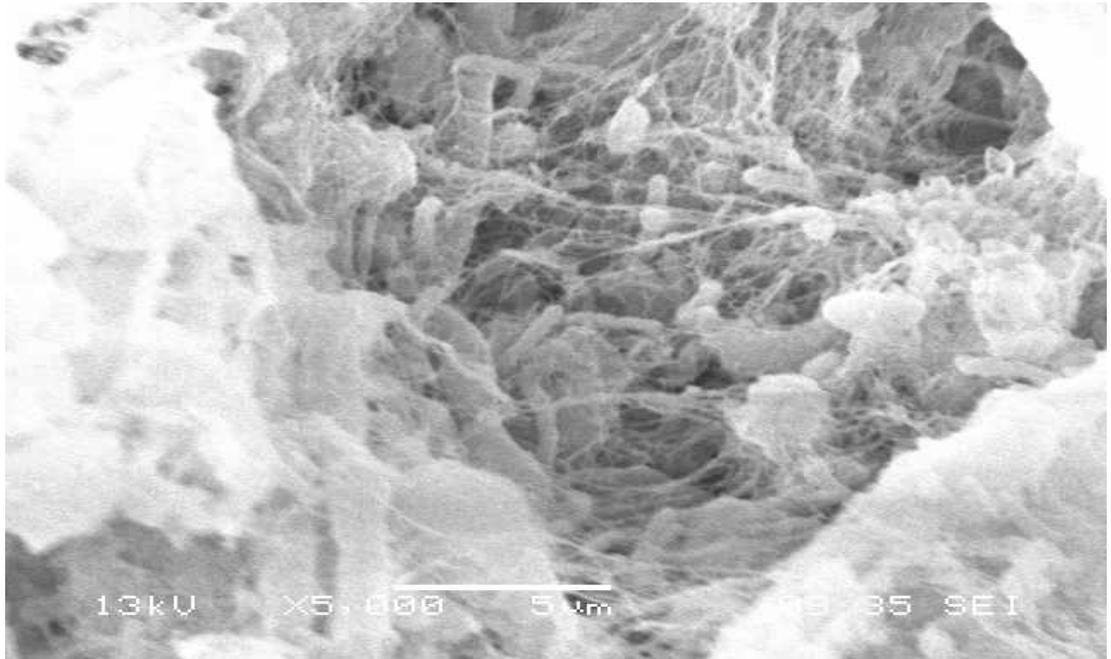
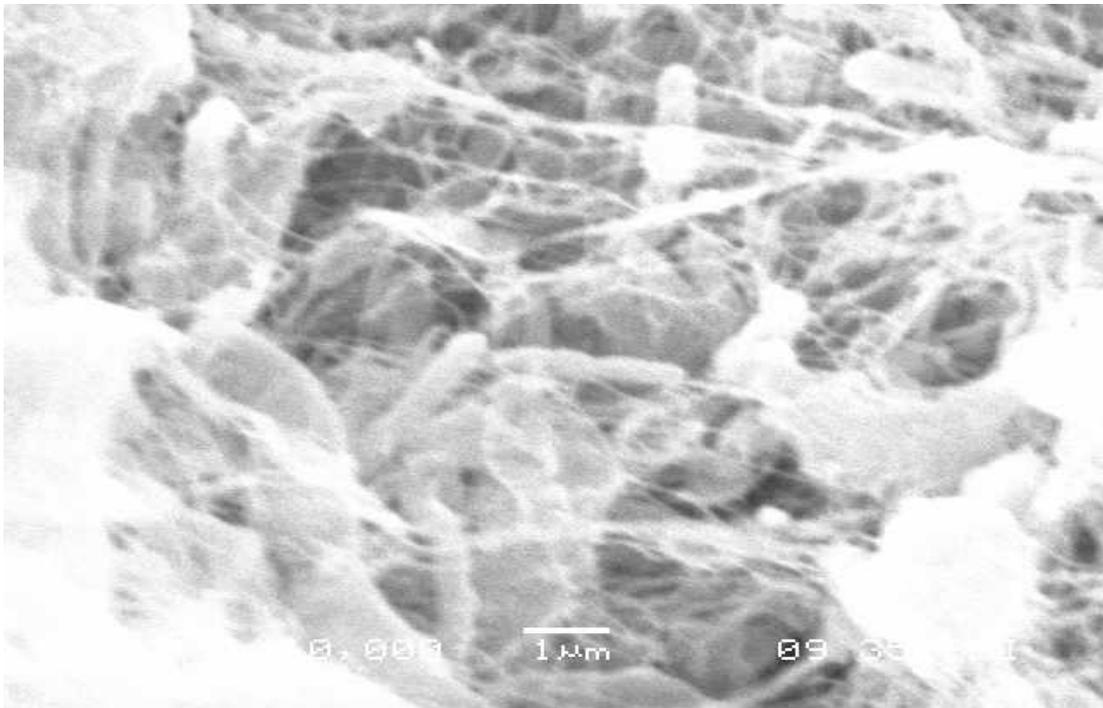


Figura 4.8 Fotografía de una biopelícula observada en microscopio electrónico, a 2000 aumentos.



*Figura 4.9 Fotografía de una biopelícula observada en microscopio electrónico, a 5000 aumentos.*



*Figura 4.10 Fotografía de una biopelícula observada en microscopio electrónico, a 10000 aumentos.*

En esta serie de fotografías, tomadas de la misma zona, se muestra que, a medida que se incrementa el número de aumentos y aumenta el detalle de la biopelícula, la complejidad de la estructura porosa se hace más evidente. Si se toma como referencia la fibra marcada con una flecha en las fotografías 4.6 y 4.7 de 500 y 1000 aumentos respectivamente, se observa como ésta queda fuera del área de observación a 2000 aumentos. En las fotografías de 5000 y 10000 aumentos se observan las fibras con diámetros por debajo de 1  $\mu\text{m}$ .

Si bien las fotografías obtenidas por MEB revelan claramente la morfología y porosidad de la biopelícula, la observación mediante microscopía óptica con tinción de Gramm Positivo permite identificar las células y los hongos mejor que con el microscopio electrónico. Por lo que podemos decir que ambas técnicas son complementarias.

El estudio de la morfología, estructura y porosidad de la biopelícula mediante microscopía electrónica de barrido y microscopía óptica permiten mostrar que la biopelícula está formada por una estructura porosa formada por fibras y agregados irregulares interconectados que generan un sistema intrincado, tortuoso, con una distribución muy amplia de tamaño y forma de poro. Además de que las fibras de material extracelular son de un diámetro en el intervalo de  $\approx 0.85 \mu\text{m}$  hasta  $\approx 5 \mu\text{m}$ .

El estudio de la estructura porosa de la biopelícula es de gran importancia dentro de este trabajo debido a que esta estructura es la que permite el flujo convectivo al interior de la biopelícula. La presencia de poros al interior de la biopelícula permite que los sustratos lleguen a las células que se encuentran en la parte interna de la biopelícula, esto es más cercana a la membrana. Esta es la razón por la cual en los resultados experimentales de consumo de sustrato a diferentes espesores de biopelícula, se encuentra que una biopelícula de 2.00 mm de espesor puede consumir mayor cantidad de sustrato que una de 0.5 mm. Sin embargo es de esperarse que el transporte de masa vaya disminuyendo a medida que el espesor de la biopelícula aumenta, hasta llegar a un espesor en el cual los sustratos ya no llegan fácilmente al interior de toda la biopelícula.

### **4.3. Discusión y conclusiones**

Después del análisis de las fotografías mostradas en este capítulo se concluye que la biopelícula es un sistema heterogéneo por lo que debe de considerarse su estructura dentro de los modelos desarrollados.

## **Capítulo 5**

### **Los modelos matemáticos del reactor de biopelícula inmobilizada en una membrana permeable**

*En este capítulo se describen los dos modelos desarrollados para describir la dinámica del sistema experimental de biorreacción. El primero de ellos considera a la biopelícula como un sistema sólido homogéneo; el segundo como un sistema heterogéneo de dos fases: una sólida en donde se encuentran los microorganismos agrupados en colonias y la segunda formada por canales y poros llenos de líquido. Se incluyen las consideraciones que se hicieron en el desarrollo de cada uno de los modelos, las ecuaciones de balance de materia en el líquido y dentro de la biopelícula para sustrato, oxígeno, biomasa y polímeros extracelulares, y las condiciones de frontera utilizadas. Las ecuaciones se presentan tanto en forma dimensional como adimensional. Se describe la forma en que se simula el aumento en el espesor de la biopelícula como una función de la producción de biomasa y de polímeros extracelulares a lo largo del tiempo, y por último se describe la forma en que las ecuaciones diferenciales parciales de tipo parabólico no lineales se resuelven mediante el método de colocación ortogonal.*

El biorreactor de membrana utilizado en este trabajo consiste en un tubo de vidrio dentro del cual se coloca una membrana permeable al oxígeno, fija en ambos extremos del tubo. En la parte externa de la membrana se encuentra adherida la biopelícula formada por microorganismos de lodos activados para tratamiento de aguas residuales. Al interior de la membrana se hace pasar una corriente de oxígeno o aire, el cual fluye a través de los poros de la membrana hacia la biopelícula. Por el lado opuesto de la biopelícula se encuentra el agua

residual modelo a tratar (acetato de sodio enriquecida con vitaminas y minerales), la cual recircula continuamente entre el biorreactor y el tanque de almacenamiento agitado en donde puede o no burbujearse aire. La figura 3.1 muestra el esquema de este sistema de reacción, el cual se supone como un biorreactor por lotes idealmente agitado. En el desarrollo de los modelos matemáticos se consideró que los perfiles de concentración dentro de la biopelícula varían únicamente en dirección perpendicular al flujo, debido a que el tiempo característico de difusión, de casi dos horas, es mucho mayor que el tiempo de residencia dentro del reactor tubular, que es aproximadamente dos minutos.

### **5.1 El modelo homogéneo**

El modelo homogéneo considera que el gas que circula por el interior de la membrana difunde a través del espesor de pared de la misma hasta llegar a la biopelícula, en donde es utilizado por los microorganismos. El sustrato y el oxígeno que se encuentran en el líquido, al otro lado de la biopelícula, difunden al interior de ésta en contracorriente con el oxígeno proveniente de la membrana. La biomasa contenida en la biopelícula consume a ambos sustratos.

Para analizar el comportamiento de una biopelícula homogénea y estimar los parámetros de transferencia de masa y reacción en el proceso, se ha desarrollado un modelo matemático dinámico que describe:

1. La acumulación de sustrato y oxígeno en la fase líquida dentro del tanque agitado.
2. La acumulación de sustrato y oxígeno en la fase líquida dentro del biorreactor.
3. El transporte de sustrato y oxígeno disuelto en la interfase líquido-biopelícula como función del tiempo ( $t$ ).
4. El transporte de sustrato y oxígeno disuelto al interior de la biopelícula, como función del tiempo ( $t$ ) y de la posición ( $y$ ) dentro de la biopelícula.
5. El transporte de oxígeno a través de los poros de la membrana hacia la biopelícula, como función del tiempo ( $t$ ) y de la posición dentro de la pared de la membrana ( $z$ ).
6. El crecimiento de microorganismos dentro de la biopelícula, utilizando la ecuación de Monod con doble sustrato limitante.
7. El aumento en espesor de la biopelícula con respecto al tiempo, como función del crecimiento de biomasa y de la producción de polímeros extracelulares.

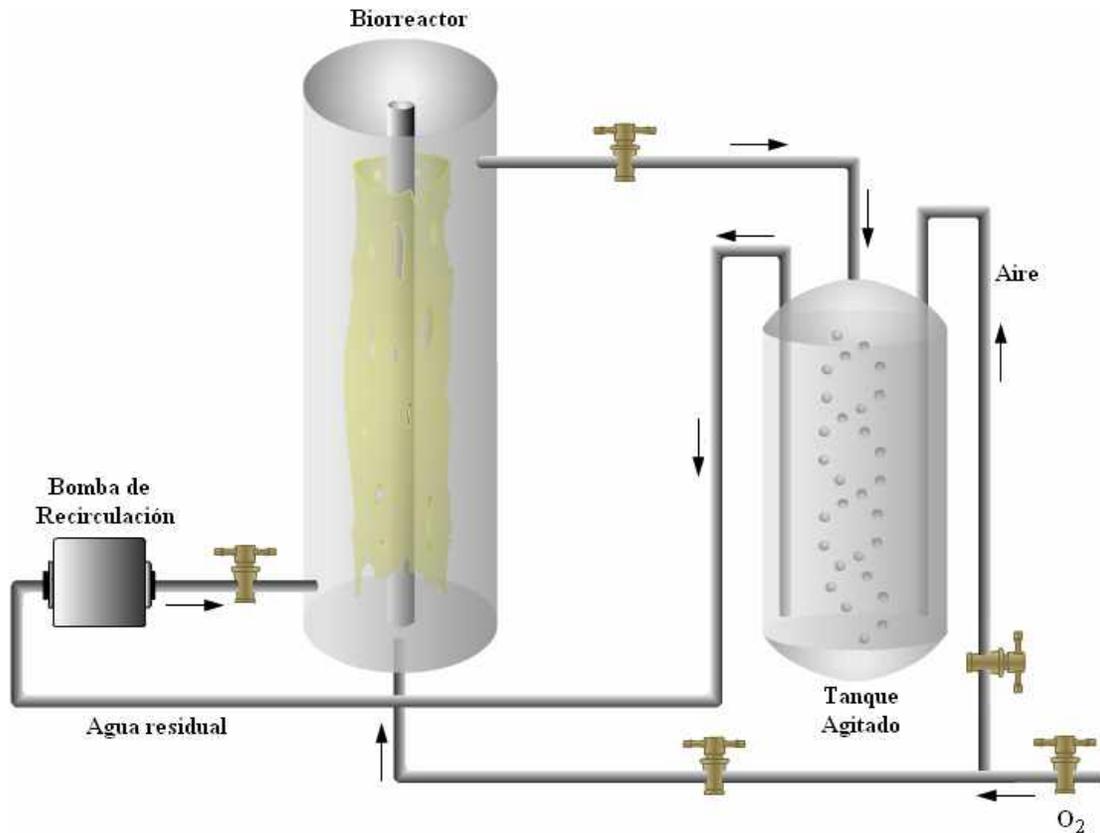


Figura 5.1. Sistema de biorreacción

### 5.1.1. Consideraciones del modelo homogéneo

El modelo desarrollado es una representación matemática de un sistema complejo que necesariamente contiene muchas limitaciones que se deben hacer para poder resolver el sistema de ecuaciones desarrollado. La figura 5.2 muestra el esquema del sistema membrana-biopelícula considerado para realizar el modelo. En esta figura se representan de izquierda a derecha: la interfase gas-membrana ( $z = l_m$ ), la pared de la membrana a través de la cual difunde el  $O_2$  hacia la biopelícula ( $z = 0$ ); la interfase membrana-biopelícula ( $y = 0$  y  $z = 0$ ), la biopelícula con un espesor  $z = l_b(t)$ , y por último se presenta la interfase biopelícula-líquido ( $y = l_b$ ).

La biopelícula se encuentra formada por bacterias de lodos activados que consumen sustrato y oxígeno y los utilizan como fuente de energía para mantenimiento, reproducción y producción de polímeros extracelulares.

El aire que pasa por el interior del tubo de la membrana difunde a través de los poros de la pared de ésta hasta llegar a la interfase con la biopelícula, y de ahí difunde a través de la biopelícula a lo largo de la cual es consumido por las células.

El oxígeno del aire que se burbujea en el tanque agitado se disuelve en el líquido, atraviesa la interfase biopelícula-líquido y difunde al interior de la biopelícula donde también es consumido por las células. Lo mismo sucede con el acetato de sodio disuelto en el agua, el cual también difunde dentro de la biopelícula para ser biodegradado.

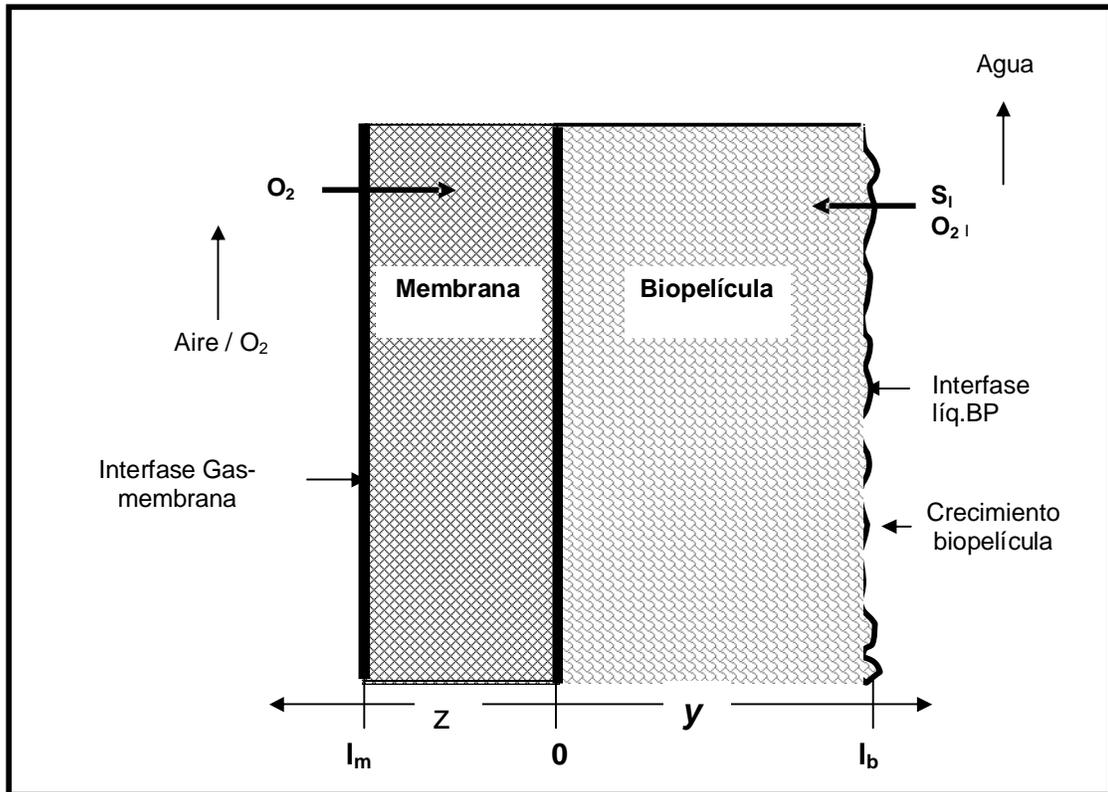


Figura 5.2. Esquema del sistema membrana-biopelícula homogénea.

El modelo desarrollado se basa en las siguientes consideraciones:

1. El biorreactor funciona como un tanque idealmente agitado
2. Todos los sustratos, fuente de carbono, en el agua se consideran como uno solo (S)
3. La biopelícula es totalmente homogénea e isotrópica.
4. Todas las especies de microorganismos que residen en la biopelícula se consideran agrupado en una sola especie (x)
5. La actividad de los microorganismos fuera de la biopelícula es despreciable.
6. El transporte de masa de sustrato y  $O_2$  a través de la biopelícula se llevan a cabo por difusión, de acuerdo con la Ley de Fick.
7. Los coeficientes de difusión de sustrato y  $O_2$  son constantes.
8. La pared de la membrana es impermeable al sustrato.
9. No se considera muerte celular, ni desprendimiento de biopelícula por esfuerzos de corte debido al flujo de líquido.
10. El flujo de entrada al biorreactor ( $F_0$ ) es igual al flujo de salida (F).

11. Los poros dentro de la pared de la membrana permeable se encuentran llenos de agua.

### 5.1.2. Desarrollo del modelo homogéneo

El sistema considerado está formado por un tanque agitado, conectado al biorreactor tubular por medio de la recirculación del agua residual. El balance de sustrato en el tanque agitado esta dado por el sustrato que entra al tanque menos el sustrato que sale debido a la recirculación por lo que, los flujos de entrada y salida son prácticamente iguales, y de acuerdo con las consideraciones previas, la biomasa en el líquido es despreciable, por tanto en este tanque no ocurre ninguna reacción:

$$V_T \frac{dC_{SLT}}{dt} = F(C_{SL} - C_{SLT}) \quad (5.1)$$

El balance de oxígeno en el tanque agitado está dado por el oxígeno que entra desde el biorreactor, menos el oxígeno que sale del recipiente, y en el caso más general, se incluye el oxígeno que se burbujea:

$$V_T \frac{dC_{OLT}}{dt} = F(C_{OL} - C_{OLT}) + V_T k_{lbub} a_{vbub} (C_{Oeq}^* - C_{OLT}) \quad (5.2)$$

Para el líquido en el biorreactor se considera que la variación de sustrato con respecto al tiempo, es función del sustrato que entra y sale del reactor debido a la recirculación, proveniente del tanque agitado, menos la cantidad de sustrato que se transfiere a la biopelícula a través de la interfase líquido-biopelícula:

$$V_R \frac{dC_{SL}}{dt} = F(C_{SLT} - C_{SL}) - V_R k_l a_v (C_{SL} - C_S) \quad (5.3)$$

De igual manera, la ecuación (5.4) describe el balance de OD en el líquido en el biorreactor:

$$V_R \frac{dC_{OL}}{dt} = F(C_{OLT} - C_{OL}) - V_R k_l a_v (C_{OL} - C_O) \quad (5.4)$$

La ecuación (5.5) describe el balance de sustrato al interior de la biopelícula como una función del tiempo y de la posición dentro de la biopelícula. Este balance está dado por la contribución de la difusión de sustrato proveniente de la interfase líquido-biopelícula, menos el consumo de sustrato al interior de la biopelícula. El consumo de sustrato dentro de la biopelícula se debe a tres factores: la reproducción celular, el mantenimiento celular y la producción de PEC.

$$\frac{\partial C_S}{\partial t} = D_{effS} \frac{\partial^2 C_S}{\partial y^2} - \frac{1}{Y_{X/S}} R_x - m_S x - Y_{pec/s} R_{pec} \quad (5.5)$$

De igual manera la ecuación (5.6) representa el balance de oxígeno al interior de la biopelícula como una función del tiempo y de la posición dentro de ésta:

$$\frac{\partial C_O}{\partial t} = D_{effO} \frac{\partial^2 C_O}{\partial y^2} - \frac{1}{Y_{X/O}} R_x - m_O x - Y_{pec/O} R_{pec} \quad (5.6)$$

La producción de biomasa dentro de la biopelícula se describe por medio de una expresión de Monod con la fuente de Carbono y el oxígeno como sustratos limitantes, debido a que estas concentraciones varían en diferente proporción a lo largo de todo el espesor de la biopelícula ( $y$ ):

$$R_x = \mu_{\max} x \left( \frac{C_S}{K_S + C_S} \right) \left( \frac{C_O}{K_O + C_O} \right) \quad (5.7)$$

La ecuación (5.8) representa el balance de oxígeno en la membrana semipermeable, y está dada por la segunda Ley de Fick:

$$\frac{\partial C_{Om}}{\partial t} = D_{effOm} \frac{\partial^2 C_{Om}}{\partial z^2} \quad (5.8)$$

### 5.1.3. Las condiciones inicial y de frontera del modelo homogéneo

En este modelo se considera que las condiciones inicial del proceso son valores conocidos o iguales a cero, y representa el inicio de la operación.

Las condiciones de frontera en la interfase biopelícula–membrana ( $y=0$ ), de acuerdo con la figura 5.2, para sustrato y oxígeno, están dadas por las ecuaciones (5.9) y (5.10) respectivamente. Se considera que la membrana es impermeable al sustrato por lo que el flux de sustrato es igual a cero (ecuación 5.9). En la ecuación (5.10)  $H_{bp}$  es el coeficiente de partición de la membrana para el oxígeno y en todos los casos se supone que  $H_{bp} = 1$ .

$$\frac{\partial C_S}{\partial z} = 0 \quad @ \quad y = 0 \quad (5.9)$$

$$\frac{\partial C_O}{\partial y} = H_{bp} \frac{\partial C_{Om}}{\partial z} \quad @ \quad y = 0 \quad (5.10)$$

En la interfase líquido-biopelícula, cuya posición en la figura 5.2 se encuentra en  $y = l_b$  (espesor de la biopelícula), las condiciones de frontera para sustrato y oxígeno se consideran la continuidad entre flux difusivos y conectivos y están dadas como sigue:

$$-D_{effS} \frac{\partial C_S}{\partial y} = k_l (C_{Sl} - C_S) \quad @ \quad y = 1 \quad (5.11)$$

$$-D_{effO_2} \frac{\partial C_O}{\partial y} = k_l (C_{Ol} - C_O) \quad @ \quad y = 1 \quad (5.12)$$

Este modelo considera que al ir aumentando la concentración de biomasa y de PEC, la biopelícula irá aumentando su volumen, por lo tanto tenemos una frontera móvil que es función del tiempo. Debido a la forma del biorreactor, la biopelícula sólo puede crecer en dirección perpendicular al flujo de agua residual, la cual corresponde con el espesor de la misma. Por lo tanto podemos decir que el cambio de volumen en la biopelícula esta dado por:  $dV = Adl$ . Si se define el flux de masa perpendicular a la membrana como:  $\rho_{bp} \frac{dl}{dt}$ , y se considera que el crecimiento es una función de la tasa de reacción promedio en toda la biopelícula, el volumen de la biopelícula se irá incrementando de acuerdo con la siguiente ecuación que describe el problema de Stefan de frontera móvil (Crank, 1984):

$$\rho_{bp} \frac{dl_{bp}}{dt} = \frac{V_{bp}}{A_{ext}} \langle R \rangle_{bp} = l_{bp} \langle R \rangle_{bp} \quad (5.13)$$

La tasa de crecimiento promedio  $\langle R \rangle_{bp}$  a lo largo de toda la biopelícula está dada por las tasas de incremento en biomasa y en PEC y está dada por:

$$\langle R \rangle_{bp} = \frac{1}{l_{bp}} \int_0^{l_{bp}} (1 + Y_{PEC}) R_X dl_{bp} \quad (5.14)$$

Por último, podemos decir que el flux de masa debido al crecimiento de la biopelícula está dado por la siguiente expresión (López-Isunza et al., 1997):

$$\rho_{bp} \frac{dl_{bp}}{dt} = \int_0^{l_{bp}} (1 + Y_{PEC}) R_X dl_{bp} \quad (5.15)$$

Las ecuaciones 5.1 a 5.15 describen al biorreactor de biopelícula adherida a una membrana, como un medio homogéneo y al tanque agitado. En la siguiente sección se presenta el modelo en su forma adimensional.

#### 5.1.4. El modelo homogéneo adimensional

Para solucionar numéricamente el modelo homogéneo se utilizó el método de colocación ortogonal para ello la adimensionalización de las ecuaciones se hizo dividiendo la variable entre el valor máximo que toma. A continuación se presentan las variables de referencia utilizadas en la adimensionalización de las ecuaciones.

- Concentraciones adimensionales

$$u_t = \frac{C_{SLT}}{C_{S0}} \quad u_l = \frac{C_{SL}}{C_{S0}} \quad u = \frac{C_S}{C_{S0}}$$

$$v_t = \frac{C_{OLT}}{C_{Oeq}^*} \quad v_l = \frac{C_{OL}}{C_{Oeq}^*} \quad v = \frac{C_O}{C_{Oeq}^*}$$

$$v_m = \frac{C_{Om.}}{C_{Oeq}^*}$$

Las variables llamadas  $\mathbf{u}$  corresponden a las concentraciones de sustrato en:  $\mathbf{t}$  en el tanque,  $\mathbf{l}$  en el líquido dentro del biorreactor, y  $\mathbf{u}$  sin subíndice en la biopelícula. Las variables llamadas  $\mathbf{v}$  corresponden a las concentraciones de oxígeno con los mismos subíndices y  $\mathbf{v}_m$  corresponde a la concentración adimensional de oxígeno en la membrana.

- Coordenadas espaciales y tiempo adimensionales

$$\lambda = \frac{y}{l_{bp}(0)} \quad \xi = \frac{z}{l_m} \quad \chi = \frac{x}{x_0}$$

$$\tau = \frac{t}{\theta} \quad \theta = \frac{l_{bp}^2}{D_{effS}} \quad \gamma = \frac{\lambda}{l_{bp}(t)}$$

Donde  $\theta$  representa el tiempo característico de difusión,  $l_{bp}(0)$  es el espesor inicial de la biopelícula y  $l_{bp}(t)$  es el espesor de la biopelícula en función del tiempo. El espesor de la biopelícula  $\chi$  debe encontrarse en un rango entre cero y uno a cualquier tiempo para poder aplicar el método de colocación ortogonal. Las variables  $\lambda$  y  $\xi$  corresponden al espesor adimensional de la biopelícula y de la membrana respectivamente y la variable  $\gamma$  corresponde al incremento adimensional del espesor de la biopelícula

Las ecuaciones adimensionales resultantes son las siguientes:

- Balance de sustrato en el tanque agitado anexo al reactor, de acuerdo con la ecuación 5.1:

$$H_{bp} \frac{du_T}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_T} (u_l - u_T) \quad (5.16)$$

donde:  $\tau_T$  es el tiempo de residencia en el tanque agitado.

- Balance de oxígeno en el tanque agitado, según ecuación 5.2:

$$\frac{dv_t}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_t} (v_l - v_t) - \beta_t (0.13 - v_t) \quad (5.17)$$

donde  $v_t$  es la concentración de oxígeno adimensional en el tanque agitado y  $v_l$  es la concentración de oxígeno adimensional en líquido biorreactor. El significado de todas las variables se encuentra en la sección de Notación.

- Balance de sustrato en la corriente líquida del biorreactor:

$$\frac{du_l}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_r} (u_t - u_l) - \beta_r (u_l - u) \quad (5.18)$$

donde  $\tau_r$  es el tiempo de residencia en el biorreactor

- Balance de oxígeno en la corriente líquida del biorreactor:

$$\frac{dv_l}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_r} (v_T - v_L) - \beta_r (v_l - v) \quad (5.19)$$

- Balance de sustrato dentro de la biopelícula:

$$\frac{\partial u}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 u}{\partial \lambda^2} - \phi^2 \chi \alpha_S \left( \frac{u}{K_S^* + u} \right) \left( \frac{v}{K_O^* + v} \right) - m_S \chi - Y_{pec/S} R_{pec} \quad (5.20)$$

- Balance de oxígeno dentro de la biopelícula:

$$\frac{\partial v}{\partial \tau} = \mathfrak{S}_O \frac{\partial^2 v}{\partial \lambda^2} - \phi^2 \chi \alpha_O \left( \frac{u}{K_S^* + u} \right) \left( \frac{v}{K_O^* + v} \right) - m_O \chi - Y_{pec/O} R_{pec} \quad (5.21)$$

- Balance de biomasa dentro de la biopelícula, de acuerdo con la ecuación 5.7:

$$\frac{\partial \chi}{\partial \tau} = \phi^2 \chi \left( \frac{u}{K_S^* + u} \right) \left( \frac{v}{K_O^* + v} \right) \quad (5.22)$$

- Balance de oxígeno en el interior de la membrana:

$$\frac{\partial v_m}{\partial \tau} = \mathfrak{S}_s \delta^2 \frac{\partial^2 v_m}{\partial \xi^2} \quad (5.23)$$

Las condiciones de frontera adimensionales para la interfase membrana-biopelícula son:

- Sustrato:

$$\frac{\partial u}{\partial z} = 0 \quad \text{en } \lambda = 0 \quad (5.24)$$

- Oxígeno:

$$\frac{\partial v}{\partial \lambda} = \frac{\delta}{H_{bp} \mathfrak{S}_m} \frac{\partial v_m}{\partial \xi} \quad \text{en } \lambda = 0 \quad (5.25)$$

Las condiciones de frontera en la interfase biopelícula-líquido son:

- Sustrato:

$$\frac{\partial u}{\partial \lambda} = \gamma Bim_S (u - u_l) \quad \text{en } \lambda = 1 \quad (5.26)$$

- Oxígeno:

$$\frac{\partial v}{\partial \lambda} = \gamma Bim_O (v - v_l) \quad \text{en } \lambda = 1 \quad (5.27)$$

### 5.1.5. La solución numérica del modelo homogéneo por colocación ortogonal

El modelo se resolvió mediante el método de colocación ortogonal (Villadsen y Michelsen, 1978, Finlayson, 1981) utilizando catorce puntos interiores de colocación (N=14) dentro de la biopelícula y siete puntos interiores de colocación dentro de la pared de la membrana (M=7). Como se mencionó anteriormente, para utilizar este método de solución se requiere que todas las variables espaciales se encuentren en un intervalo entre 0 y 1. Por esto el espesor de la biopelícula ( $\lambda$ ), que aumenta con el tiempo, se “congela” a cualquier tiempo, y se adimensiona definiendo la variable:  $\gamma = \frac{y}{l_{bp}(t)}$ , de tal

manera que en cualquier tiempo el espesor de la biopelícula es igual a 1. Esta estrategia de solución introduce un término de tipo convectivo en las ecuaciones de balance de sustrato y oxígeno dentro de la biopelícula (Crank, 1984). Dado que  $y$  no es una función del tiempo pero  $\lambda$  si lo es, sabemos que:

$$\frac{\partial}{\partial t} \Big|_y = \frac{\partial}{\partial t} \Big|_\lambda + \frac{\partial}{\partial \lambda} \left( \frac{d\lambda}{dt} \right) \quad (5.28)$$

ya que:

$$\frac{d\lambda}{dt} = -\frac{y}{l_b} \frac{dl_b}{dt} \quad (5.29)$$

Por lo tanto:

$$\left. \frac{\partial C_s}{\partial t} \right|_y = \left. \frac{\partial C_s}{\partial t} \right|_\lambda + \frac{\partial C_s}{\partial \lambda} \left( \frac{d\lambda}{dt} \right) \quad (5.30)$$

Sustituyendo (5.29) en (5.30) y despejando encontramos que:

$$\left. \frac{\partial C_s}{\partial t} \right|_\lambda = \left. \frac{\partial C_s}{\partial t} \right|_y + \frac{\lambda}{l_{bp}} \frac{\partial C_s}{\partial \lambda} \frac{dl_{bp}}{dt} \quad (5.31)$$

Donde el último término en la ecuación (5.31) nos da el incremento en el espesor de la biopelícula debido al crecimiento celular y la producción de PEC a lo largo del tiempo. Sustituyendo la ecuación (5.31) en la ecuación (5.20), referida al sistema "inmovilizado" en el tiempo, se obtiene el balance de masa para el sustrato dentro de la biopelícula:

$$\left. \frac{\partial u}{\partial \tau} \right|_\lambda = \frac{1}{\gamma^2} \frac{\partial^2 u}{\partial \lambda^2} + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial u}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} - R_s^* - y_{s/pec} R_{pec}^* \quad (5.32)$$

De la misma forma para el oxígeno se tiene la siguiente ecuación:

$$\left. \frac{\partial v}{\partial \tau} \right|_\lambda = \frac{\zeta_o}{\gamma^2} \frac{\partial^2 v}{\partial \lambda^2} + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial v}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} - R_o^* - y_{o/pec} R_{pec}^* \quad (5.33)$$

En la tabla 5.1 se muestran las ecuaciones diferenciales parciales parabólicas a resolver numéricamente mediante el método de colocación ortogonal y sus condiciones inicial y de frontera.

El método de colocación ortogonal es uno de los métodos de residuos ponderados en el que los puntos donde el residual es cero, corresponden a las raíces de un polinomio ortogonal de tipo Jacobi o Legendre, que se emplean como funciones de prueba. Con este método es posible discretizar ecuaciones diferenciales parciales de tipo parabólico en sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias, con valores iniciales, que se pueden resolver por integración con un método de Runge-Kutta (Jiménez-Islas y López-Isunza, 1999).

El método de colocación ortogonal presenta varias ventajas sobre otros métodos de colocación, entre ellas el que la elección de los puntos interiores de colocación se hace automáticamente, evitando posibles errores producidos por el usuario y que el error decrece mucho más rápido al aumentar el número de términos (Villadsen y Michelsen, 1978; Finlayson, 1981). Existen tres diferencias principales con respecto a otros métodos de colocación: la función

de prueba se considera como una serie de polinomios ortogonales, los puntos de colocación son las raíces de estos polinomios y las variables dependientes son los valores solución en los puntos de colocación (Finlayson, 1981).

Las expresiones para aproximar primeras y segundas derivadas mediante el método de colocación ortogonal para problemas asimétricos son (Finlayson, 1981):

$$\frac{\partial C}{\partial y} = \sum_{j=1}^{N+2} A_{ij} C_j \quad (5.34)$$

$$\frac{\partial C}{\partial z} = \sum_{j=1}^{M+2} E_{ij} C_j \quad (5.35)$$

$$\frac{\partial^2 C}{\partial y^2} = \sum_{j=1}^{N+2} B_{ij} C_j \quad (5.36)$$

$$\frac{\partial^2 C}{\partial z^2} = \sum_{j=1}^{M+2} G_{ij} C_j \quad (5.37)$$

donde: N = número de puntos interiores de colocación en la biopelícula  
M = número de puntos interiores de colocación en la membrana  
A, B, E y G son las matrices de colocación, cuyos valores dependen del tipo de polinomio ortogonal elegido. Los nodos de colocación corresponden a las raíces de dicho polinomio (Jiménez-Islas, 1996). A y B son las matrices utilizadas en la biopelícula para N=14. E y G son las matrices utilizadas en la membrana para M= 7

Para realizar los cálculos de la concentración de oxígeno a lo largo de la pared de la membrana se utilizaron 7 puntos interiores de colocación (M=7). En los cálculos de concentración de ambos sustratos al interior de la biopelícula se utilizaron 14 puntos interiores de colocación (N=14).

El problema que se resuelve en este trabajo es de tipo asimétrico ya que la biopelícula está adherida a una superficie sólida, la membrana, y en el otro extremo a la interfase líquido-biopelícula, por lo cual el sistema a modelar carece de simetría. De igual forma la pared de la membrana tiene una interfase gas-membrana, que dadas las consideraciones iniciales del modelo, se supone que el líquido en la interfase gas-membrana se encuentra saturado de oxígeno.

El segundo término del lado derecho de las ecuaciones (5.32) y (5.33) representan el crecimiento en el espesor de la biopelícula, el cual, aparece como un término convectivo.

$$\frac{d\gamma}{d\tau} = \frac{\alpha_l}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{x_j}^* \quad (5.38)$$

$w_j$  = coeficiente de promedio ponderado de método de colocación ortogonal.

Aplicando el método de colocación ortogonal a las ecuaciones contenidas en la tabla 5.1 y sustituyendo las ecuaciones 5.34 a 5.37, se obtiene el siguiente conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales:

- Oxígeno en biopelícula

1. En interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_j = \frac{\delta}{H_{bp} \mathcal{S}_m} \sum_{j=2}^{M+2} E_{i,j} v_{mj} \quad (5.39)$$

Tabla 5.1. Ecuaciones adimensionales del modelo homogéneo.

Descripción	Ecuación	Condiciones iniciales y de frontera
Balance de Oxígeno en membrana	$\frac{\partial v_m}{\partial \tau} = \mathfrak{S}_s \delta^2 \frac{\partial^2 v_m}{\partial \xi^2}$	$\frac{\partial v}{\partial \lambda} = \frac{\delta}{H_{bp} \mathfrak{S}_m} \frac{\partial v_m}{\partial \xi} @ \xi=0$ $\frac{\partial v_m}{\partial \xi} = 1.0 @ \xi=1$
Balance de oxígeno en biopelícula	$\frac{\partial v}{\partial \tau} \Big _{\lambda} = \frac{\zeta_o}{\gamma^2} \frac{\partial^2 v}{\partial \lambda^2} + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial v}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} - R_o^* - y_{o/pec} R_p^*$	$\frac{\partial v}{\partial \lambda} = \frac{\delta}{H_{bp} \mathfrak{S}_m} \frac{\partial v_m}{\partial \xi} @ \lambda=0$ $\frac{\partial v}{\partial \lambda} = \gamma Bim_o (v - v_l) @ \lambda=1$
Balance de sustrato en biopelícula	$\frac{\partial u}{\partial \tau} \Big _{\lambda} = \frac{1}{\gamma^2} \frac{\partial^2 u}{\partial \lambda^2} + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial u}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} - R_s^* - y_{s/pec} R_{pec}^*$	$\frac{\partial u}{\partial z} = 0 @ \lambda=0$ $\frac{\partial u}{\partial \lambda} = \gamma Bim_s (u - u_l) @ \lambda=1$
Balance de biomasa en biopelícula	$\frac{\partial \chi}{\partial \tau} = \phi^2 \chi \left( \frac{u}{K_s^* + u} \right) \left( \frac{v}{K_o^* + v} \right) = R_x^*$	x @ t=0, valor inicial
Balance de PEC en biopelícula	$\frac{dp}{d\tau} \Big _{\lambda} = \alpha_p R_x^* + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{dp}{d\lambda} \frac{d\gamma}{d\tau}$	p @ t=0, valor inicial
Tasa de reacción de sustrato	$R_s^* = \alpha_s \phi^2 \chi \left( \frac{u}{K_s^* + u} \right) \left( \frac{v}{K_o^* + v} \right)$	
Tasa de reacción de sustrato	$R_o^* = \alpha_o \phi^2 \chi \left( \frac{u}{K_s^* + u} \right) \left( \frac{v}{K_o^* + v} \right)$	
Crecimiento de espesor biopelícula	$\frac{d\gamma}{d\tau} = \int_0^1 R^* d\lambda$	
Balance de sustrato en el tanque agitado	$\frac{du_t}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_t} (u_l - u_t)$	u <sub>t</sub> @ t=0, valor inicial
Balance de oxígeno en el tanque agitado	$\frac{dv_t}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_t} (v_l - v_t) - \beta_t (0.13 - v_t)$	v <sub>t</sub> @ t=0, valor inicial
Balance de sustrato en biorreactor	$\frac{du_l}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_r} (u_t - u_l) - \beta_r (u_l - u)$	u <sub>l</sub> @ t=0, valor inicial
Balance de oxígeno en biorreactor	$\frac{dv_l}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_r} (v_t - v_l) - \beta_r (v_l - v)$	v <sub>l</sub> @ t=0, valor inicial

2. En el interior de la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$\frac{dv_i}{d\tau} = \frac{\zeta_O}{\gamma^2} \sum_{j=1}^{N+2} B_{i,j} v_j + \frac{\lambda}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_j \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{xj} - R_{O_i}^* - y_{O/pec} R_{peci}^* \quad (5.40)$$

3. En la interfase biopelícula-líquido ( $i = N + 2$ )

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_j = \gamma Bim_O (v_i - v_{li}) \quad (5.41)$$

- Sustrato en biopelícula

1. En interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ).

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_j = 0 \quad (5.42)$$

2. En el interior de la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$\frac{du_i}{d\tau} = \frac{1}{\gamma^2} \sum_{j=1}^{N+2} B_{i,j} u_j + \frac{\lambda}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_j \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{xj} - R_{s_i}^* - y_{s/pec} R_{peci}^* \quad (5.43)$$

3. En la interfase biopelícula-líquido ( $i = N + 2$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_j = \gamma Bim_S (u_i - u_{li}) \quad (5.44)$$

- Oxígeno en membrana

1. En la interfase gas-membrana ( $i = M + 2$ ):

$$\sum_{j=1}^{M+2} E_{i,j} v_{mj} = 1.0 \quad (5.45)$$

2. En la membrana ( $i = 2, M + 1$ ):

$$\frac{\partial v_{mi}}{\partial \tau} = \mathfrak{S}_s \delta^2 \sum_{j=1}^{M+2} G_{i,j} v_{mj} \quad (5.46)$$

3. En la interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_j = \frac{\delta}{H_{bp} \mathfrak{S}_m} \sum_{j=1}^{N+2} E_{i,j} v_{m_j} \quad (5.47)$$

- Tasa de reacción de biomasa para el crecimiento en toda la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$R_{x_i}^* = \phi^2 \chi_i \left( \frac{u_i}{K_S^* + u_i} \right) \left( \frac{v_i}{K_O^* + v_i} \right) \quad (5.48)$$

- Tasa de reacción de sustrato en toda la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$R_{s_i}^* = \alpha_s \phi^2 \chi_i \left( \frac{u_i}{K_S^* + u_i} \right) \left( \frac{v_i}{K_O^* + v_i} \right) \quad (5.49)$$

- Tasa de reacción de oxígeno en toda la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

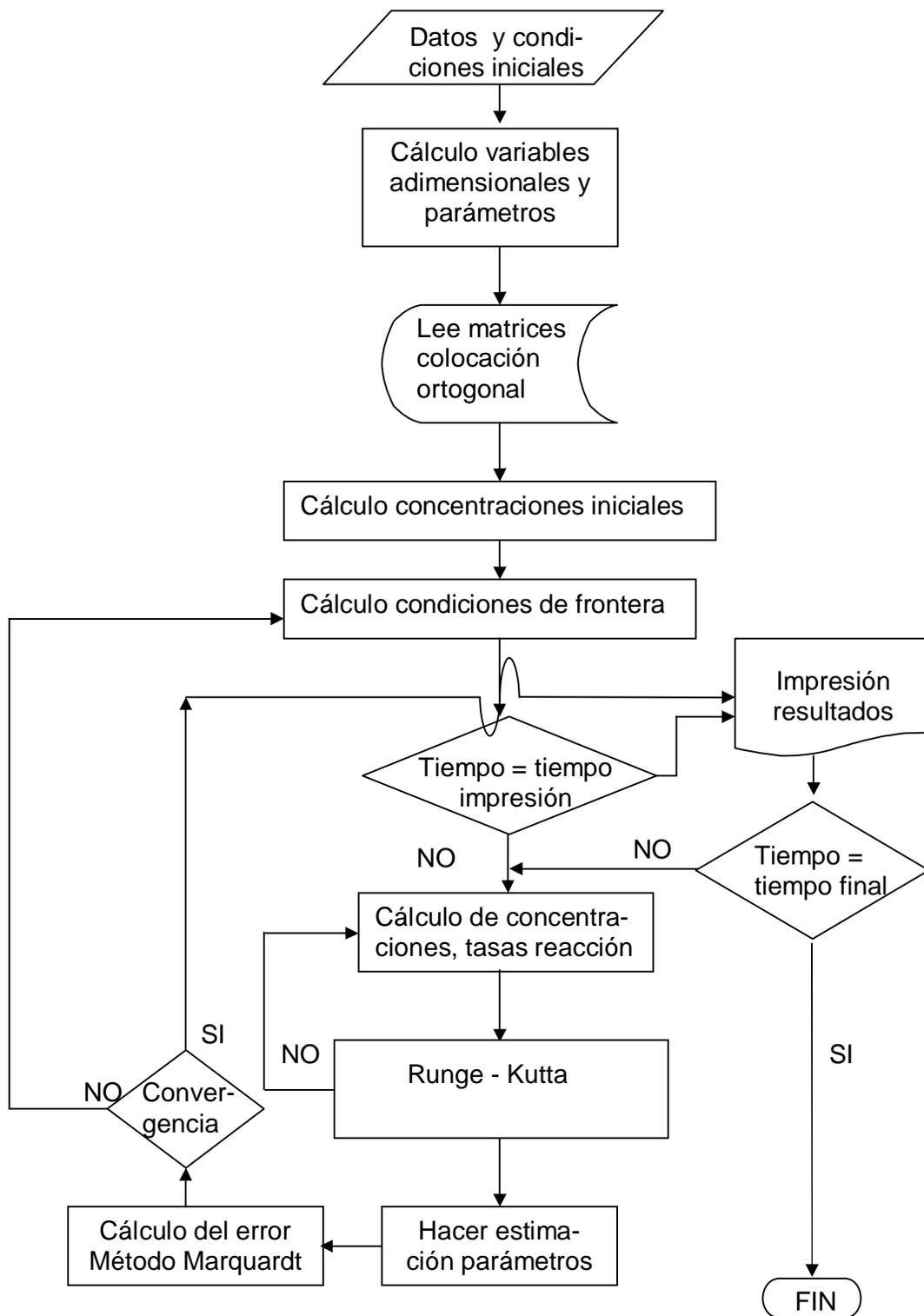
$$R_{O_i}^* = \alpha_O \phi^2 \chi_i \left( \frac{u_i}{K_S^* + u_i} \right) \left( \frac{v_i}{K_O^* + v_i} \right) \quad (5.50)$$

- La velocidad con que aumenta el espesor de la biopelícula está dado como:

$$\frac{d\gamma}{d\tau} = \frac{\alpha_l}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{x_j}^* \quad (5.51)$$

El sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales resultante, se resuelve con un método de Runge Kutta de 4º orden. Para la solución numérica de las ecuaciones se elaboró un programa en Lenguaje Fortran 99 (***bpmodhom***) cuyo diagrama de flujo se muestra en la Figura 3.3. Este programa requiere de un archivo de datos en el cual deben indicarse, entre otras cosas, si el gas que se alimenta por la membrana es oxígeno o aire, si se burbujea aire en el líquido del tanque agitado, y si se lleva a cabo o no la estimación de los parámetros de reacción y transporte.

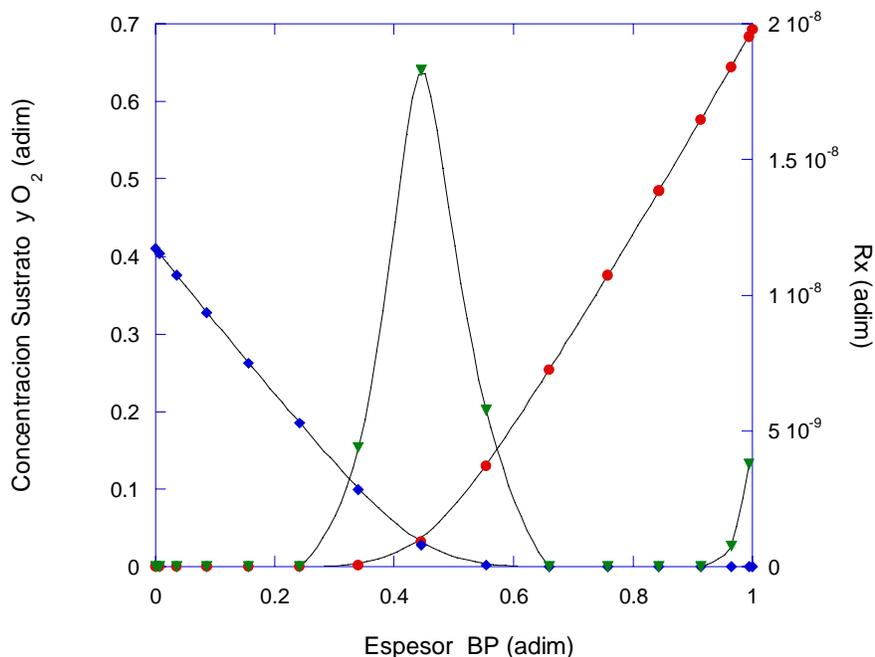
**Figura 5.3. Diagrama de flujo del programa bpmodhom**



### 5.1.6. Resultados de la simulación con el modelo homogéneo

En esta sección se presentan los resultados de la simulación de un caso de difusión a contra corriente en la biopelícula, que se obtienen con el programa **bpmodhom**. Cabe señalar que estos resultados se obtuvieron después de realizar la estimación de los parámetros cinéticos y de transporte usando los datos experimentales, como se explica en el capítulo 5. Sin embargo en los capítulos 6, 7 y 8 se comparan los resultados del modelo con todos los resultados experimentales y se discuten ampliamente.

Los resultados que se muestran a continuación corresponden a la simulación de uno de los casos experimentales en el cual se alimenta oxígeno a través de la membrana y no se burbujea aire en el líquido contenido en el tanque agitado. De esta forma el sustrato y el oxígeno difunden a contracorriente por la biopelícula; el oxígeno se alimenta de manera continua, mientras que el sustrato se agota en el líquido, por lo que se tiene un operación por lotes en cuanto a sustrato y continua para oxígeno. Se ha elegido este caso debido a que se aprecian mejor los perfiles de concentración de ambos sustratos en la biopelícula y se utiliza para comparar las predicciones de los modelos desarrollados.



Tiempo de reacción 4.0 hrs

Figura 5.4. Perfiles de concentraciones de sustrato, oxígeno y tasa de reacción en el interior de la biopelícula, a un tiempo de reacción de 4.0 h. Modelo homogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana). ● - Sustrato, ◆ - Oxígeno, ▼ - Tasa de reacción.

La Figura 5.4 muestra los resultados obtenidos con el modelo homogéneo para un tiempo de reacción de 4.0 h. En esta figura se muestran los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno, y la tasa de reacción a lo largo del espesor de la biopelícula; en el espesor de la biopelícula correspondiente a un valor de cero se encuentra la membrana, y en el espesor igual a uno, la interfase líquido-biopelícula. El sustrato penetra por la interfase líquido-biopelícula cuya concentración va disminuyendo hasta llegar a cero en el 30 % de la parte inicial del espesor de la biopelícula. En el otro extremo de la biopelícula el oxígeno difunde hasta llegar a una concentración de cero un poco más allá de la mitad de la biopelícula. La tasa de reacción se lleva a cabo en una zona donde el sustrato y el oxígeno se encuentran, que corresponde a la parte intermedia de la biopelícula, es importante notar que las tasas de reacción son muy pequeñas debido a que el crecimiento de los microorganismos es muy lento.

La Figura 5.5. muestra el avance de los perfiles de concentración de oxígeno al interior del espesor de la biopelícula a diferentes tiempos de reacción durante la operación por lotes en donde sólo se alimenta oxígeno por la membrana (Ver el caso 3 del Capítulo 6). El sustrato entra a la biopelícula en contracorriente al oxígeno como se observa en la Figura 3.6. Después de 30 min. de iniciada la corrida se observa que el oxígeno comienza a penetrar en la biopelícula desde la membrana y la concentración es cero antes de alcanzar la mitad del espesor adimensional de la biopelícula. Al continuar la reacción, la concentración de oxígeno va aumentando así como su penetración en la biopelícula hacia el extremo opuesto, debido a que el sustrato se está agotando en el líquido.

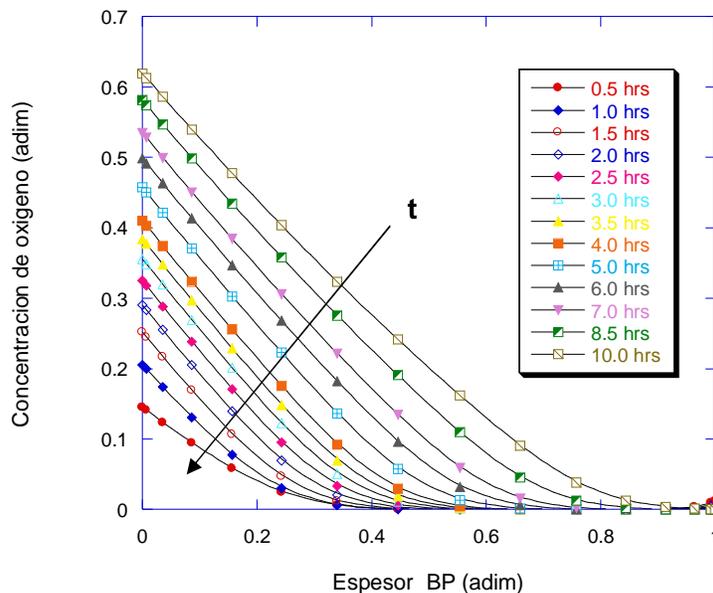


Figura 5.5. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo homogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

Para la concentración de sustrato, que entra por la interfase líquido-biopelícula, sucede lo contrario que con la concentración de oxígeno; los perfiles de concentración de sustrato son mayores al inicio de la reacción y éstos van disminuyendo y moviéndose hacia la interfase biopelícula-líquido con el tiempo, conforme el sustrato se va agotando. De esta forma mientras que la concentración de sustrato decrece, la de oxígeno avanza.

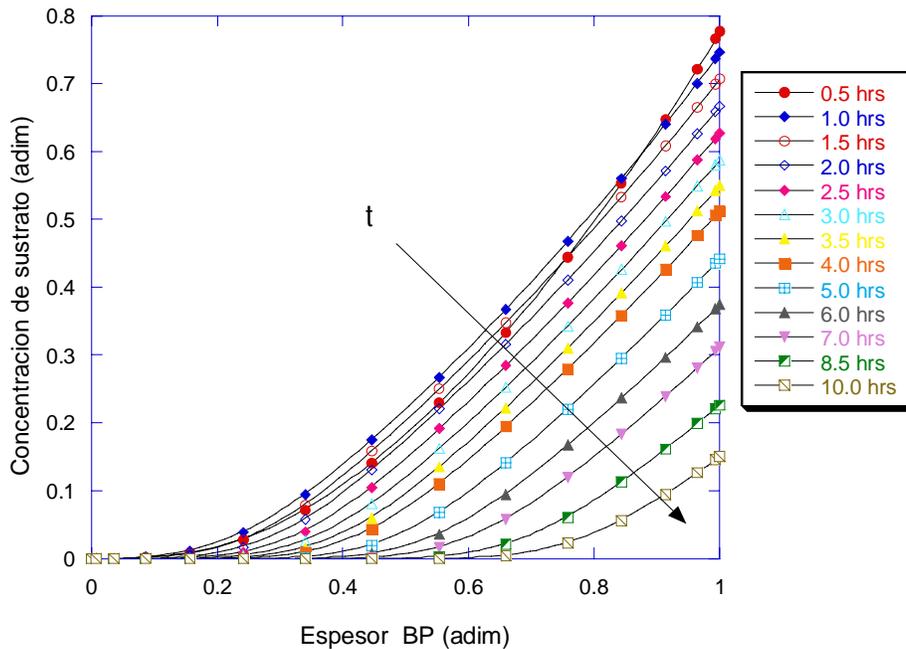


Figura 5.6. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo homogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

Tomando en cuenta los perfiles de las concentraciones de sustrato y oxígeno en cada punto al interior de la biopelícula, el programa calcula las tasas de reacción en cada uno de los 14 puntos interiores de colocación y las integra. De esta forma, la tasa de consumo de ambos sustratos, en toda la biopelícula, se conoce, y este valor es el que representa a la tasa global de consumo en cada tiempo. Lo anterior difiere para el caso de usar células libres, ya que no es necesario llevar a cabo dicha integración. La evolución de las regiones donde ocurre la reacción dentro de la biopelícula se muestra en la Figura 5.7, aquí se observa que al comenzar la reacción se identifican dentro de la biopelícula dos zonas de reacción, una en la interfase líquido-biopelícula y otra cercana a la membrana. La reacción en la interfase líquido-biopelícula se debe a que al comenzar la reacción el líquido no se encuentra libre de oxígeno; sin embargo el oxígeno en el líquido pronto se agota y la reacción en esta zona va disminuyendo. La zona de reacción localizada cerca de la membrana se debe

a que en esa región el sustrato proveniente del líquido y el oxígeno procedente de la membrana se encuentran. Al transcurrir el tiempo, la zona de reacción se va moviendo hacia la interfase con el líquido ya que los perfiles de concentración de sustrato van disminuyendo y recorriéndose hacia la interfase biopelícula-líquido conforme se agota el sustrato.

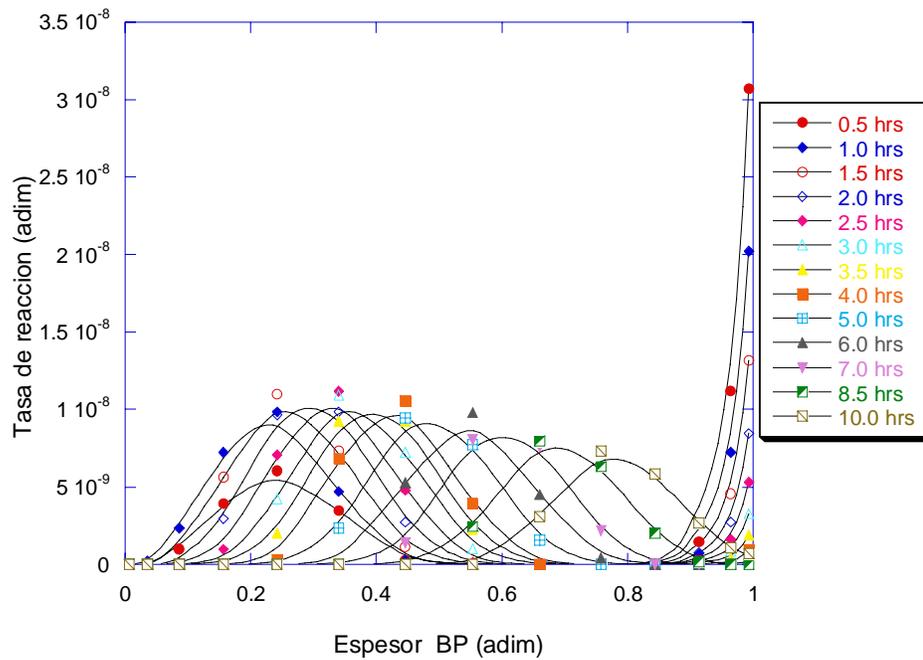


Figura 5.7. Resultados de la simulación con el modelo homogéneo de la evolución de la región donde se localiza la tasa de reacción en el interior de la biopelícula a través del tiempo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

## 5.2. El modelo heterogéneo

El desarrollo de un segundo modelo para predecir el comportamiento de las biopelículas se debe a la existencia de estudios más detallados sobre biopelículas, que demuestran que su estructura no es homogénea, como se ha considerado en el modelo anterior.

Antes de 1994, las biopelículas habían sido analizadas utilizando tanto microscopios ópticos como electrónicos, y los resultados obtenidos las mostraban como un agregado de células contenidas aleatoriamente en una red de polímeros extracelulares excretados, con un espesor y una consistencia uniformes, interactuando con el líquido externo que las rodea (Widerer y Characklis, 1989). Con la utilización simultánea de la espectroscopia confocal y de microsensores para medir oxígeno disuelto (Ver Figura 2.2), se ha obtenido una imagen diferente, que ha cambiado el concepto inicial que se tenía sobre las biopelículas, hasta el grado de considerarlas como estructuras organizadas de microorganismos ensamblados en monocapas con cualidades comparables a las de los tejidos (Costerton *et al.*, 1995).

El estudio detallado de la estructura de las biopelículas realizado por diversos investigadores ha revelado una compleja arquitectura, en la cual las células crecen en microcolonias soportadas por una matriz de polímeros extracelulares, conectadas entre sí por espacios (poros y canales) ocupados por líquido en movimiento y, que conforman una estructura heterogénea la cual interactúa con el líquido externo que las rodea (Loosdrecht *et al.*, 2002, Lewandowski *et al.*, 1995). También se ha encontrado (Lewandowski *et al.*, 1994) que dichos canales pueden o no encontrarse conectados entre sí y con la superficie de la biopelícula. Estas observaciones sugieren una estructura como la que se esquematiza en la Figura 2.1 (Lewandowski, 1998).

Massol-Deyá, *et al.* (1995) tomaron fotografías de biopelículas soportadas sobre partículas de carbón activado para tratamiento de suelos contaminados con derivados del petróleo, y encontraron que las biopelículas están formadas por canales de diversos tamaños los cuales comunican las partes más profundas con la superficie. Esta estructura incrementa el área superficial por unidad de volumen, que a su vez facilita el transporte de sustratos al interior de la biopelícula y la salida de desechos de la misma, generando mayores tasas de transporte de masa que las que pudieran alcanzarse únicamente por difusión. Estos investigadores reportan que las biopelículas crecen formando lóbulos separados por canales con espesores que varían entre 2 y 25  $\mu\text{m}$  y que éstos pueden extenderse desde la superficie hasta la parte más interna. También encuentran que la presencia de protozoarios que se alimentan de las bacterias que conforman la biopelícula, ayuda a la conservación de la red de canales ya que arrancan pedazos de ésta; por ello sostienen que esta estructura de biopelícula se conserva durante largos períodos de tiempo. Además de analizar la estructura de las biopelículas de laboratorio, estos investigadores realizaron estudios similares a biopelículas en reactores de campo, encontrando en todas ellas la presencia de canales que comunican la

superficie con las partes más profundas de la biopelícula, aun cuando las especies que conforman las diferentes biopelículas sean muy diversas. Inclusive estos autores sugieren la existencia de cierta comunicación intercelular que evita que los canales sean bloqueados por el crecimiento celular.

Otros estudios (Klapper et al., 2002) demuestran que las biopelículas se comportan como biopolímeros viscoelásticos ante los esfuerzos de corte ocasionados por el campo de flujo externo, con una superficie suave y en la mayoría de los casos filamentosa, y cuyo desprendimiento se debe tanto a la magnitud de estos esfuerzos de corte como a la edad de la biopelícula. Este “movimiento” de la biopelícula, también contribuye al transporte de masa por convección.

Una de las principales consecuencias de considerar la estructura heterogénea de una biopelícula es la magnitud de los perfiles de concentración en ella de sustratos disponibles para los microorganismos, dado que esta concentración dentro de las microcolonias es diferente a la concentración en el líquido dentro de poros y canales que las rodea. Lewandowski (1998), midió perfiles de concentración de oxígeno muy diferentes en diversas posiciones dentro de una misma biopelícula, colocando dos microelectrodos separados por una distancia aproximada de 150 micras dentro de ésta. Esto se debe a que una de estas posiciones está ocupada por el líquido contenido en canales y poros, y la otra está dentro de un conglomerado de células contenidas en los polímeros extracelulares; como se ilustra en la Figura 2.2. Estos resultados sugieren que además del transporte de masa (perpendicular) en la dirección del crecimiento a la biopelícula, también existe un transporte de masa en sentido lateral. El primero se lleva a cabo debido al gradiente de concentración entre el líquido exterior y la superficie de la biopelícula heterogénea, mientras que el segundo se realiza entre el líquido interior contenido en poros y canales y las micro colonias.

Tomando en cuenta la estructura heterogénea descrita, el modelo heterogéneo desarrollado considera, además del transporte de sustratos desde la superficie de la biopelícula, al transporte de masa desde los poros y canales hacia los agregados celulares.

La Figura 5.8 muestra el esquema que describe al sistema membrana-biopelícula como un modelo heterogéneo. En él se representa a la biopelícula formada por una fase líquida contenida en poros y canales que conectan a una fase sólida formada por polímeros extracelulares y colonias de bacterias. De izquierda a derecha se muestran: la interfase gas-membrana, la pared de la membrana, la interfase membrana-biopelícula, la biopelícula heterogénea, la interfase líquido externo-biopelícula y la fase líquida externa.

### **5.2.1. Consideraciones del modelo heterogéneo**

Para el desarrollo del modelo heterogéneo se tomaron en cuenta las mismas consideraciones que para el modelo homogéneo con la única variante de que

la biopelícula en lugar de considerarse como un sólido homogéneo se considera formada por dos fases, entre las cuales existe un intercambio de materia. Esto obliga a realizar balances de materia de las dos regiones que forman a la biopelícula.

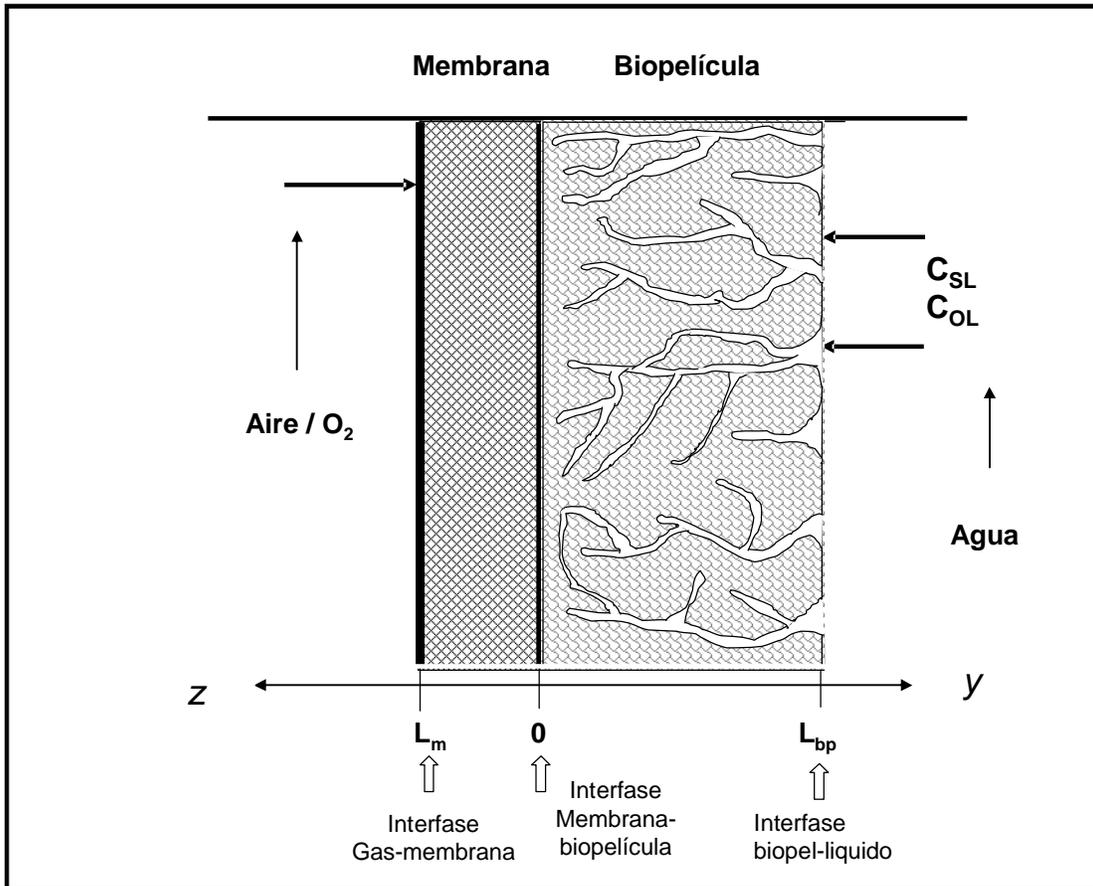


Figura 5.8. Esquema del sistema membrana-biopelícula heterogénea.

### 5.2.2. Desarrollo del modelo heterogéneo

Los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno en la parte *sólida* de la biopelícula están dados por la interacción entre la difusión al interior de la biopelícula, el transporte interfacial de masa desde el líquido contenido en poros y canales en la biopelícula, y el consumo debido a la biorreacción además de la contribución del transporte interfacial con el líquido externo. Al igual que en el modelo homogéneo el consumo se describe mediante la expresión de Monod con doble sustrato limitante, ecuación (5.7), debido a la reproducción celular, el mantenimiento y la producción de polímeros extracelulares, los cuales son idénticos. El crecimiento de la biopelícula se considera de la misma forma que en el modelo homogéneo. La proporción de

líquido y sólido dentro de la biopelícula se considera utilizando un coeficiente de porosidad ( $\varepsilon_p$ ) que corresponde a la fracción de volumen que ocupa el sólido (PEC + células) dentro del volumen total de la biopelícula, por lo que  $(1 - \varepsilon_p)$  equivale a la fracción líquida, por ello las ecuaciones de la fase sólida se encuentran multiplicadas por  $\varepsilon_p$  y las ecuaciones de la fase líquida por  $(1 - \varepsilon_p)$ .

También es importante mencionar que se consideran dos coeficientes efectivos de difusión: uno para el transporte de masa dentro de la parte sólida de la biopelícula ( $D_{eff}$ ) y otro para la parte líquida de la biopelícula ( $D_{effl}$ ). Lo mismo se supone para el transporte de masa interfacial:  $k_{lint}$  se utiliza para la transferencia de masa entre poros y canales dentro de la biopelícula;  $k_{l\text{ext}}$  para la transferencia de masa entre el líquido externo y la biopelícula.

$$\varepsilon_p \frac{\partial C_s}{\partial t} = D_{effS} \frac{\partial^2 C_s}{\partial y^2} + \varepsilon_p k_{lint} a_{vint} (C_{sl} - C_s) - \frac{1}{Y_{X/S}} R_X - m_s x - Y_{pec/s} R_{pec} \quad (5.52)$$

$$\varepsilon_p \frac{\partial C_O}{\partial t} = D_{effO} \frac{\partial^2 C_O}{\partial y^2} + \varepsilon_p k_{lint} a_{vint} (C_{Oli} - C_O) - \frac{1}{Y_{X/O_2}} R_X - m_O x - Y_{pec/O} R_{pec} \quad (5.53)$$

Las concentraciones de sustrato ( $S_l$ ) y oxígeno ( $O_l$ ) en poros y canales ocupados por el *líquido* dentro la biopelícula, están determinadas por la combinación entre los transportes de masa debidos a la difusión generada desde las dos interfases (membrana y líquido externo) y la transferencia de masa hacia la parte sólida de la biopelícula, en total ausencia de biorreacción:

$$(1 - \varepsilon_p) \frac{\partial C_{Sl}}{\partial t} = D_{effSl} \frac{\partial^2 C_{Sl}}{\partial y^2} - (1 - \varepsilon_p) k_{lint} a_{vint} (C_{Sl} - C_s) \quad (5.54)$$

$$(1 - \varepsilon_p) \frac{\partial C_{Ol}}{\partial t} = D_{effO} \frac{\partial^2 C_{Ol}}{\partial y^2} - (1 - \varepsilon_p) k_{lint} a_{vint} (C_{Ol} - C_O) \quad (5.55)$$

El balance de oxígeno en la membrana se considera igual que en el modelo homogéneo, dado por la ecuación (5.8), al igual que el crecimiento de la biopelícula.

Los balances de sustrato y oxígeno en el tanque agitado son los mismos que

en el modelo homogéneo, ecuaciones (5.1) y (3.2), sin embargo los balances del líquido en el biorreactor son diferentes ya que es necesario tomar en cuenta el transporte de masa que se reparte entre las dos regiones de la biopelícula:

$$V_R \frac{dC_{SL}}{dt} = F(C_{SLT} - C_{SL}) - V k_{l_{ext}} a_{v_{ext}} [\epsilon_p (C_{SL} - C_S) + (1 - \epsilon_p)(C_{SL} - C_{Sl})] \quad (5.56)$$

$$V_R \frac{dC_{OL}}{dt} = F(C_{OLT} - C_{OL}) - V k_{l_{ext}} a_{v_{ext}} [\epsilon_p (C_{OLT} - C_O) + (1 - \epsilon_p)(C_{OL} - C_{Ol})] \quad (5.57)$$

### 5.2.3. Las condiciones inicial y de frontera del modelo heterogéneo

En la interfase membrana-biopelícula, y recordando que la membrana es impermeable al sustrato, en  $y=0$ :

$$\frac{\partial C_S}{\partial y} = 0 \quad (5.58)$$

$$\frac{\partial C_{Sl}}{\partial y} = 0 \quad (5.59)$$

En esta misma interfase, el oxígeno proveniente de la membrana difunde simultáneamente a las dos regiones que componen a la biopelícula:

$$-D_{effOm} \frac{\partial C_{Om}}{\partial z} = \epsilon_p D_{effO} \frac{\partial C_O}{\partial y} + (1 - \epsilon_p) D_{effOl} \frac{\partial C_{Ol}}{\partial y} \quad (5.60)$$

En la interfase líquido-biopelícula  $y = l_b(t)$ , para la parte *sólida* se tiene que:

$$-\epsilon_p D_{effS} \frac{\partial C_S}{\partial y} = k_{l_{ext}} (C_{SL} - C_S) \quad (5.61)$$

$$-\epsilon_p D_{effO} \frac{\partial C_O}{\partial y} = k_{l_{ext}} (C_{OL} - C_O) \quad (5.62)$$

En forma similar, en la interfase líquido-biopelícula para la parte *líquida* de la biopelícula las condiciones de frontera son:

$$-(1 - \epsilon_p) D_{effSl} \frac{\partial C_{Sl}}{\partial y} = k_{l_{ext}} (C_{SL} - C_{Sl}) \quad (5.63)$$

$$-(1-\varepsilon_p)D_{effOl} \frac{\partial C_{Ol}}{\partial y} = k_{l_{ext}}(C_{OL} - C_{Ol}) \quad (5.64)$$

#### 5.2.4. El modelo heterogéneo adimensional

Para adimensionalizar el modelo heterogéneo se utilizaron las mismas variables de referencia que en el modelo homogéneo. Las ecuaciones resultantes se presentan a continuación:

- Balance de Oxígeno en la membrana:

$$\frac{\partial v_m}{\partial \tau} = \mathfrak{S}_S \delta^2 \frac{\partial^2 v_m}{\partial \xi^2} \quad (5.65)$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial v_m}{\partial \xi} = -\frac{\varepsilon_p \delta \mathfrak{S}_{Om}}{\gamma} \frac{\partial v}{\partial \lambda} - \frac{(1-\varepsilon_p) \delta \mathfrak{S}_{Ol}}{\gamma} \frac{\partial v_l}{\partial \lambda} \quad \text{en } \xi=0 \quad (5.66)$$

$$\frac{\partial v_m}{\partial \xi} = 1.0 \quad \text{en } \xi=1 \quad (5.67)$$

- Balance de oxígeno en la parte sólida de la biopelícula:

$$\frac{\partial v}{\partial \tau} = \frac{\varepsilon_p \zeta_O}{\gamma^2} \frac{\partial^2 v}{\partial \lambda^2} + Biot_S (v_l - v) + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial v}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} - R_O^* - y_{O/pec} R_{pec}^* \quad (5.68)$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial v_m}{\partial \xi} = -\frac{\varepsilon_p \delta \mathfrak{S}_{Om}}{\gamma} \frac{\partial v}{\partial \lambda} - \frac{(1-\varepsilon_p) \delta \mathfrak{S}_{Ol}}{\gamma} \frac{\partial v_l}{\partial \lambda} \quad \text{en } \xi=0 \quad (5.69)$$

$$\frac{\partial v}{\partial \lambda} = -\frac{\gamma Bim_O}{\varepsilon_p} (v_L - v) \quad \text{en } \lambda=1 \quad (5.70)$$

- Balance de sustrato en la parte sólida de la biopelícula:

$$\frac{\partial u}{\partial \tau} = \frac{\varepsilon_p}{\gamma^2} \frac{\partial^2 u}{\partial \lambda^2} + Biot_S (u_l - u) + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial u}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} - R_s^* - y_{s/pec} R_{pec}^* \quad (5.71)$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial u}{\partial \lambda} = 0 \quad \text{en } \lambda=0 \quad (5.72)$$

$$\frac{\partial u}{\partial \lambda} = -\frac{Bim_S \gamma}{\varepsilon_p} (u_L - u) \quad \text{en } \lambda=1 \quad (5.73)$$

- Balance de oxígeno en la parte líquida de la biopelícula:

$$\frac{\partial v_l}{\partial \tau} = \frac{(1-\varepsilon_p) \mathfrak{S}_{Ol_m}}{\gamma^2} \frac{\partial^2 v_l}{\partial \lambda^2} + Biot_S (v_l - v) + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial v_l}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} \quad (5.74)$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial v_m}{\partial \xi} = -\frac{\varepsilon_p \delta \mathfrak{S}_{Om}}{\gamma} \frac{\partial v}{\partial \lambda} - \frac{(1-\varepsilon_p) \delta \mathfrak{S}_{Ol}}{\gamma} \frac{\partial v_l}{\partial \lambda} \quad \text{en } \xi=0 \quad (5.75)$$

$$\frac{\partial v_l}{\partial \lambda} = -\frac{\gamma Bim_{Ol}}{(1-\varepsilon_p)} (v_L - v_l) \quad \text{en } \lambda=1 \quad (5.76)$$

- Balance de sustrato en la parte líquida de la biopelícula:

$$\frac{\partial u_l}{\partial \tau} = \frac{(1-\varepsilon_p)}{\gamma^2} \frac{\partial^2 u_l}{\partial \lambda^2} + Biot_S (u_l - u) + \frac{\lambda}{\gamma} \frac{\partial u_l}{\partial \lambda} \frac{d\gamma}{d\tau} \quad (5.77)$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial u_l}{\partial \lambda} = 0 \quad \text{en } \lambda=0 \quad (5.78)$$

$$\frac{\partial u_l}{\partial \lambda} = -\frac{\gamma Bim_{Sl}}{(1 - \varepsilon_p)} (u_L - u_l) \quad \text{en } \lambda=1 \quad (5.79)$$

- Balance de oxígeno en el líquido externo del biorreactor:

$$\frac{dv_l}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_r} (v_{LT} - v_L) + Biot_e [(v_L - v) + (v_L - v_l)] \quad (5.80)$$

- Balance de sustrato en el líquido externo del biorreactor:

$$\frac{du_l}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_r} (u_{LT} - u_L) + Biot_e [(u_L - u) + (u_L - u_l)] \quad (5.81)$$

- Balance de oxígeno en el tanque agitado:

$$\frac{dv_{LT}}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_{red1}} (v_L - v_{LT}) + \beta (1 - v_{LT}) \quad (5.82)$$

- Balance de sustrato en el tanque agitado:

$$\frac{du_{LT}}{d\tau} = \frac{\theta}{\tau_{red1}} (u_L - u_{LT}) \quad (5.83)$$

### 5.2.5. La solución numérica del modelo heterogéneo por colocación ortogonal

- Oxígeno en la parte sólida de la biopelícula

1. En la interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ):

$$\sum_{j=1}^{M+2} E_{i,j} v_{mj} = -\frac{\varepsilon_p \delta \mathcal{S}_{Om}}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} v_j - \frac{(1 - \varepsilon_p) \delta \mathcal{S}_{Ol}}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} v_{lj} \quad (5.84)$$

2. En el interior de la parte sólida de la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$\begin{aligned} \frac{dv_i}{d\tau} = & \frac{\varepsilon_p \zeta_O}{\gamma^2} \sum_{j=1}^{N+2} B_{i,j} v_j + Biot_S (v_{li} - v_i) + \\ & + \frac{\lambda}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_j \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{x_j} - R_{O_i}^* - y_{O/pec} R_{peci}^* \end{aligned} \quad (5.85)$$

3. En la interfase biopelícula-líquido ( $i = N + 2$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_j = \frac{\gamma Bim_O}{\varepsilon_p} (v_{Li} - v_i) \quad (5.86)$$

- Sustrato en la parte sólida de la biopelícula

1. En interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_j = 0 \quad (5.87)$$

2. En el interior de la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$\begin{aligned} \frac{du_i}{d\tau} = & \frac{\varepsilon_p}{\gamma^2} \sum_{j=1}^{N+2} B_{i,j} u_j + Biot_S (u_{li} - u_i) + \\ & + \frac{\lambda}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_j \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{x_j} - R_{si}^* - y_{s/pec} R_{peci}^* \end{aligned} \quad (5.88)$$

3. En la interfase biopelícula-líquido ( $i = N + 2$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_j = -\frac{\gamma Bim_S}{\varepsilon_p} (u_{Li} - u_i) \quad (5.89)$$

- Oxígeno en la parte líquida de la biopelícula

1. En la interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ):

$$\sum_{j=1}^{M+2} E_{i,j} v_{mj} = -\frac{\varepsilon_p \delta \mathfrak{S}_{Om}}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} v_j - \frac{(1 - \varepsilon_p) \delta \mathfrak{S}_{Ol}}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} v_{lj} \quad (5.90)$$

2. En el interior de la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$\frac{\partial v_{li}}{\partial \tau} = \frac{(1 - \varepsilon_p) \mathfrak{S}_{Ol}}{\gamma^2} \sum_{j=1}^{N+2} B_{i,j} v_{lj} + Biot_S (v_{li} - v_i) + \frac{\lambda}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_{lj} \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{xj} \quad (5.91)$$

3. En la interfase líquido-biopelícula ( $i = N + 2$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_{lj} = - \frac{\gamma Bim_{Ol}}{(1 - \varepsilon_p)} (v_{Li} - v_{li}) \quad (5.92)$$

- Sustrato en la parte líquida de la biopelícula

1. En la interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_{lj} = 0 \quad (5.93)$$

2. En el interior de la biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$\frac{\partial u_{li}}{\partial \tau} = \frac{(1 - \varepsilon_p)}{\gamma^2} \sum_{j=1}^{N+2} B_{i,j} u_{lj} + Biot_S (u_{li} - u_i) + \frac{\lambda}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} v_{lj} \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{xj} \quad (5.94)$$

3. En la interfase biopelícula-líquido ( $i = N + 2$ ):

$$\sum_{j=1}^{N+2} A_{i,j} u_{lj} = - \frac{\gamma Bim_{Sl}}{(1 - \varepsilon_p)} (u_{Li} - u_{li}) \quad (5.95)$$

- Oxígeno en la membrana

1. En la interfase gas-membrana ( $i = M + 2$ ):

$$\sum_{j=1}^{M+2} E_{i,j} v_{mj} = 1.0 \quad (5.96)$$

2. En la membrana ( $i = 2, M + 1$ ):

$$\frac{\partial v_m}{\partial \tau} = \mathfrak{S}_S \delta^2 \sum_{j=1}^{M+2} G_{i,j} v_{mj} \quad (5.97)$$

3. En la interfase membrana-biopelícula ( $i = 1$ ):

$$\sum_{j=1}^{M+2} E_{i,j} v_{mj} = -\frac{\varepsilon_p \delta \mathfrak{S}_{Om}}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} v_j - \frac{(1 - \varepsilon_p) \delta \mathfrak{S}_{Ol}}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} v_{lj} \quad (5.84)$$

• La tasa de producción de biomasa en  $i = 2, N + 1$ :

$$R_{x_i}^* = \phi^2 \chi_i \left( \frac{u_i}{K_S^* + u_i} \right) \left( \frac{v_i}{K_O^* + v_i} \right) \quad (5.98)$$

• La tasa de consumo de sustrato ( $i = 2, N + 1$ ):

$$R_{s_i}^* = \alpha_s \phi^2 \chi_i \left( \frac{u_i}{K_S^* + u_i} \right) \left( \frac{v_i}{K_O^* + v_i} \right) \quad (5.99)$$

• La tasa de consumo de oxígeno ( $i = 2, N + 1$ ):

$$R_{O_i}^* = \alpha_O \phi^2 \chi_i \left( \frac{u_i}{K_S^* + u_i} \right) \left( \frac{v_i}{K_O^* + v_i} \right) \quad (5.100)$$

• La velocidad de aumento del espesor de biopelícula ( $i = 2, N + 1$ ):

$$\frac{d\gamma}{d\tau} = \frac{\alpha_l}{\gamma} \sum_{j=1}^{N+2} w_j R_{x_j}^* \quad (5.101)$$

Nuevamente en este caso, se resolvió el sistema de ecuaciones ordinarias no lineales obtenido con un método de Runge Kutta de 4º orden. Para lo cual se

elaboró otro programa en Lenguaje Fortran 99 llamado **bpmo<sub>dh</sub>et** cuyo diagrama de flujo general es el mismo que el del programa **bpmo<sub>dh</sub>om** y que se muestra en la Figura 5.3.

### 5.2.6. Resultados de la simulación con el modelo heterogéneo

En esta sección se muestran los resultados obtenidos con el modelo heterogéneo y se analizan y comparan las principales diferencias con el modelo homogéneo. Una de las diferencias más importantes es que en lugar de obtener un perfil de concentración dentro de la biopelícula para cada sustrato se obtienen dos perfiles para cada uno, uno para la parte sólida y el otro para los poros y canales llenos de líquido (ver Figura 5.9), tal como los muestran los resultados experimentales obtenidos por Lewandoski (1998) y que se muestran en la Figura 2.2. La Figura 5.10 muestra la evolución de los perfiles de concentración de oxígeno al interior de la parte sólida de la biopelícula a través del tiempo y la Figura 5.11, los perfiles de concentración de oxígeno dentro de los poros y canales de la biopelícula a través del tiempo, para el caso en que se alimenta oxígeno por la membrana y no se burbujea aire en el líquido (al igual que los resultados mostrados para el caso homogéneo)

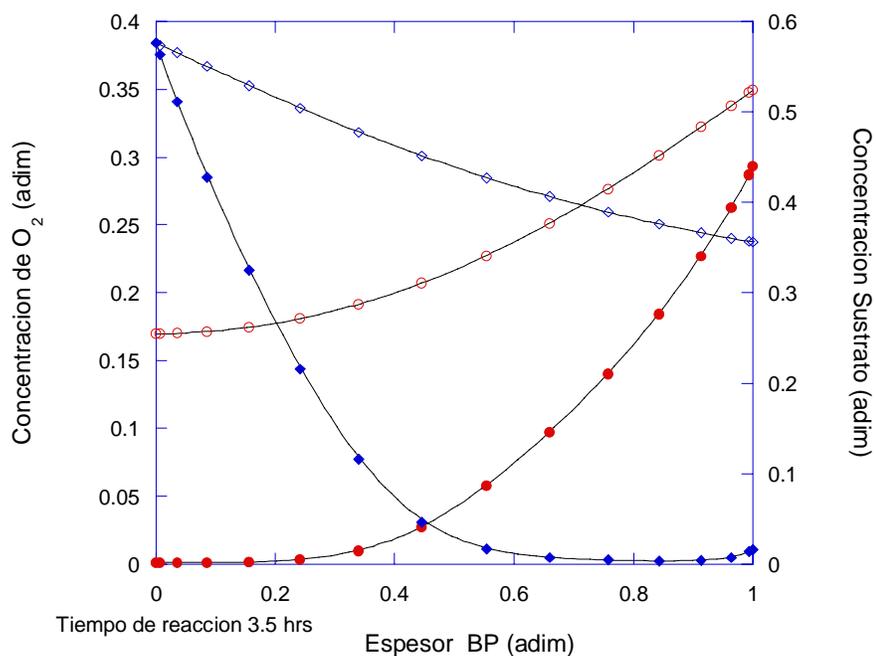


Figura 5.9. Perfiles de concentración de oxígeno y sustrato en las partes sólida y líquida de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana). ● - Sustrato en la parte sólida, ○ - sustrato en poros y canales, ◆ - oxígeno en la parte sólida, ◇ - oxígeno en poros y canales.

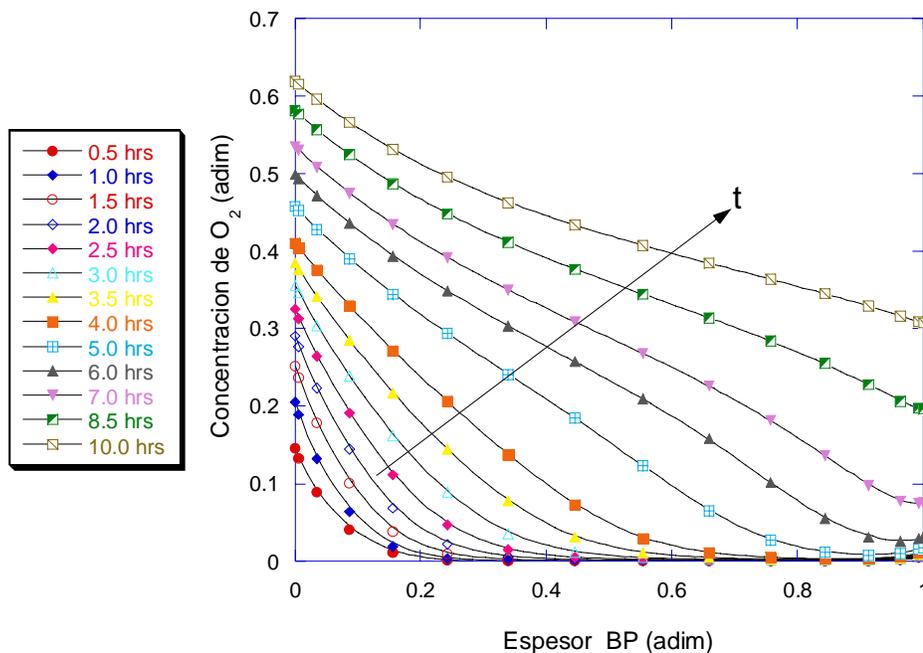


Figura 5.10. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en la parte sólida de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

En la figura 5.10 se observa que la concentración de oxígeno en la parte sólida de la biopelícula al principio es similar a la concentración simulada con el modelo homogéneo (ver Figura 5.5), sin embargo el modelo heterogéneo predice que la penetración de oxígeno es mayor y que toda la biopelícula cuenta con oxígeno. Esto puede comprenderse mejor si se observa la figura 5.11 en la que se encuentran graficados los perfiles de concentración de oxígeno en poros y canales a lo largo del tiempo. La concentración de oxígeno en esta parte de la biopelícula es mayor ya que no hay consumo en poros y canales, e inclusive se observa que el oxígeno atraviesa toda la biopelícula y sale al líquido externo por estos poros. De esta forma el oxígeno que se encuentra en poros y canales se transfiere a la parte sólida de la biopelícula como se consideró en modelo heterogéneo. Aquí se debe recordar, que a diferencia del sustrato, el oxígeno se alimenta continuamente a través de la membrana.

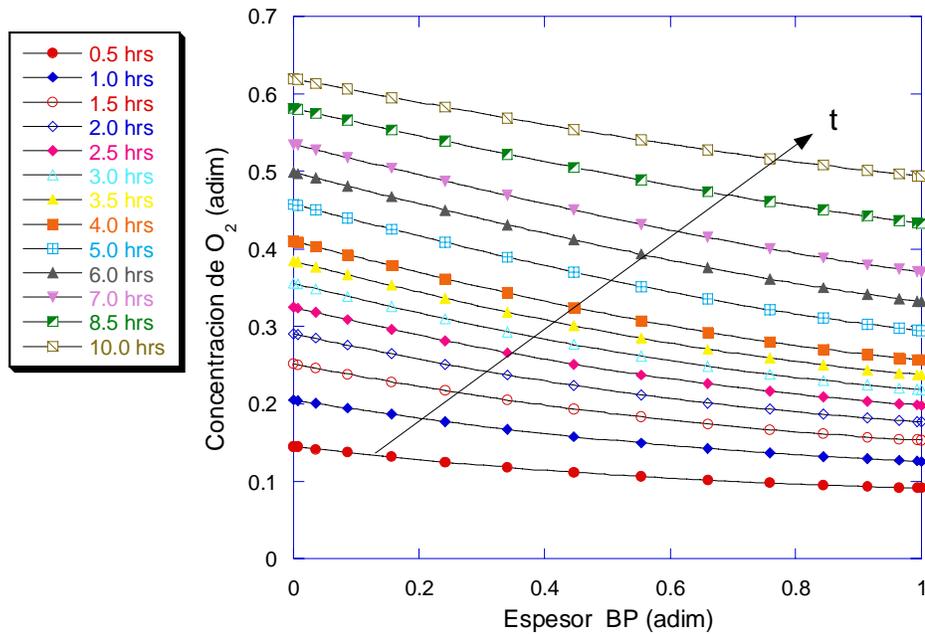


Figura 5.11. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en poros y canales al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

La Figura 5.12. muestra la evolución de los perfiles de concentración de sustrato en la parte sólida de la biopelícula a través del tiempo. En ella se observa que el sustrato penetra a toda la biopelícula y va agotándose a lo largo del tiempo, sin embargo las concentraciones son mayores que en los resultados obtenidos con el modelo homogéneo, lo cual se debe, al igual que en el caso del oxígeno, a la transferencia de masa desde poros y canales hacia la parte sólida de la biopelícula. La figura 5.13 muestra la evolución de los perfiles de concentración de sustrato en poros y canales a través del tiempo, los cuales presentan una concentración mayor de sustrato que en la parte sólida.

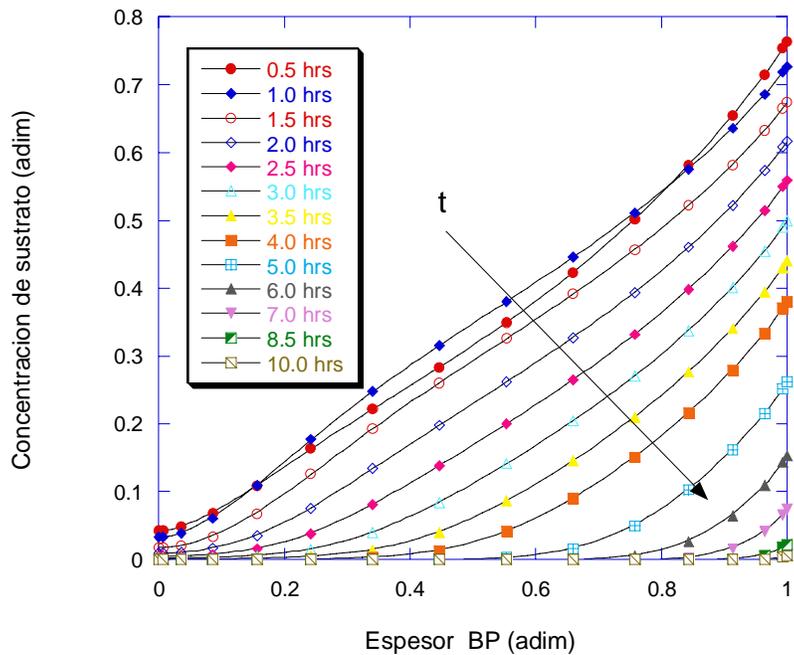


Figura 5.12. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en la parte sólida de la biopelícula, a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

En la Figura 5.14 se muestra la evolución de la región donde ocurre la biorreacción a través del tiempo, descritas por el modelo heterogéneo; hay que recordar que este modelo considera que la reacción se lleva a cabo únicamente en la parte sólida de la biopelícula. De acuerdo con los resultados obtenidos con este modelo la reacción se lleva a cabo en toda la biopelícula y no únicamente en zonas determinadas, como lo predice el modelo homogéneo, aunque sí existen zonas con mayor o menor tasa de reacción. El hecho de que exista reacción en toda la biopelícula es importante porque puede explicar la importancia de los poros y canales y por tanto de la estructura de la biopelícula. También se puede esperar que si todas las células dentro de la biopelícula cuentan con los nutrientes necesarios, ésta es una razón para que los microorganismos vivan formando biopelículas en la naturaleza.

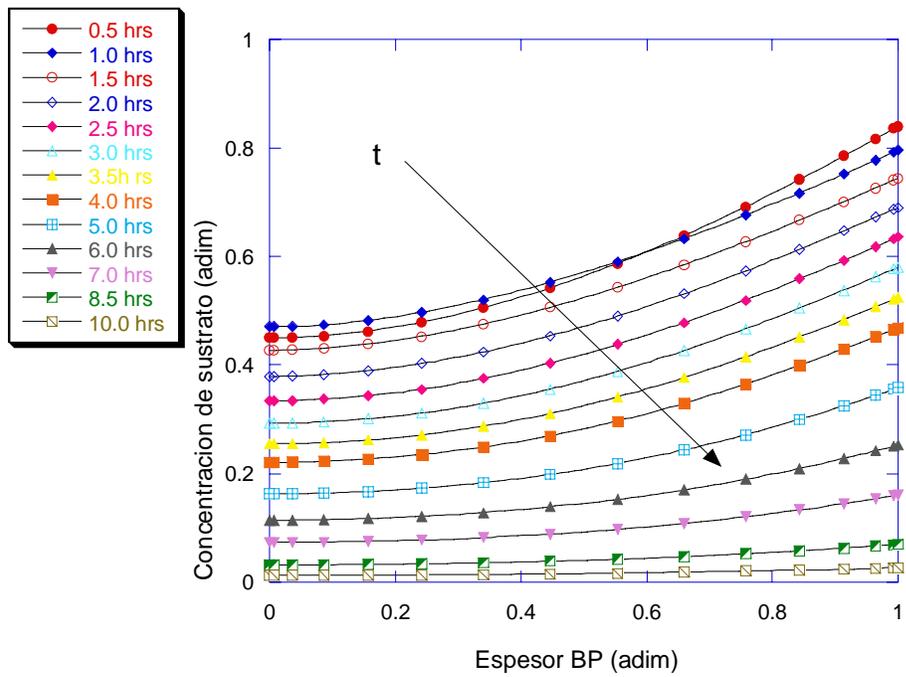


Figura 5.13. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en poros y canales al interior de la biopelícula, a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

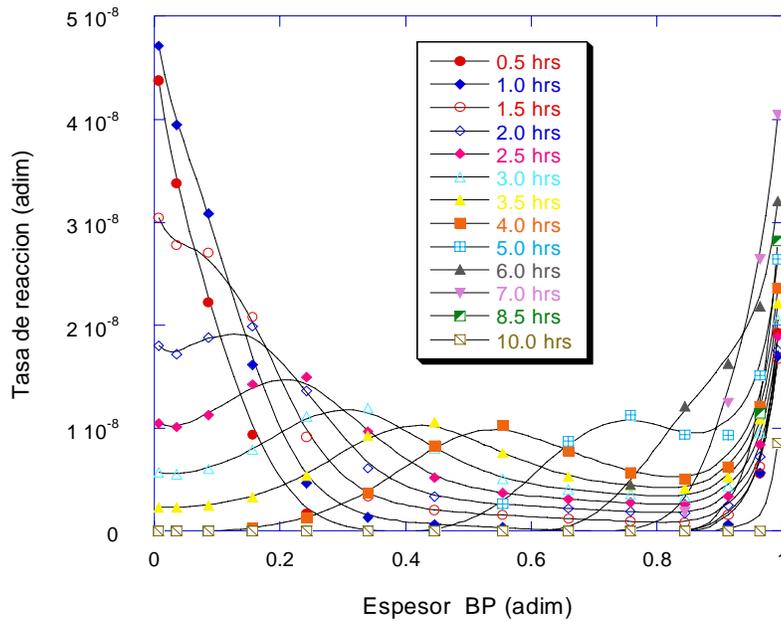


Figura 5.14. Evolución de la región donde ocurre la biorreacción al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

### 5.3 La estimación de los parámetros cinéticos y de transporte

De entre todos los resultados experimentales presentados anteriormente se eligieron tres juegos de datos para llevar a cabo la estimación de los parámetros. Los resultados elegidos fueron los obtenidos utilizando tres diferentes formas de suministro de oxígeno: 1) alimentación de aire a través de la membrana y aire a través del líquido, 2) oxígeno a través de la membrana y 3) oxígeno a través de la membrana y aire por el líquido.

A partir de estos datos experimentales de consumo de sustrato y oxígeno disuelto en el líquido, y utilizando el modelo homogéneo descrito en el capítulo 5, se llevó a cabo la estimación de los parámetros más importantes del modelo como son: las difusividades efectivas a través de la biopelícula de sustrato y oxígeno, la velocidad máxima de crecimiento, las constantes de saturación de sustrato y oxígeno, los coeficientes de transferencia de masa interfacial, y la concentración inicial de biomasa en la biopelícula. Se utilizó el programa en Fortran GAUSHAUS, desarrollado en el Centro de Cómputo de la Universidad de Wisconsin (Meeter, 1965). Este programa utiliza el método de Marquardt para la estimación de parámetros, el cual combina el método de Gauss (series de Taylor) y el método de gradiente máximo descendente. Este programa se acopló al del modelo homogéneo para resolver las ecuaciones del biorreactor de biopelícula. Debido a la cantidad de datos experimentales con la que se contaba, se procedió primero a estimar las difusividades de sustrato y oxígeno utilizando los resultados de la corrida en donde se alimentó oxígeno por la membrana, después se utilizaron los resultados obtenidos para estimar los coeficientes de transferencia de masa y la concentración inicial de biomasa con los resultados de la corrida en la que se alimentó aire a través de la membrana y se burbujeó aire en el líquido. La constante máxima de crecimiento y las constantes de Monod para sustrato y oxígeno se obtuvieron utilizando los datos experimentales de la corrida en la cual se alimentó oxígeno a través de la membrana y se burbujeó aire por el líquido. De esta manera el mismo modelo es capaz de predecir las concentraciones en el líquido para los tres casos.

En cuanto al coeficiente efectivo de difusión para el sustrato, se obtuvo un valor de  $4.0 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ , (niveles de confianza:  $+0.043 \times 10^{-4}$   $-0.021 \times 10^{-4}$ ), el cual se encuentran dentro del rango utilizado para biopelículas, por los diferentes autores:  $7.4 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Casey *et al.*, 1999);  $1.32 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Pavasant *et al.*, 1997);  $1.5 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Livingston *et al.*, 1998);  $6.66 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Freitas dos Santos y Livingston, 1995 a).

Para el coeficiente efectivo de difusión de oxígeno a través de la biopelícula se obtuvo un valor de  $5.2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ , con un intervalo de confianza entre  $+0.045 \times 10^{-5}$  y  $-0.038 \times 10^{-5}$ ; y los valores reportados en la literatura son:  $1.5 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Casey *et al.*, 1999),  $2.38 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Pavasant *et al.*, 1997),  $2.4 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Nicolella *et al.*, 2000),  $1.54 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Freitas dos Santos y Livingston, 1995 a),  $2.1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  (Cussler, 1989).

El coeficiente de masa interfacial para sustrato y oxígeno estimado fue de  $9.0 \times 10^{-5} \text{ cm/s}$ , con un intervalo de confianza de:  $+0.089 \times 10^{-4}$  y  $-0.065 \times 10^{-4}$ ; y los

valores reportados en la literatura son:  $5.95 \times 10^{-4}$  cm/s (Casey *et al.*, 1999),  $4.92 \times 10^{-3}$  cm/s (Freitas dos Santos y Livingston, 1995 a),  $9.2 \times 10^{-4}$  cm/s (Pavasant *et al.*, 1997),  $1.64 \times 10^{-5}$  cm/s (Freitas dos Santos y Livingston, 1994).

La velocidad máxima de crecimiento encontrada fue de  $0.64 \text{ h}^{-1}$ , la cual resulta ligeramente baja comparada con el valor reportado para lodos activados de  $1.0 \text{ h}^{-1}$  (Bailey & Ollis, 1994) en células libres. En cuanto a la concentración de biomasa esta fue de 25.0 g/l de líquido dentro del reactor, lo cual se encuentra dentro del mayor valor reportado de 30 g/l de líquido.

La tabla 5.2 muestra la serie completa de datos con el que se realizaron las simulaciones para los diferentes casos de estudio, y las Figuras 5.15 y 5.16 muestran los resultados de estas simulaciones para los tres casos de estudio que resultaron ser los más eficientes en la remoción del sustrato: aire-aire, oxígeno por membrana y oxígeno-aire. En las Figuras 5.15 y 5.16 se muestran con puntos los datos experimentales obtenidos y con líneas los resultados de la simulación para concentración de sustrato y oxígeno respectivamente, en los tres casos utilizados para llevar a cabo la estimación de los parámetros de transporte y biorreacción. Para fines comparativos se presentan los resultados en forma adimensional, lo cual significa que la concentración inicial para cada caso es igual a 1.0 y va disminuyendo comparativamente, al igual que la del oxígeno, en el que 1.0 representa la concentración de oxígeno en el equilibrio.

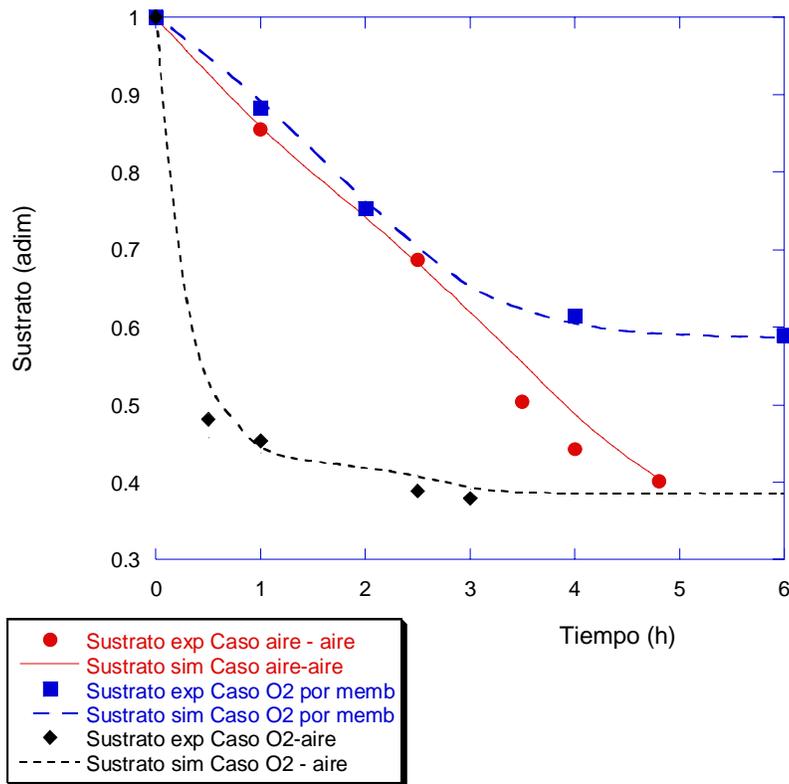


Figura 5.15. Comparación entre las concentraciones medidas y calculadas de sustrato en el líquido.

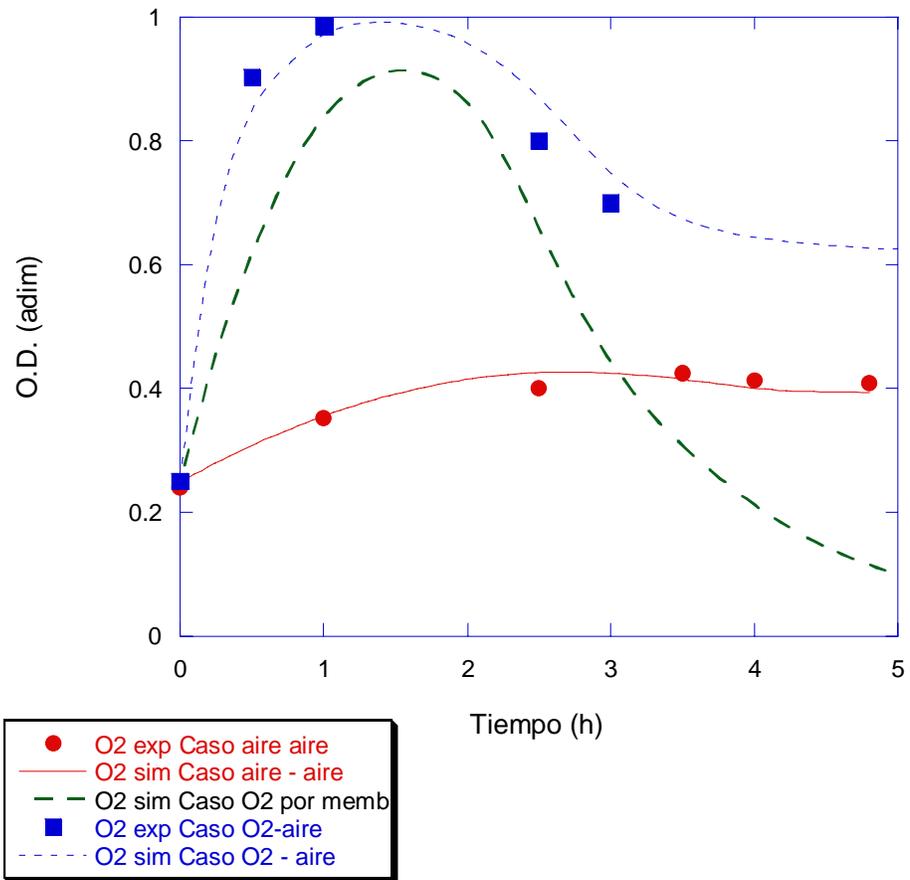


Figura 5.16. Comparación entre las concentraciones medidas y calculadas de oxígeno disuelto en el líquido.

Tabla 5.2 Parámetros estimados para reactor de membrana con biopelícula

<b>PARÁMETRO</b>	<b>VALOR</b>	<b>INTERVALO DE CONFIANZA</b>
Densidad de biopelícula	0.8 (g/cm <sup>3</sup> )	Medido
Espesor inicial de biopelícula	0.3 (cm)	Medido
Diámetro de burbuja	0.05 (cm)	Medido
Coefficiente de difusión de O.D. en la biopelícula	0.52 x10 <sup>-5</sup> (cm <sup>2</sup> /s)	+0.048x10 <sup>-5</sup> - 0.038x10 <sup>-5</sup>
Coefficiente de difusión de O.D. en la membrana	0.31x10 <sup>-3</sup> (cm <sup>2</sup> /s)	+0.023x10 <sup>-3</sup> - 0.019x10 <sup>-3</sup>
Coefficiente de difusión de sustrato en la biopelícula	0.41x10 <sup>-5</sup> (cm <sup>2</sup> /s)	+0.043x10 <sup>-5</sup> - 0.021x10 <sup>-5</sup>
Concentración inicial de biomasa en la biopelícula	25.0x10 <sup>-3</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	+1.1 -0.87
Concentración inicial de OD en la biopelícula	0.0 (g/cm <sup>3</sup> )	Condición inicial
Concentración inicial de OD en el biorreactor	2.50x10 <sup>-3</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	Medido
Concentración inicial de sustrato en la biopelícula	0.0 (g/cm <sup>3</sup> )	Condición inicial

Concentración inicial de sustrato en el biorreactor	0.723 (g/cm <sup>3</sup> )	Medido
Coefficiente de masa interfacial líquido - biopelícula	0.90 x 10 <sup>-04</sup> (cm/s)	+0.089x10 <sup>-4</sup> -0.065x10 <sup>-4</sup>
Volumen del biorreactor	1.0x10 <sup>-1</sup> (cm <sup>3</sup> )	Medido
Tasa máxima de crecimiento	0.17 x 10 <sup>-03</sup> (s <sup>-1</sup> )	+0.021x10 <sup>-3</sup> - 0.013x10 <sup>-3</sup>
Espesor de la membrana	0.40 x 10 <sup>-01</sup> (cm)	Medido
Constante cinética de Monod para oxígeno	5.0 x 10 <sup>-05</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	+0.72x10 <sup>-5</sup> -0.93x10 <sup>-5</sup>
Constante cinética de Monod para sustrato	55.0 x 10 <sup>-05</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	+4.9x10 <sup>-5</sup> -3.7x10 <sup>-5</sup>
Volumen del tanque agitado	200.0 (cm <sup>3</sup> )	Medido
Flujo de agua	2.0 (cm <sup>3</sup> /s)	Medido
Coefficiente de rendimiento X/O <sub>2</sub>	0.7 (g BM/g O <sub>2</sub> )	Bailey y Ollis, 1986
Coefficiente de rendimiento X/S	0.36	Bailey y Ollis, 1986
Porosidad (%)	0.8	+0.09 -0.07

## 5.4 Conclusiones

Como se mostrará más adelante en los Capítulos 6, 7 y 8, los dos modelos desarrollados en este trabajo son capaces de predecir la evolución de las concentraciones en el líquido, así como los perfiles de éstas en la membrana y al interior de la biopelícula (Ver capítulos 6, 7 y 8). El modelo homogéneo predice aceptablemente las mediciones experimentales en el líquido y requiere de menor número de parámetros que el modelo heterogéneo. Sin embargo, el modelo heterogéneo además de que también predice adecuadamente los resultados experimentales, simula los perfiles al interior de la biopelícula tal como lo reportado por Lewandowski, (1998). El hecho de que dentro de las biopelículas la hidrodinámica y la cinética se encuentran íntimamente relacionadas entre sí (Lewandowski *et al.*, 1994), hace que el encontrar los perfiles de concentración de sustratos al interior de la misma sea de gran importancia. Por ello el considerar la estructura heterogénea de la biopelícula ha sido uno de los resultados más relevantes de este estudio.

## **Capítulo 6**

### **Las diferentes formas de suministro de oxígeno a la biopelícula**

*En este capítulo se analizan teóricamente las posibles razones por las que las diferentes formas de suministrar oxígeno a la biopelícula influyen en la velocidad de consumo de sustrato observada experimentalmente. Se realiza un estudio detallado de las cinco diferentes formas de suministrar oxígeno a la biopelícula dentro del biorreactor de membrana que se analizaron experimentalmente. Para llevar a cabo este estudio se utilizaron los resultados de las corridas experimentales descritas en el inciso 4.7, alimentando oxígeno o aire al reactor de diferentes maneras. Después de haber realizado la estimación de los parámetros cinéticos y de transporte, se obtuvieron los perfiles de concentración de sustrato, oxígeno, biomasa y PEC al interior de la biopelícula para los tres casos que presentaron un mayor consumo de sustrato, utilizando los dos modelos. Se presenta un análisis de las áreas activas de biorreacción dentro de la biopelícula descritas con ambos modelos y se comparan entre sí.*

Como se mencionó anteriormente, para estudiar los efectos de la forma de alimentar oxígeno a la biopelícula se eligieron los siguientes métodos de suministro de oxígeno: 1) alimentar aire únicamente por la membrana y usar nitrógeno para agitar el líquido en el tanque agitado; 2) alimentar aire por el interior de la membrana y aire por el líquido; 3) alimentar oxígeno únicamente por la membrana; 4) alimentar oxígeno por la membrana y burbujear aire en el líquido, y 5) únicamente burbujear aire en el líquido contenido en el tanque agitado.

Caso	Membrana	Líquido
1	aire	- - - -
2	aire	aire
3	O <sub>2</sub>	- - - -
4	O <sub>2</sub>	aire
5	N <sub>2</sub>	aire

De entre los cinco casos de estudio realizados experimentalmente se eligieron los tres casos que presentan mayor degradación de sustrato: el caso 2 (aire-aire), el caso 3 (oxígeno por membrana) y el caso 4 (oxígeno-aire), para evaluar los parámetros cinéticos y de transporte. Utilizando los parámetros obtenidos, reportados en el inciso 4.10, se realizaron las predicciones de concentración de sustrato y oxígeno en el líquido y en el interior de la biopelícula, con ambos modelos.

### 6.1 Comparación de las diferentes formas de suministro de oxígeno de acuerdo con las predicciones del modelo homogéneo

La Figura 6.1 muestra los resultados experimentales de concentración de sustrato en el líquido a través del tiempo para el caso 3 (oxígeno por membrana), así como los resultados de la simulación obtenidos con el modelo homogéneo. Se observa que la concentración predicha de oxígeno disuelto en el líquido aumenta a valores mayores de 5.2 mg /l (concentración de saturación de oxígeno proveniente de aire en agua, a las condiciones experimentales), lo cual puede deberse a que la biopelícula no presenta el mismo espesor a lo largo de toda la membrana, permitiendo el paso de oxígeno de la membrana hacia el líquido de manera muy rápida en las secciones donde la biopelícula es muy delgada. Sin embargo, después de dos horas la concentración de oxígeno disuelto va disminuyendo con el tiempo debido a que el oxígeno difunde del líquido hacia la biopelícula, donde éste es consumido por las células.

La Figura 6.2 muestra los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno al interior de la biopelícula después de 5 horas de iniciada la reacción, y la tasa de producción de biomasa (Rx) para el mismo tiempo. En esta Figura, al igual que en las siguientes, se presenta el espesor de la biopelícula en forma adimensional; el valor de cero representa la interfase membrana-biopelícula y el valor de uno, a la interfase líquido-biopelícula. En ella se observa que el sustrato penetra desde la interfase líquido-biopelícula hacia el interior de la biopelícula hasta un espesor adimensional cercano a 0.2, es decir, ha penetrado casi el 80 % de la biopelícula. Mientras tanto el oxígeno entra a la biopelícula desde la membrana y tanto éste como el sustrato se consumen por las células en una región ubicada entre el 20 y el 50 % de la biopelícula

desplazada hacia la membrana, y se observa que en esta zona tanto la fuente de carbono como el oxígeno son sustratos limitantes. También se observa una muy pequeña tasa de reacción cercana a la interfase líquido-biopelícula debido a la presencia del oxígeno en el líquido externo (Ver Figura 6.1); en esta zona de reacción el único sustrato limitante es el oxígeno ya que la concentración de sustrato en esta zona es cercana a la mitad de la concentración inicial de sustrato. Debe recordarse que esta gráfica sería el equivalente a tomar una fotografía instantánea en el tiempo, ya que estos perfiles cambian constantemente con el tiempo.

La Figura 6.3 muestra los resultados experimentales y simulados de concentraciones de sustrato y oxígeno disuelto en el líquido para el caso 4 (oxígeno-aire), y la Figura 6.4 muestra los perfiles de concentración de sustrato, oxígeno, y la tasa de reacción al interior de la biopelícula.

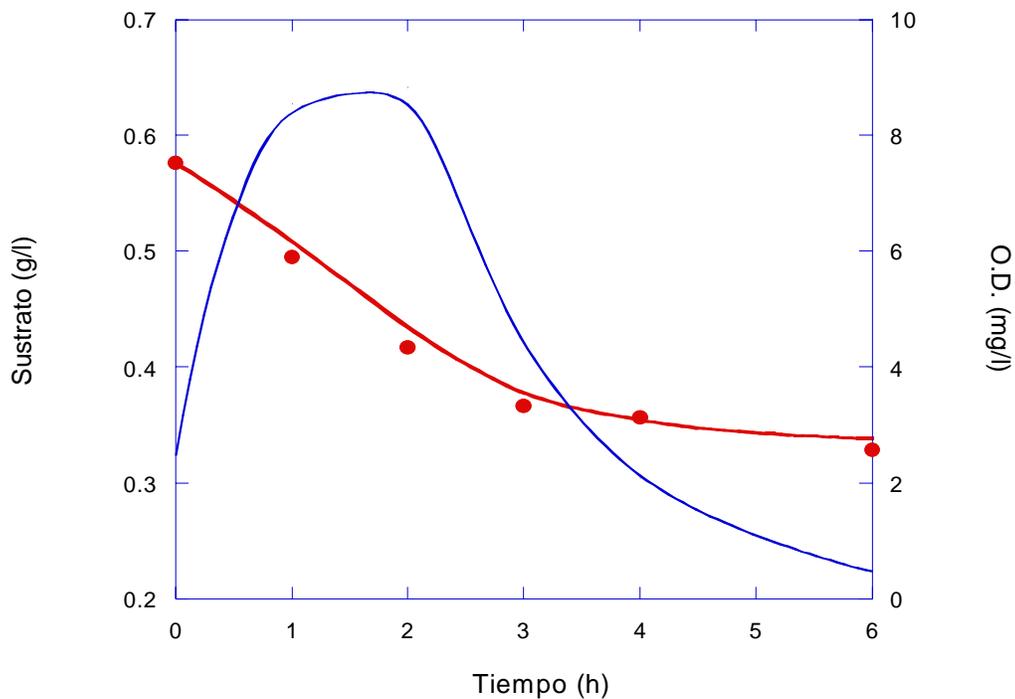


Figura 6.1. Comparación entre la concentración de sustrato en el líquido experimental y calculada para el caso 3 ( $O_2$  por membrana). ● - Sustrato experimental, — - Sustrato calculado, — - Oxígeno calculado.

Al igual que en el caso anterior el sustrato entra a la biopelícula desde la interfase líquido-biopelícula y la penetración del éste al interior de la biopelícula es casi idéntica que en el caso anterior aunque una parte del sustrato se consume en la región de la biopelícula cercana a la interfase con el líquido debido al oxígeno disuelto proveniente de éste. Por otra parte, el oxígeno presenta perfiles de concentración también muy parecidos a los del caso 3. Sin embargo, en este caso el sustrato que entra a la biopelícula se consume

parcialmente por las células cercanas a la interfase con el líquido, utilizando el oxígeno proveniente de éste, pero éste oxígeno no es suficiente para consumir todo el sustrato, y el oxígeno continúa difundiéndose hacia el otro extremo de la biopelícula hasta llegar a la zona en la que el oxígeno proveniente de la membrana ha penetrado, y entonces las células en esta región pueden consumir parte del sustrato. Por lo tanto se observan dos zonas de reacción: una cercana a la interfase líquido-biopelícula en la que el único sustrato limitante es el oxígeno y otra en la mitad de la biopelícula cercana a la membrana, en la que tanto el oxígeno como la fuente de carbono son sustratos limitantes.

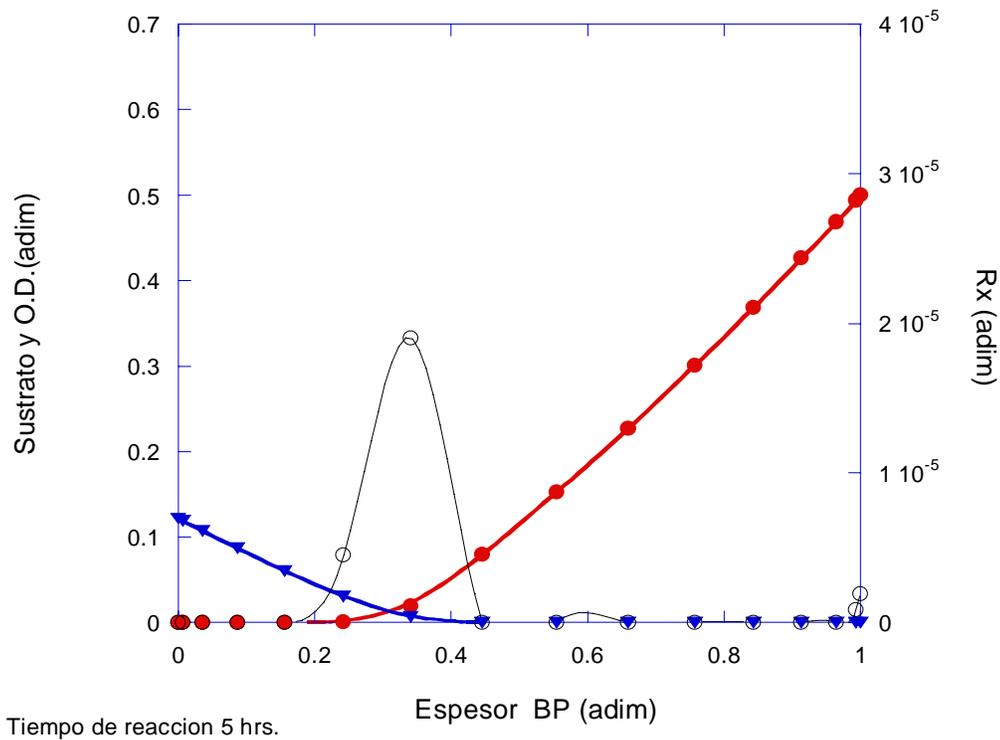


Figura 6.2. Predicción de los perfiles de concentración de sustrato, oxígeno, y de la tasa de reacción al interior de la biopelícula para el caso 3 (oxígeno por membrana.: ● – Sustrato, ▼ - oxígeno, ○ - Rx.

Por último se analizó el caso 2 (aire-aire); la Figura 6.5 muestra los resultados experimentales y simulados de concentración de sustrato y oxígeno en el líquido, a través del tiempo, y la Figura 6.8 muestra los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno al interior de la biopelícula y la tasa de producción de biomasa, después de 5 horas de iniciada la reacción.

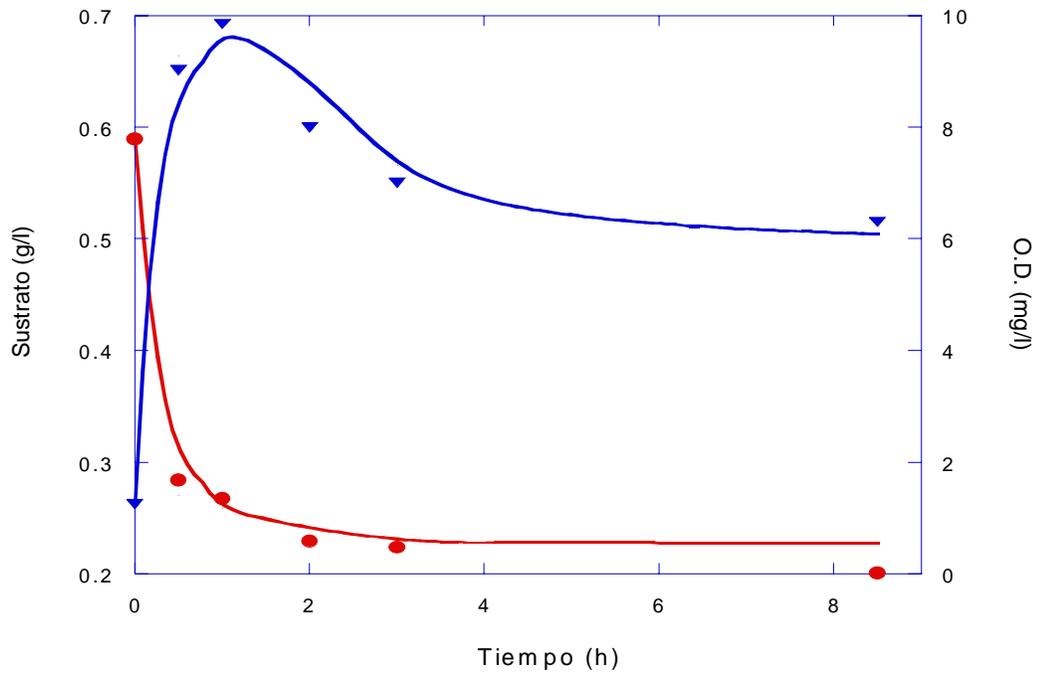


Figura 6.3. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculada para el caso 4 ( $O_2$  - aire). ● - Sustrato experimental, — Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — - oxígeno calculado.

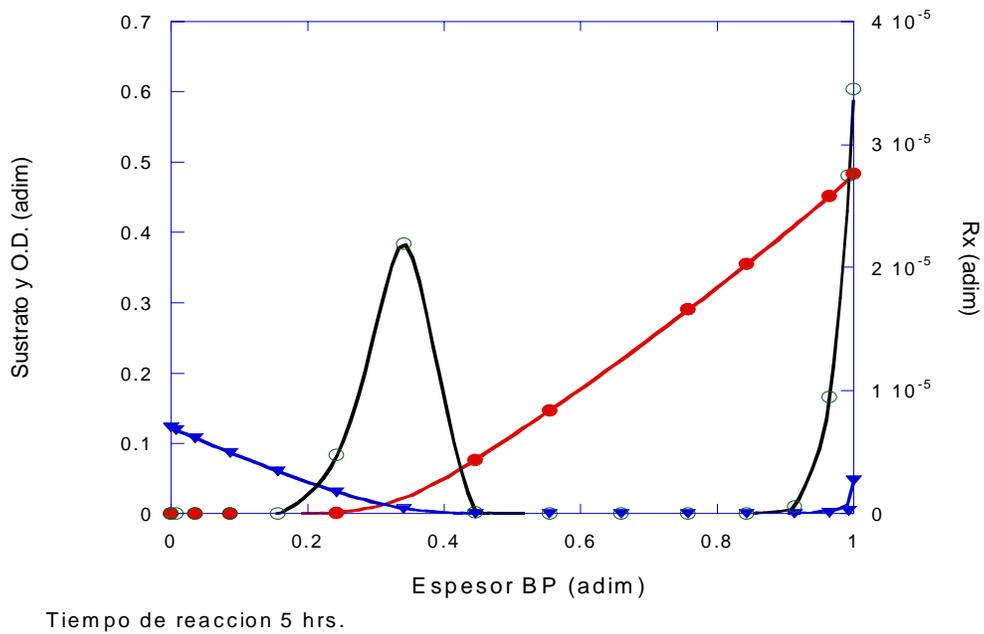


Figura 6.4. Predicción de los perfiles de concentración de sustrato, oxígeno y de la tasa de reacción al interior de la biopelícula para el caso 4 ( $O_2$  - aire). ● - Sustrato, ▼ - oxígeno, ○ - Rx.

En este caso el sustrato proveniente del líquido difunde a través de toda la biopelícula llegando hasta la membrana; el oxígeno entra a la biopelícula por sus dos interfases con concentraciones muy similares en ambas, aunque es ligeramente mayor la penetración en la interfase membrana-biopelícula. El sustrato que entra a la biopelícula se consume con el oxígeno proveniente del líquido pero, al igual que en el caso 4, no se consume totalmente y continúa atravesando la biopelícula hasta la zona que contiene el oxígeno proveniente de la membrana. Ahí los microorganismos se encargan de consumirlos. Por lo anterior se observan dos regiones, en los extremos de la biopelícula, con altas tasas de reacción y una zona que ocupa el centro de la biopelícula en donde no se presenta ninguna reacción debido a la carencia de oxígeno.

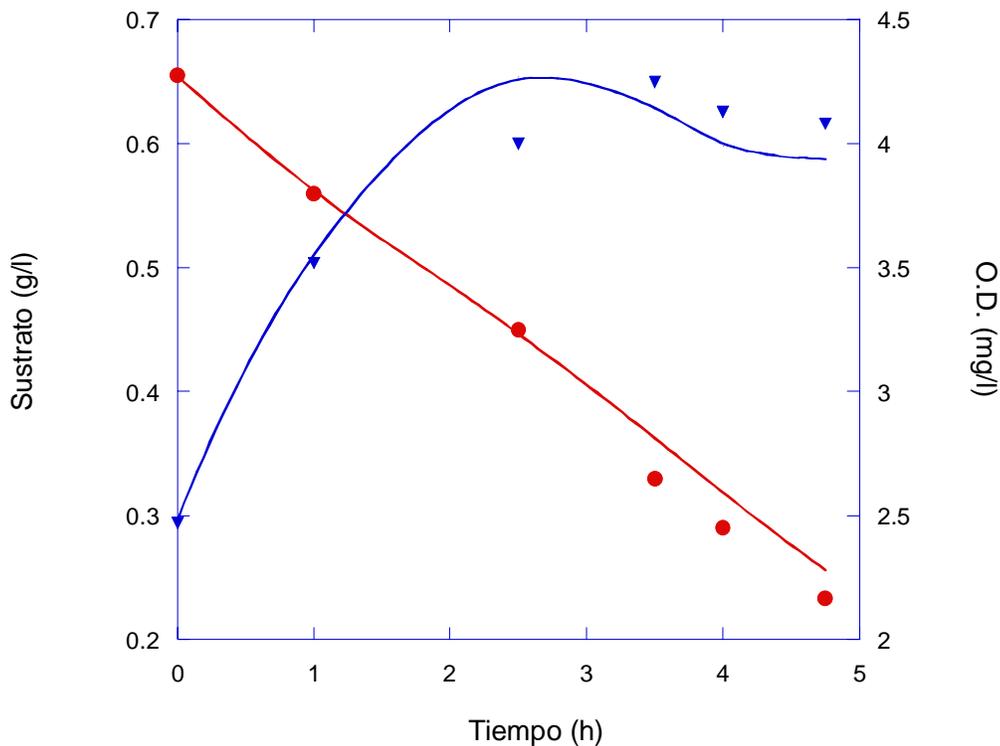


Figura 6.5. Comparación entre la concentración de sustrato y oxígeno disuelto en el líquido experimental y calculada para el caso 2 (aire - aire). ● - Sustrato experimental, - - - - Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — - Oxígeno calculado.

La Figura 6.7 muestra las tasas de reacción a las 5 horas de operación, para los tres casos de estudio que nos ocupan y que han sido obtenidas de la simulación con el modelo homogéneo. El caso 3 de oxígeno por membrana, presenta una zona de reacción en el interior de la biopelícula y una zona de reacción muy pequeña en la interfase con el líquido. El caso 4 (oxígeno - aire) presenta una zona de reacción al interior de la biopelícula ligeramente mayor a la del caso 3, y otra zona de reacción también muy importante cerca de la interfase biopelícula-líquido, que es la contribución del oxígeno proveniente del

burbujeo de aire en el tanque. Por otra parte, el caso 2 (aire-aire) presenta dos zonas de reacción cercanas a las interfaces de la biopelícula, siendo la de la zona cercana a la interfase con el líquido más estrecha, y la próxima a la membrana con mayor penetración.

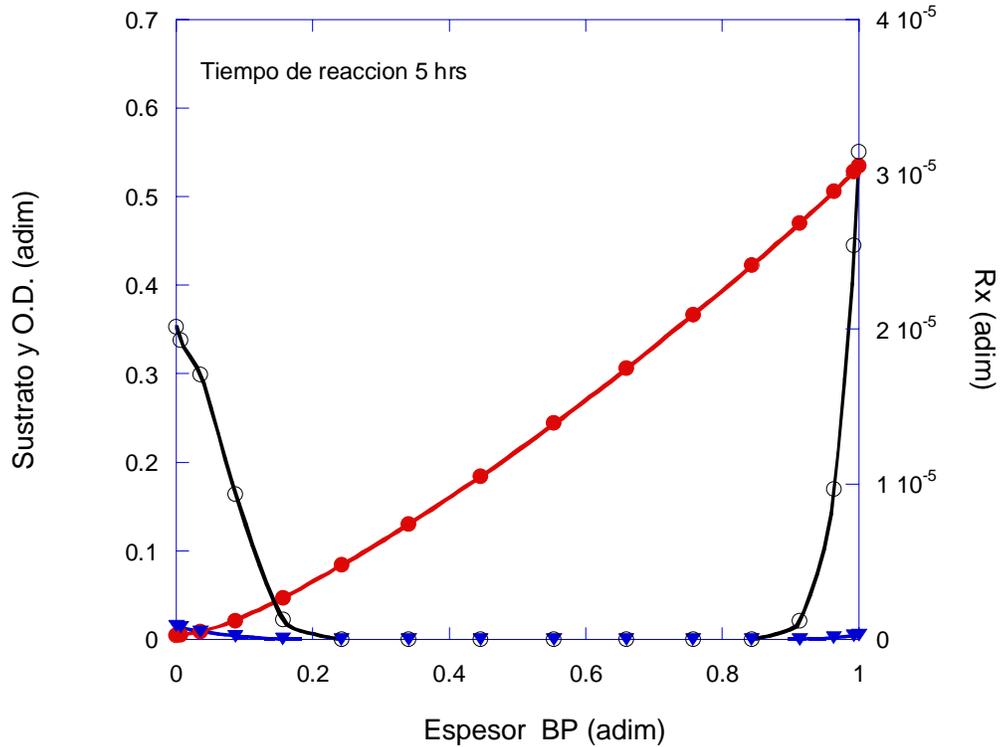


Figura 6.6. Predicción de los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno y tasa de reacción al interior de la biopelícula para el caso 2 (aire - aire). ● - Sustrato, ▼ - oxígeno, ○ - Rx.

Si comparamos el área bajo la curva para cada uno de los tres casos anteriores podremos comparar la “reactividad” de la biopelícula en cada caso. El área bajo la curva para cada uno de los casos se ilustra en la Figura 6.8.

De acuerdo con estos resultados, el caso 4 (oxígeno – aire) tiene un mayor volumen de biopelícula activa con una mayor tasa de reacción que los otros dos casos, lo cual puede explicar la causa de que este caso sea el más eficiente en el consumo de sustrato

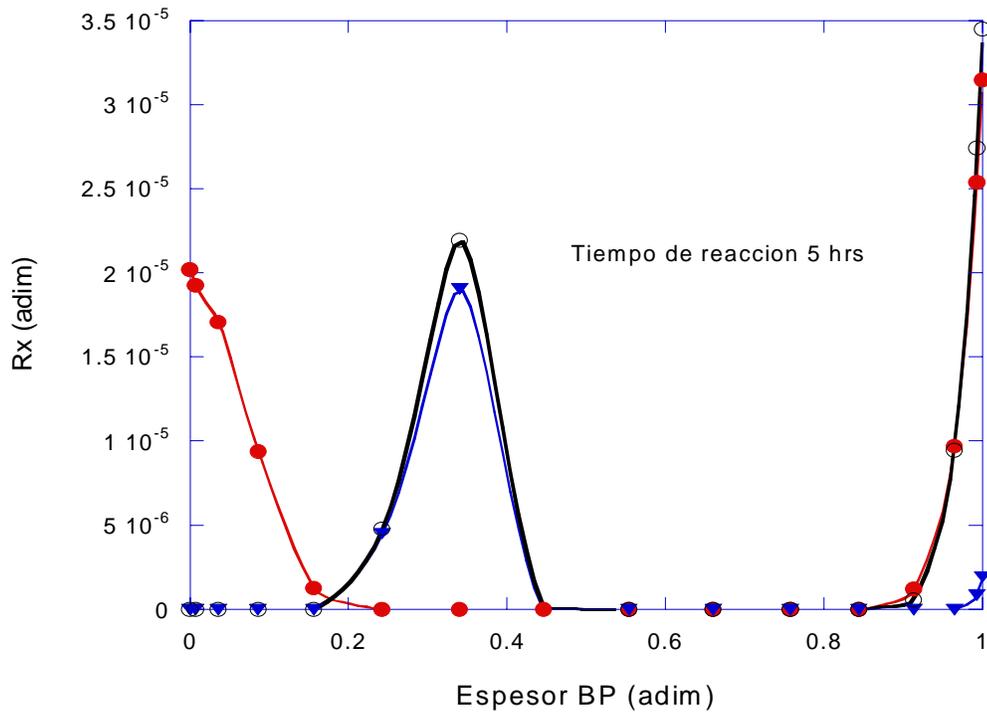


Figura 6.7. Comparación entre las tasas de reacción al interior de la biopelícula, para los tres casos de estudio. ● - aire-aire ▼ - oxígeno por membrana, ○ - oxígeno-aire.

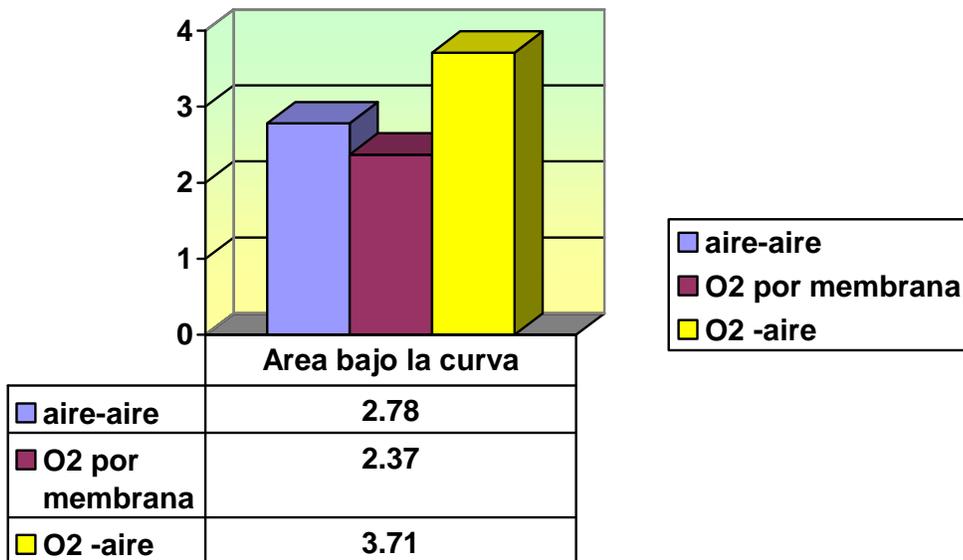


Figura 6.8. Área bajo la curva para los tres casos de estudio

## **6.2 Comparación de las diferentes formas de suministro de oxígeno de acuerdo con las predicciones del modelo heterogéneo**

En esta sección se analizan las predicciones obtenidas con el modelo heterogéneo para las mismas tres formas de suministrar oxígeno a la biopelícula analizadas en el inciso anterior.

La figura 6.9 muestra los perfiles de oxígeno y sustrato en el líquido externo calculados con el modelo heterogéneo, y los compara con las mediciones experimentales para el caso 3 (oxígeno por membrana). Si se comparan las predicciones obtenidas con ambos modelos, de las Figuras 6.1 y 6.9, se observa que ambos modelos predicen adecuadamente las mediciones experimentales de sustrato, con menores diferencias entre ellos. Contrariamente, las predicciones de oxígeno disuelto en el líquido, difieren después de 30 minutos; esto se debe a que, de acuerdo con el modelo heterogéneo, el oxígeno, proveniente de la membrana, puede atravesar la biopelícula por los poros y canales llenos de líquido y llegar al líquido externo. Desafortunadamente, para este caso no se dispone de mediciones confiables de oxígeno disuelto.

Es importante señalar que para realizar ambas simulaciones se utilizaron los mismos parámetros cinéticos y de transporte que se utilizaron en el modelo homogéneo, pero también debe recordarse que el transporte de masa entre los líquidos externo e interno con la biopelícula, supone que los coeficientes de transferencia de masa interfacial son una función del número de Reynolds, y por lo tanto son diferentes entre ellos.

La Figura 6.10 muestra los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno en la parte sólida y en el líquido contenido en los poros y canales dentro de la biopelícula para el caso 3 (oxígeno por membrana). Como se comentó en el capítulo 5, el modelo heterogéneo calcula dos perfiles de concentración para cada sustrato; los perfiles de concentración de acetato de sodio van disminuyendo desde la interfase líquido-biopelícula, y los de oxígeno difunden desde la interfase membrana-biopelícula. La concentración en el líquido interno de la biopelícula es mayor que en el conglomerado de células, debido a que en el líquido interno no hay consumo de ningún sustrato, además de que el coeficiente efectivo de difusión utilizado en el líquido interno es diferente al utilizado en la parte sólida de la biopelícula. También se observa que la concentración en la parte sólida de la biopelícula es mayor que la predicha por el modelo homogéneo ya que el líquido interno transfiere nutrientes al conglomerado de células contenido en la parte sólida.

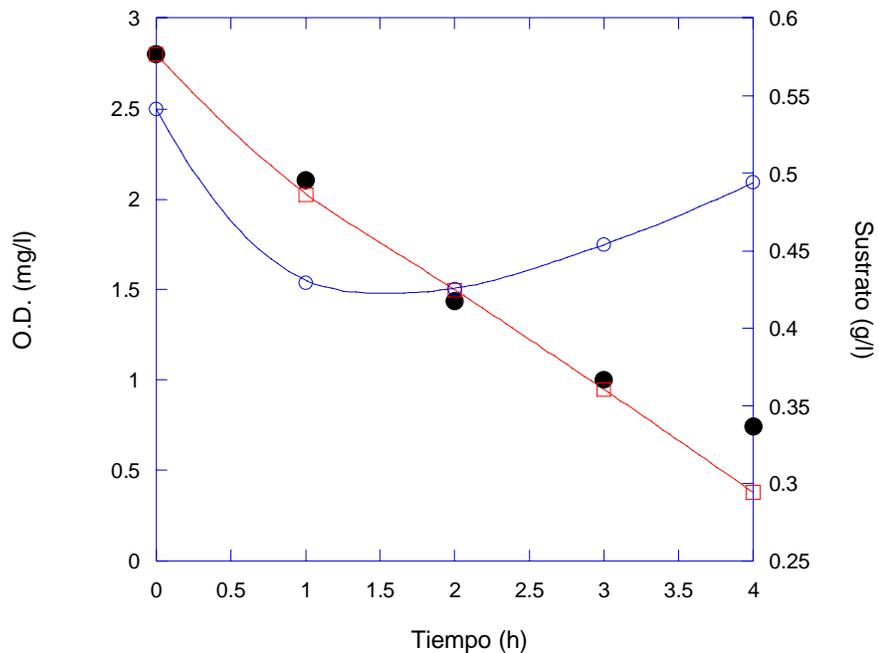


Figura 6.9. Concentración de sustrato y oxígeno en líquido. Datos experimentales y comparación entre los resultados simulados por los dos modelos, para el Caso 3 (Oxígeno por membrana). ●- sustrato experimental, □ – sustrato según modelo homogéneo, ■- oxígeno según modelo homogéneo, ◇ - sustrato según modelo heterogéneo, ◆ - oxígeno según modelo heterogéneo.

La Figura 6.11 muestra la evolución de las regiones donde ocurre la reacción a lo largo del tiempo, que predice el modelo heterogéneo para el caso en que se alimenta oxígeno por la membrana recordando que no se burbujea aire en el líquido (Caso 3). En ésta se observa que la reacción ocurre en toda la biopelícula mientras la cantidad de sustrato en el líquido externo es suficiente para alcanzar la membrana. Durante la primera hora, la reacción se lleva a cabo principalmente cerca de la interfase membrana-biopelícula, sin embargo a medida que el sustrato se va agotando la zona de reacción se desplaza hacia la interfase líquido-biopelícula. También existe otra zona de reacción cerca de la interfase líquido-biopelícula durante el inicio de la operación, la cual se debe a la presencia de oxígeno en el líquido al comenzar el experimento.

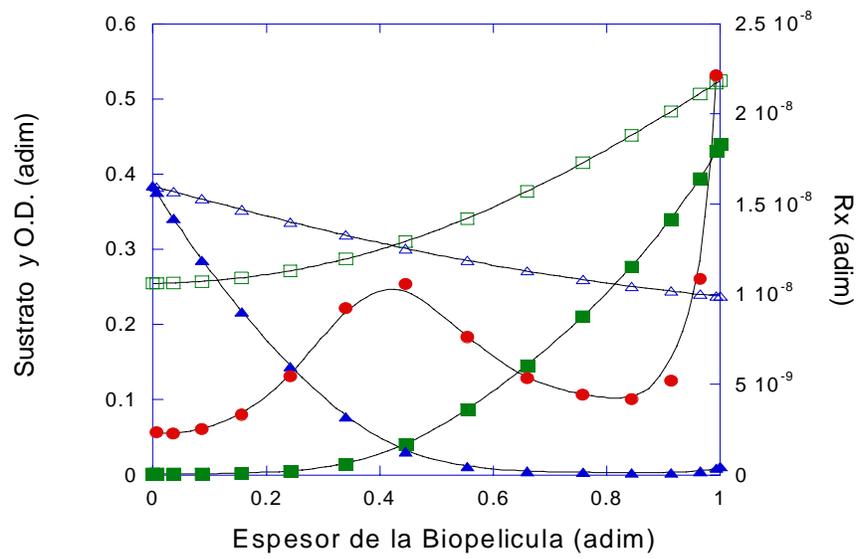


Figura 6.10. Predicción de los perfiles de concentración y tasa de reacción al interior de la biopelícula, del modelo heterogéneo, a un tiempo de reacción de 3.5 hrs. ■ – Sustrato en el conglomerado de células, □ – sustrato en poros y canales, ▲ - oxígeno en el conglomerado de células, Δ - oxígeno en poros y canales ● - Rx.

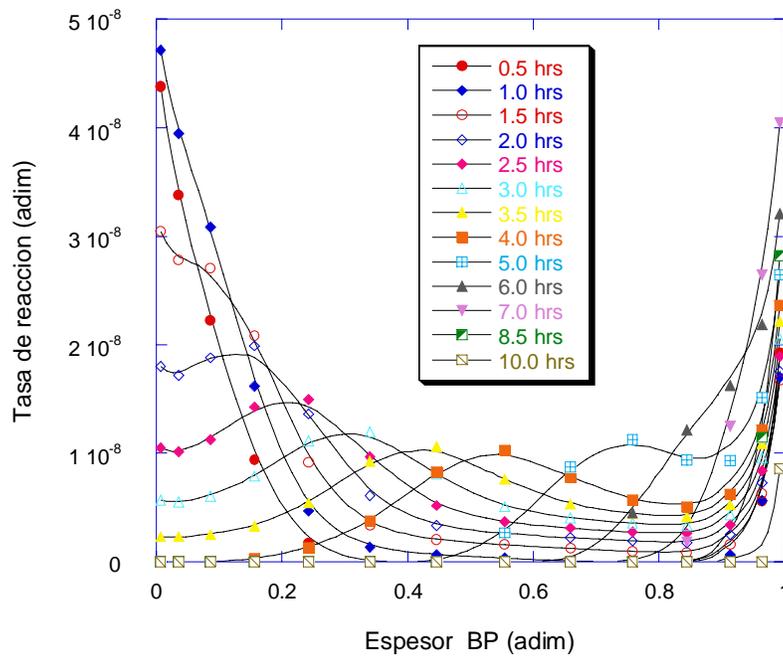


Figura 6.11. Evolución de la región donde ocurre la biorreacción al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 3 ( $O_2$  por membrana).

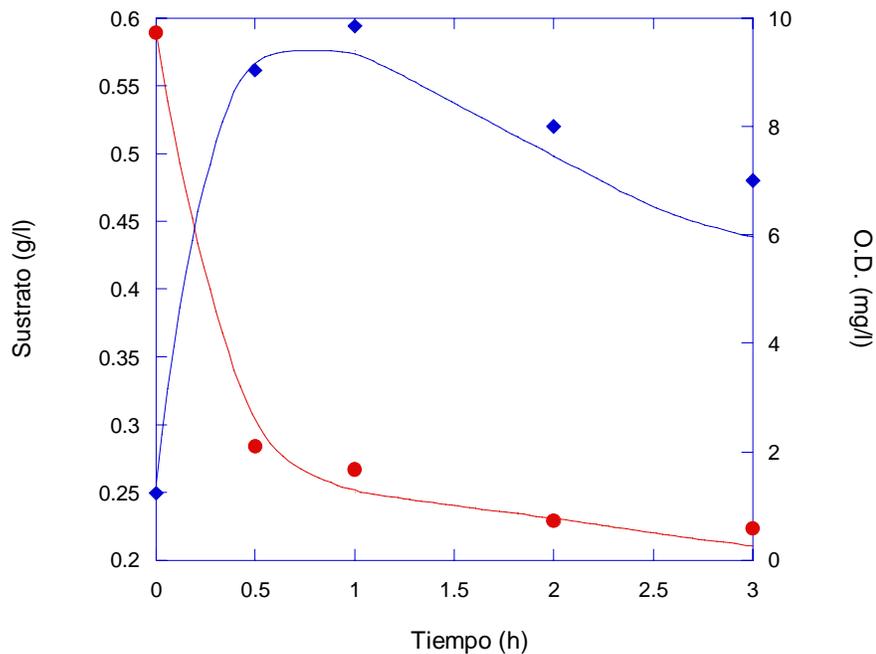


Figura 6.12. Concentración de sustrato y oxígeno en líquido. Datos experimentales y simulados con el modelo heterogéneo, para el Caso 4 (oxígeno-aire). ● - sustrato experimental, — - sustrato simulado, ◆ - oxígeno experimental, - - - - oxígeno simulado.

La Figura 6.12 muestra las mediciones experimentales y los perfiles de concentración en el líquido a través del tiempo predichos por el modelo heterogéneo para el caso 4 en el que se alimenta oxígeno por la membrana y se burbujea aire en el líquido; al igual que para el caso 3 los resultados de la simulación son muy buenos. Los perfiles de concentración en el interior de la biopelícula para el mismo caso, obtenidos con el modelo heterogéneo se encuentran en la Figura 6.13, en la que se observa que la concentración de sustrato en los conglomerados celulares es similar al obtenido con el modelo homogéneo (Figura 6.4), sin embargo el perfil de oxígeno es diferente; el modelo heterogéneo predice que el oxígeno atraviesa toda la biopelícula, con regiones de mayor concentración que otras, y donde la concentración de oxígeno nunca es cero, ni en el líquido contenido en los poros y canales, ni en los conglomerados celulares. Esto produce un perfil de reacción diferente al obtenido con el modelo homogéneo, mientras que el modelo homogéneo presenta zonas de reacción definidas y zonas donde no ocurre reacción, el modelo heterogéneo predice que la reacción se lleva a cabo en toda la biopelícula. Esta es la principal diferencia entre ambos modelos.

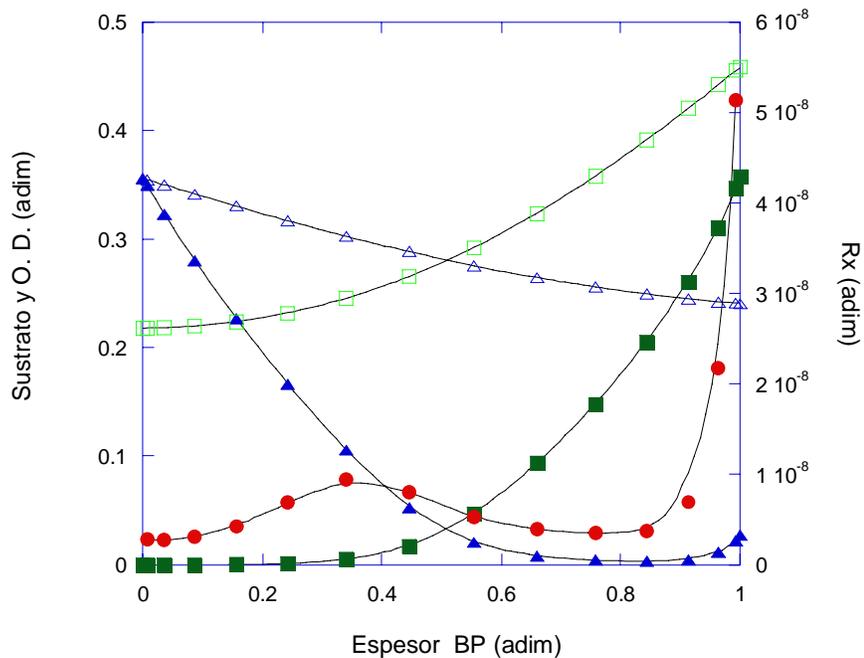


Figura 6.13. Predicción de los perfiles de concentración y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un tiempo de reacción de 3.5 hrs., según el modelo heterogéneo, para el Caso 4 (oxígeno-aire). ■ - Sustrato en conglomerado de células, □ - sustrato en poros y canales, ▲ - oxígeno en conglomerado de células, △ - oxígeno en poros y canales ● - Rx.

Si se observa, para el caso 4 (aire-aire) la Figura 6.14, que presenta la evolución de la región donde ocurre la biorreacción en la biopelícula a través del tiempo, se aprecia que la reacción ocurre en toda la biopelícula, mientras el sustrato no se agota. Al comparar esta figura con la Figura 6.11, donde se muestra la misma evolución de los perfiles de reacción para el Caso 3, se observa que las tasas de reacción en el Caso 4 son mayores que en el Caso 3 y que, para el Caso 4, las tasas de reacción son mayores en la zona cercana a la interfase líquido-biopelícula que cerca de la membrana, contrariamente a lo mostrado para el Caso 3, lo cual es de esperarse debido a la contribución de oxígeno disuelto desde el lado del líquido.

Pasando al caso 2 en donde se alimenta aire por la membrana y se burbujea aire en el líquido, la Figura 6.15 muestra los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno en el líquido medidos experimentalmente y los calculados con el modelo heterogéneo. Al igual que en los casos anteriores las predicciones son adecuadas. La Figura 6.16 muestra los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno en el interior de la biopelícula de acuerdo a los resultados del modelo heterogéneo, después de 3.5 h de iniciada la operación. Aquí se observa que el sustrato atraviesa toda la biopelícula hasta llegar a la membrana (lo cual no sucedió en los casos 3 y 4) y que el oxígeno

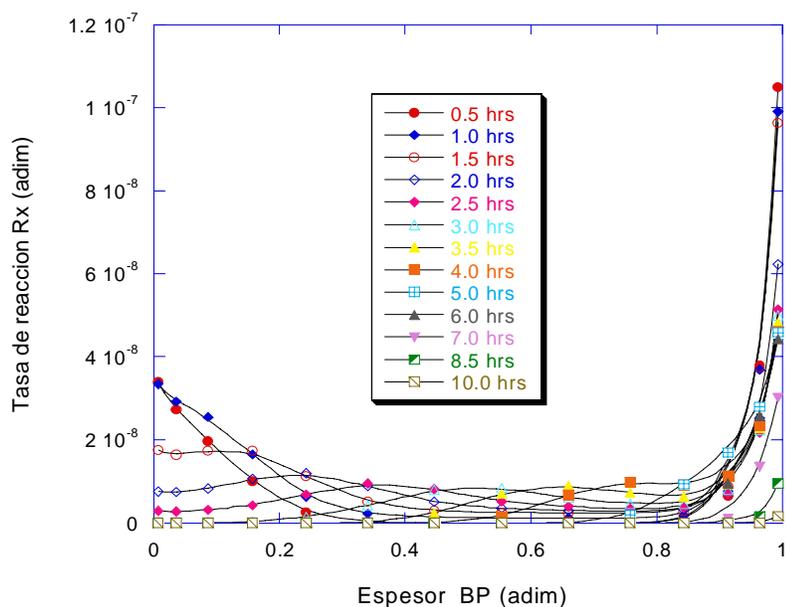


Figura 6.14. Evolución de la región donde ocurre la biorreacción al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 4 (oxígeno-aire).

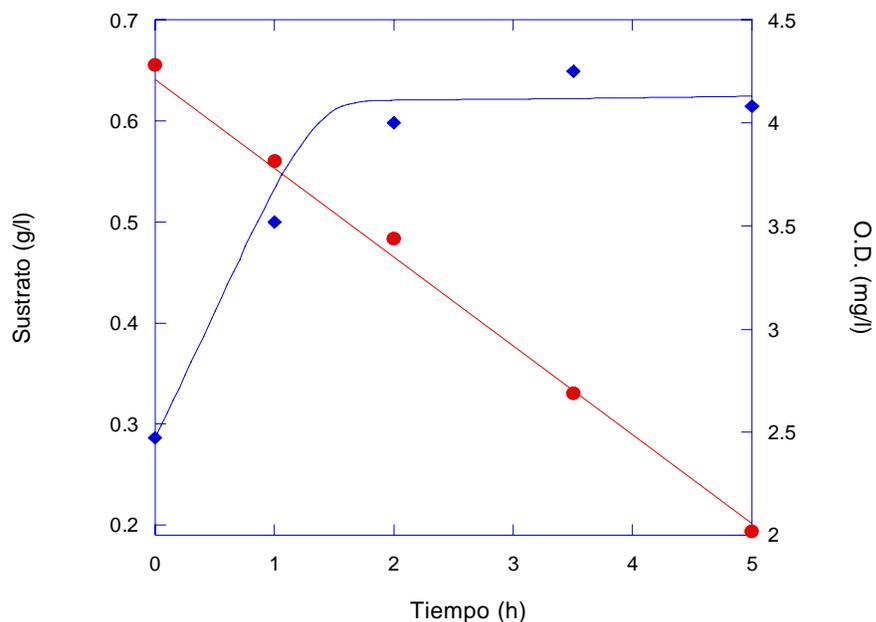


Figura 6.15. Concentración de sustrato y oxígeno en líquido. Datos experimentales y simulados con el modelo heterogéneo, para el Caso 2 (aire-aire). ●- sustrato experimental, — - sustrato simulado, ◆ - oxígeno experimental, — - oxígeno simulado.

únicamente se encuentra presente en una región de casi el 20 % próxima a la interfase biopelícula-líquido, y en otra zona aproximadamente del 25 % cercana a la interfase biopelícula-membrana. Por tanto este caso presenta dos zonas de reacción próximas a ambas interfases, y una zona al centro de la biopelícula donde no hay reacción. En este caso se observa que el oxígeno limita la reacción.

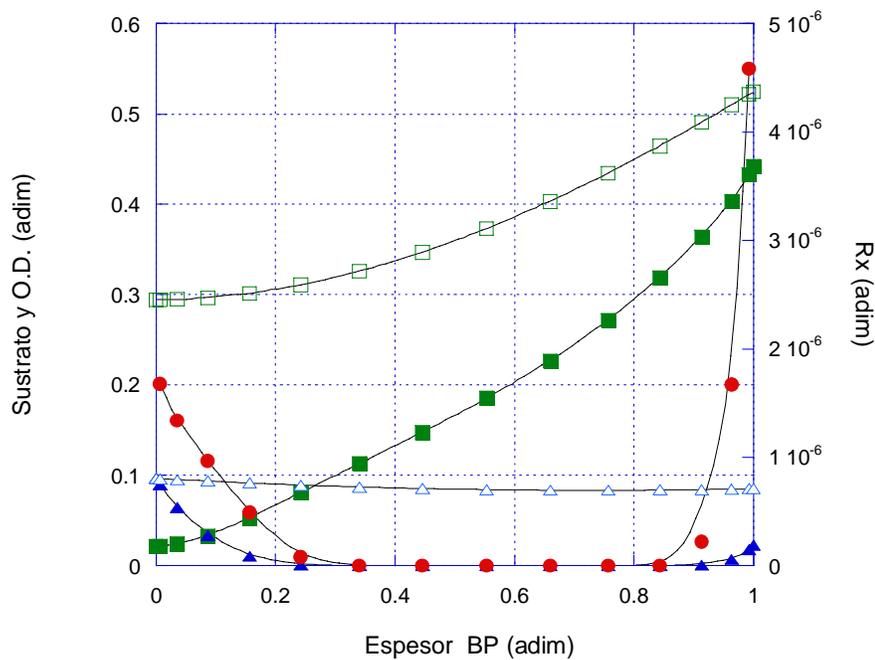


Figura 6.16. Resultados del modelo heterogéneo para los perfiles de concentración y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un tiempo de reacción de 3.5 hrs, para el Caso 2 (aire-aire).. ■ – Sustrato en conglomerado de células, □ – sustrato en poros y canales, ▲ - oxígeno en conglomerado de células, △ - oxígeno en poros y canales ● - Rx.

La Figura 6.17 muestra la evolución de los perfiles de reacción a través del tiempo para el caso 2 y en ella se observa que la tendencia de las dos regiones de reacción de permanecer en los extremos de la biopelícula se conserva durante toda la operación, al igual que una zona intermedia donde no ocurre reacción. Esto implica que las células del interior de la biopelícula pudieran morir por falta de oxígeno.

La Figura 6.18 muestra la comparación de las tasas de reacción para los Casos 2, 3 y 4 después de 3.5 horas de iniciada la reacción. Al obtener el área bajo la curva para cada uno de los casos se obtiene que el caso con una mayor área activa de biopelícula y mayor tasa de reacción es el caso 3. Dado que éste resultado no concuerda con los datos experimentales obtenidos, se procedió a buscar el tiempo en que cada uno de los casos presenta la mayor área bajo la

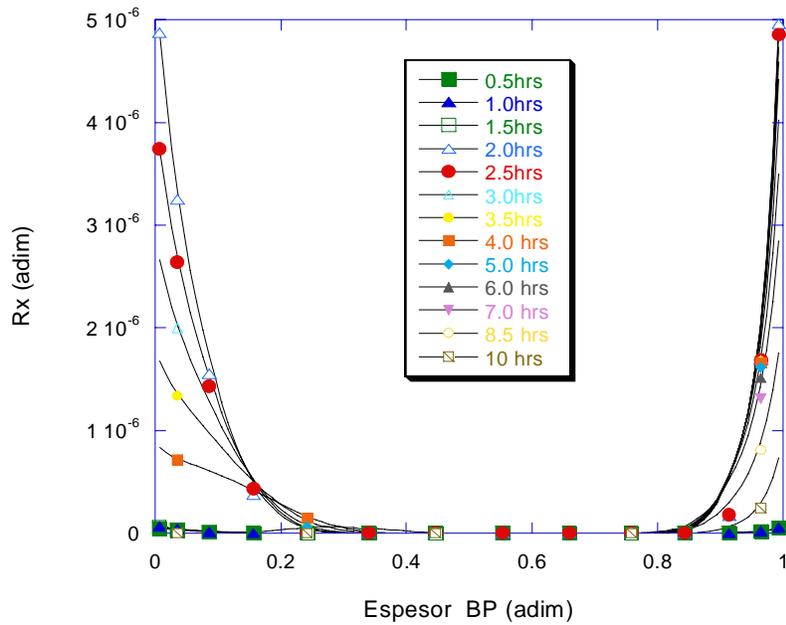


Figura 6.17. Evolución de la región donde ocurre la biorreacción al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Caso 2 (aire-aire).

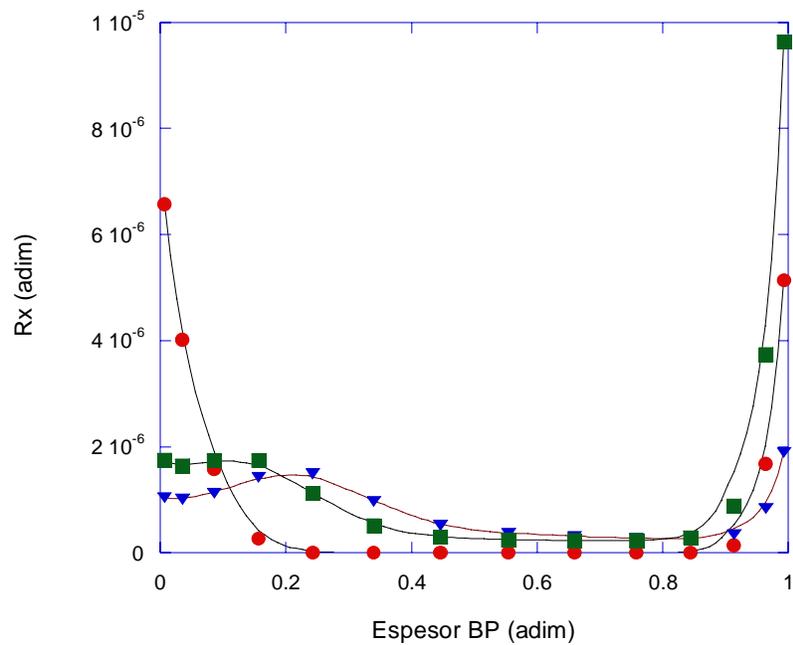


Figura 6.18. Comparación entre las tasas de reacción al interior de la biopelícula, para los tres casos de estudio, después de 3.5 horas de iniciada la reacción.. ● - aire-aire ▼ - oxígeno por membrana, ■ - oxígeno-aire.

curva y se encontró que el caso 2 tiene un tiempo de mayor actividad a 1.0 hora después del inicio de la operación; el caso 3 después de 2.0 horas, y el caso 4 después de 2.5 horas. La Figura 6.19 muestra las tasas de reacción para cada caso a su tiempo de mayor tasa de reacción.

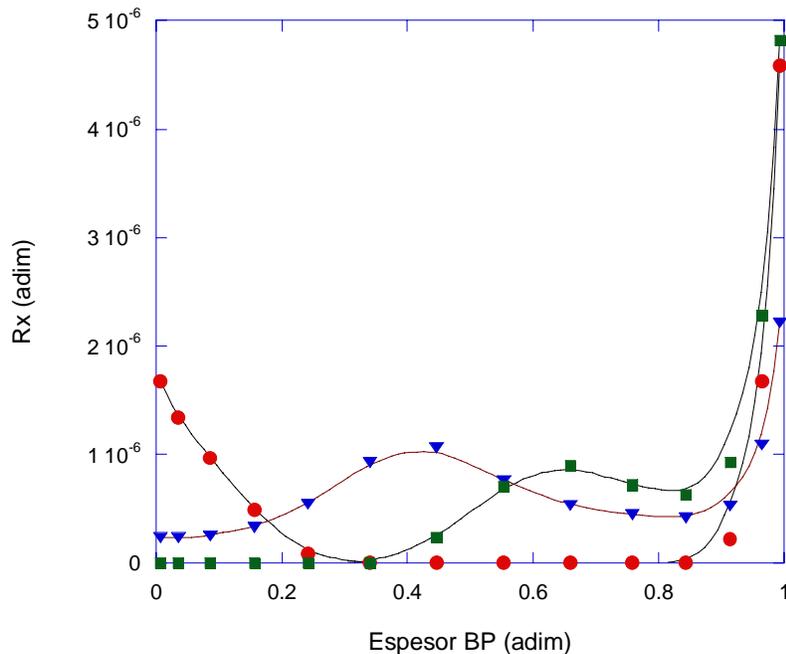


Figura 6.19. Comparación entre las tasas de reacción al interior de la biopelícula, para los tres casos de estudio, al tiempo de mayor reacción para cada uno. ● - aire-aire (1.0 hr.), ▼ - oxígeno por membrana (2.0 hrs.), ■ - oxígeno-aire (1.5 hrs.).

En la Figura 6.20 se muestra el área bajo la curva de reacción obtenida para cada uno de los tres casos que comparamos, de acuerdo con ésta, el caso 2 es el menos eficiente, seguido del caso 3 y finalmente el caso 4 que es el más eficiente en cuanto a consumo de sustrato. Sin embargo estos resultados tampoco concuerdan con las mediciones experimentales obtenidas. Uno de los factores determinantes en las predicciones del modelo heterogéneo es el valor del coeficiente de transporte de masa interfacial en poros y canales, dado que la velocidad en estos es muy baja, y tal vez en algunas regiones cercanas a la membrana el líquido está prácticamente estancado. Si la tasa de reacción es mayor que las de transporte de masa combinado de difusión y convección en las regiones donde no hay oxígeno, se obtienen los resultados mostrados en la Figura 6.17. Sin embargo, se decidió no llevar a cabo ningún otro ejercicio de simulación y esto será objeto de futuros estudios.

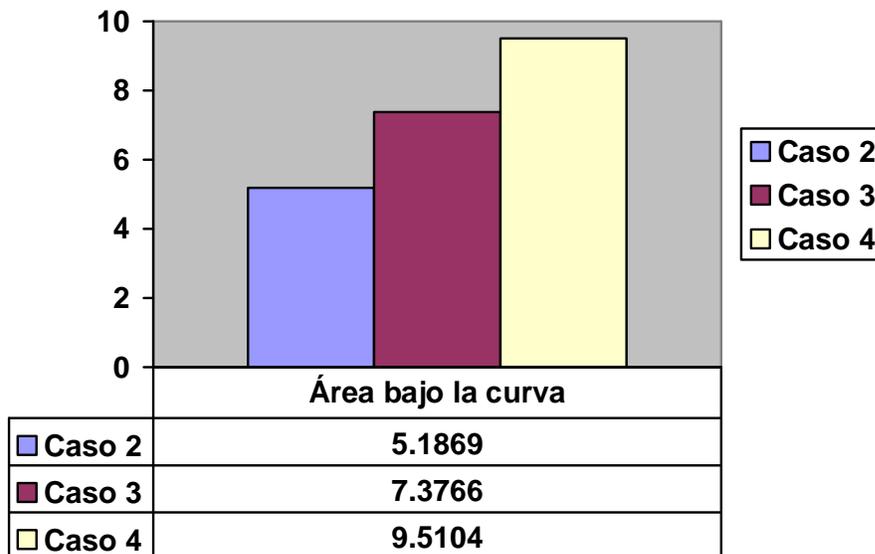


Figura 6.20. Áreas bajo la curva para los tres casos de estudio de acuerdo con las predicciones del modelo heterogéneo.

### 6.3. La biopelícula parcialmente activa

Diferentes autores (Karel and Robertson, 1987; Casey et al., 1999, 2000; Nicolella et al., 2000) han presentado trabajos en donde la zona de reacción dentro de la biopelícula es muy pequeña, ya sea que se encuentre próxima a alguna de las interfases o que su localización varíe de acuerdo con las condiciones de operación en las que se encuentre la biopelícula. Tomando en cuenta estas diversas opiniones se decidió investigar, utilizando el modelo homogéneo, lo que sucedería en una biopelícula si únicamente el 25 % del su espesor tuviera células vivas y éstas estuvieran a) pegadas a la interfase membrana-biopelícula ó b) pegadas a la interfase biopelícula-líquido.

Para poder simular los resultados experimentales utilizando el modelo homogéneo se mantuvieron constantes la mayoría de los parámetros a excepción de la velocidad máxima de crecimiento y la concentración inicial de biomasa. Los dos casos se simularon con alimentación de oxígeno por membrana y burbujeo de aire por el líquido que corresponde al caso 4.

Los resultados obtenidos para el caso en que la biopelícula activa ocupa el 25% de su longitud total y está próxima a la interfase membrana-biopelícula (Caso 4-A), se muestran en las Figuras 6.21 y 6.22. La Figura 6.21 compara los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno disueltos en el líquido, experimentales y simulados. Con el objeto de obtener una simulación adecuada se variaron la tasa de crecimiento y la concentración inicial de

biomasa hasta los valores máximos permitidos y aun así no se pudo obtener un ajuste adecuado como lo muestra esta figura:

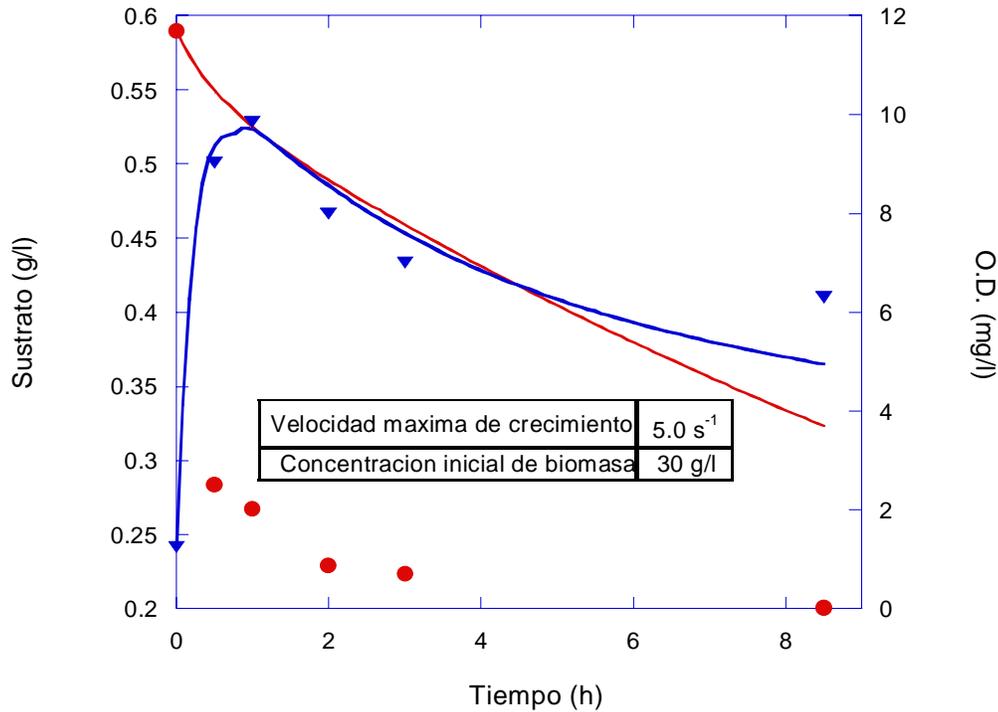


Figura 6.21. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculada. Caso 4-A O<sub>2</sub> – aire con 25 % de biopelícula activa cerca de la interfase membrana-biopelícula. ● – Sustrato experimental, — - Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — - Oxígeno calculado.

La figura 6.22 muestra los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno disuelto en el interior de la biopelícula así como la tasa de reacción para el caso 4-A. En ella se observa que la región de reacción se encuentra, únicamente, cerca de la interfase membrana-biopelícula y ésta es muy pequeña. Todo ello hace pensar que ésta no parece ser una opción viable para el comportamiento de una biopelícula.

La figura 6.23 muestra la comparación entre la concentración de sustrato y oxígeno disuelto en el líquido, experimental y calculada para el caso 4-B, en donde la zona activa de la biopelícula se reduce al 25 % de su longitud próxima a la interfase biopelícula-líquido. Para predecir estos datos experimentales se aumentó la velocidad máxima de crecimiento a 1.33 h<sup>-1</sup> y la concentración de biomasa se mantuvo en 25 g/l. La velocidad máxima de crecimiento reportada para lodos activados en suspensión es de 1.0 h<sup>-1</sup>, por lo que ésta sí parece ser una opción viable para una biopelícula cuando se comparan las Figuras 6.21 y 6.23.

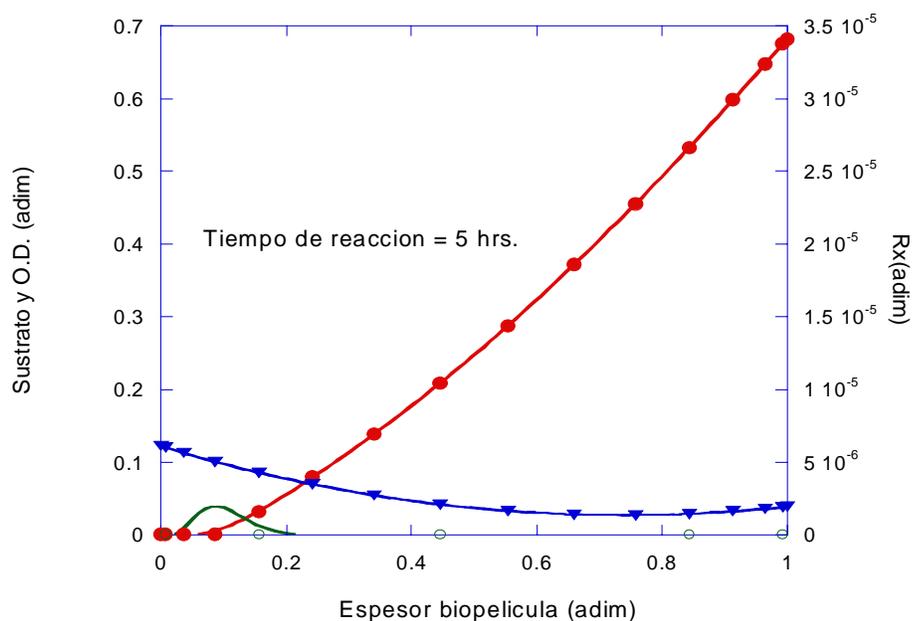


Figura 6.22. Perfiles de concentración de sustrato y OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula. Caso 4-A  $O_2$  – aire con 25 % de biopelícula activa cerca de la interfase membrana-biopelícula. ● – Sustrato, ▼ - oxígeno, ○ - Rx.

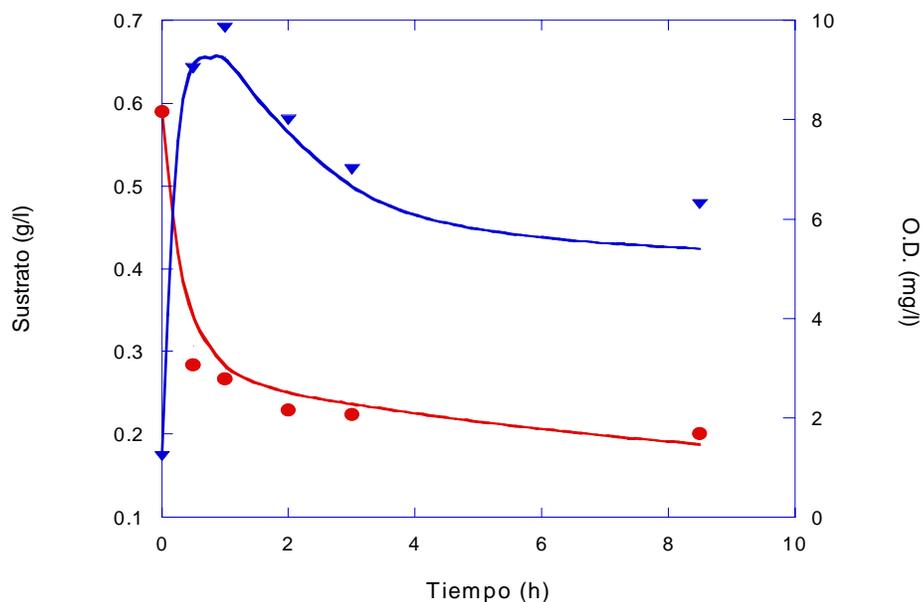


Figura 6.23. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculada. Caso 4-B  $O_2$  – aire con 25 % de biopelícula activa cerca de la interfase biopelícula - líquido. ● - Sustrato experimental, - - - Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — - Oxígeno calculado.

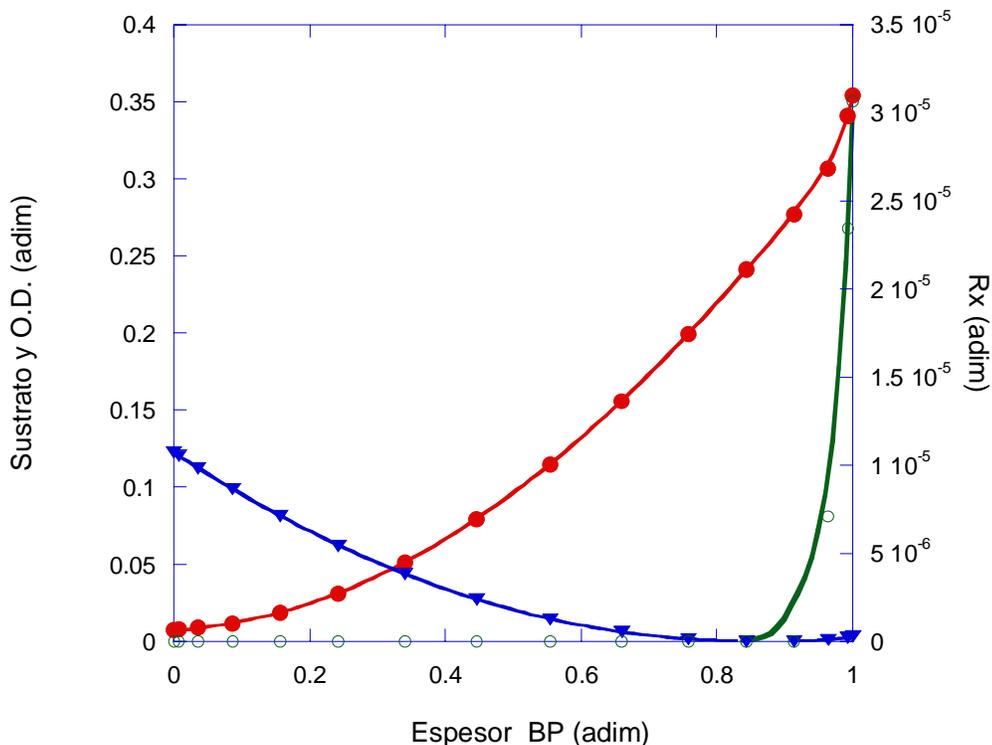


Figura 6.24. Perfiles de concentración de sustrato y OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula. Caso 4-B O<sub>2</sub> – aire con 25 % de biopelícula activa cerca de la interfase biopelícula - líquido. ● – Sustrato, ▼ - oxígeno, ○ - Rx.

### 6.3. Discusión de resultados y conclusiones

De la comparación de los datos experimentales y la predicción de los perfiles de concentración obtenidos con la simulación de este sistema por los dos modelos desarrollados, se puede concluir que:

- Es posible mejorar sustancialmente la operación del sistema de tratamiento de aguas residuales utilizando un biorreactor de membrana con una biopelícula adherida, en comparación con un sistema de tanque agitado con células en suspensión.
- Los parámetros de transporte y cinéticos obtenidos en la estimación de parámetros se encuentran dentro de los rangos reportados en la literatura, aunque existe incertidumbre con la variación de estos conforme la biopelícula crece y envejece.
- Los dos modelos dinámicos desarrollados para calcular los perfiles de concentración en el líquido y al interior de la biopelícula son capaces de predecir adecuadamente los cambios de concentración en el líquido externo para los tres casos analizados en este capítulo.

- La manera más eficiente de suministrar oxígeno a la biopelícula es alimentando oxígeno a través de la membrana y burbujear aire en el líquido (caso 4), debido a que se mantiene activa a una mayor parte de la biopelícula.
- El segundo método más eficiente de suministro de oxígeno consiste en alimentar aire a través de la membrana y burbujear aire en el líquido. Este método tiene la ventaja de ser más económico que el anterior.
- De acuerdo con el modelo homogéneo, una biopelícula es más eficiente cuando tiene un mayor volumen activo y es por ello que se obtienen mejores conversiones cuando alimentamos oxígeno a la biopelícula por ambas interfaces.
- De acuerdo con los resultados obtenidos con el modelo homogéneo, en los tres casos estudiados se presenta una región en la biopelícula donde la concentración de oxígeno es cero. Por tanto el consumo de sustrato en la biopelícula está limitado por la disponibilidad de oxígeno al interior de la biopelícula.
- Es adecuado utilizar la ecuación de Monod con doble sustrato limitante para predecir la tasa de reacción al interior de la biopelícula, debido a que se encuentran zonas con baja concentración de sustrato, de oxígeno o de ambos en distintas zonas y tiempos en el interior de la biopelícula.
- No es posible definir una zona de reacción dentro de la biopelícula porque ésta se desplaza con el tiempo y depende de la forma de suministro de oxígeno.

## **Capítulo 7**

# **El efecto del transporte convectivo de masa debido a los diferentes flujos de recirculación**

*Con el propósito de estudiar el efecto de la velocidad de flujo de recirculación en el consumo de sustrato en la biopelícula, se llevaron a cabo tres corridas experimentales variando el flujo de recirculación y comparando los consumos de sustrato en cada caso. Posteriormente se realizaron las simulaciones de los datos experimentales para cada caso manteniendo constantes la mayoría de los parámetros estimados en el capítulo 5, y se estimó únicamente el coeficiente de transferencia de masa interfacial para cada una de las velocidades estudiadas con base en la solución de Blasius de la capa límite de Prandtl. Finalmente se obtuvieron los perfiles de concentración al interior de la biopelícula y el crecimiento en biomasa y polímeros extracelulares.*

### **7.1. Comparación del consumo de sustrato a diferentes flujos de recirculación.**

La biopelícula está formada por pequeños racimos de células inmersos en un material viscoso formado por los polímeros extracelulares, dentro de los cuales se encuentran una red de canales o poros interconectados que pueden atravesar toda la biopelícula, como se observó en las fotografías presentadas en el capítulo 4 y de acuerdo con la evidencia publicada (Lewandoski *et al.*, 1994). Dentro de los racimos de células los sustratos se transportan por difusión mientras que dentro de los poros el transporte se lleva a cabo tanto por difusión como por convección. Las mediciones realizadas por otros

autores, muestran que el movimiento del líquido dentro de los canales depende de la velocidad del líquido fuera de la biopelícula (DeBeer *et al.*, 1994).

Dentro de una biopelícula la tasa de transferencia de masa del líquido hacia las células se ve influenciada por la edad y la estructura de ésta. La estructura de la biopelícula contiene poros que facilitan la circulación de líquido dentro de ella. Algunos autores han podido medir dichos poros utilizando microscopía confocal y han reportado que tienen un diámetro de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  y que se extienden por todo el espesor de la biopelícula tanto en sentido vertical como horizontal (De Beer *et al.*, 1984). Otros autores, utilizando biopelículas conformadas por una sola especie y de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de espesor, encontraron que el diámetro de los poros varía entre 10 y 20  $\mu\text{m}$ , y que éstos ocupan más del 50 % del volumen de la biopelícula (Lawrence *et al.*, 1991). En una serie de estudios exhaustivos Stewart (Stewart *et al.*, 1993; Stewart *et al.*, 1995; Stewart, 1998), utilizando biopelículas multi-especies con espesores cercanos a 600  $\mu\text{m}$ , encontró que los aglomerados celulares dentro de la biopelícula tienen diámetros entre 150 y 300  $\mu\text{m}$  y que los espacios vacíos entre estos tienen un espesor de  $\approx$  100  $\mu\text{m}$ . También se realizaron estudios utilizando líquidos fluorescentes para comprobar que estos espacios realmente se encuentran llenos de líquido, y se obtuvo que éste penetra inmediatamente por todos los espacios vacíos, lo cual confirma que los poros se encuentran conectados con el líquido que está fuera de la biopelícula. Dentro de la estructura de una biopelícula también se encuentran filamentos unidos a la biopelícula, parecidos a serpentinas, y que, a diferencia de los agregados al interior de la biopelícula, son flexibles y pueden moverse con el movimiento del líquido fuera de la biopelícula (De Beer y Kühn, 2001). La estructura de una biopelícula depende de su crecimiento y de la abrasión a la cual esté sujeta; puede tener una porción plana en la base, unida al soporte, con agregados de los cuales pueden surgir filamentos.

Tijhuis *et al.* (1996) sugieren que el grado de heterogeneidad estructural de la biopelícula se encuentra determinado por el balance entre la tasa de crecimiento y la abrasión. Organismos de crecimiento lento como las bacterias nitrificantes y las metanogénicas, forman biopelículas relativamente lisas, mientras que organismos heterótrofos con tasas de crecimiento mayores producen biopelículas heterogéneas con agregados celulares y filamentos.

De Beer y Kühn (2001) mencionan que la naturaleza hidrofílica e hidrofóbica de los microorganismos también afecta a la estructura de la biopelícula. Aquellos microorganismos cuya superficie es hidrofóbica tienden a minimizar la superficie de contacto entre la biopelícula y el líquido, lo cual favorece la generación de biopelículas planas. Por el contrario, los microorganismos cuya superficie es hidrofílica forman fácilmente protuberancias como filamentos o agregados no esféricos. La mayoría de los microorganismos heterótrofos aerobios son hidrofílicos (Allison *et al.*, 1990).

Finalmente la comunicación célula-célula debe considerarse también como un mecanismo morfogenético. La producción celular de compuestos sensitivos como acyl-homoserina lactona, hace que una célula "reconozca" la densidad local de células (Greenberg, 1997) y active o desactive ciertas funciones

genéticas para la producción o disolución de polímeros extracelulares, de tal forma que la célula pueda unirse a una biopelícula, o pueda separarse de ella.

Aunque se ha reportado la existencia de poros en dos dimensiones, también se han realizado mediciones utilizando microelectrodos para medir la concentración dentro del espesor de la biopelícula, y se ha encontrado que la modelación para la predicción de la transferencia de masa dentro de la biopelícula en una sola dimensión es adecuada (Stoodley *et al.*, 1997).

En este trabajo se estudió el consumo de sustrato a tres velocidades de flujo de recirculación: 30, 120 y 350 ml/min. Las tres corridas experimentales se llevaron a cabo operando el biorreactor por lotes, alimentando oxígeno continuamente a través de la membrana y burbujeando aire en el líquido. En los tres casos se utilizó la misma biopelícula con un día de diferencia, para evitar que un aumento en biomasa alterara significativamente los resultados.

La figura 7.1 muestra la diferencia entre los resultados experimentales obtenidos a tres diferentes velocidades de recirculación. Dado que la única diferencia entre las tres corridas fue la velocidad de flujo de recirculación, el cambio en la velocidad de consumo se debe al cambio en la velocidad de transferencia de masa interfacial. Utilizando el modelo homogéneo y los parámetros estimados en el capítulo 5, se simularon los resultados experimentales de cada caso estimando únicamente el coeficiente de transferencia de masa interfacial ( $k_i$ ) en la interfase líquido-biopelícula.

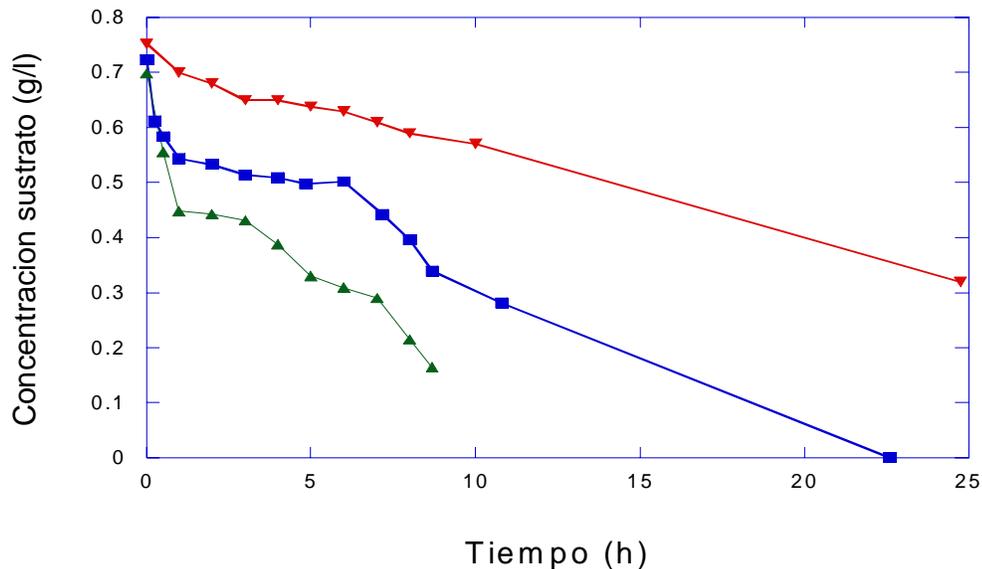


Figura 7.1. Comparación entre el consumo de sustrato a tres diferentes flujos de recirculación, 30, 120 y 350 ml/min. ▼ - 30 ml/min, ■ - 120 ml/min, ▲ - 350 ml/min.

## 7.2. Los perfiles calculados de concentración en el líquido y en la biopelícula de acuerdo con el modelo homogéneo.

La figura 7.2 muestra los resultados experimentales de concentración de sustrato y de oxígeno disuelto en el líquido a través del tiempo para una velocidad de flujo de recirculación de 30 ml/min y se comparan con los resultados de una simulación del modelo homogéneo, utilizando un coeficiente de masa interfacial de  $0.1 \times 10^{-4}$  cm/s.

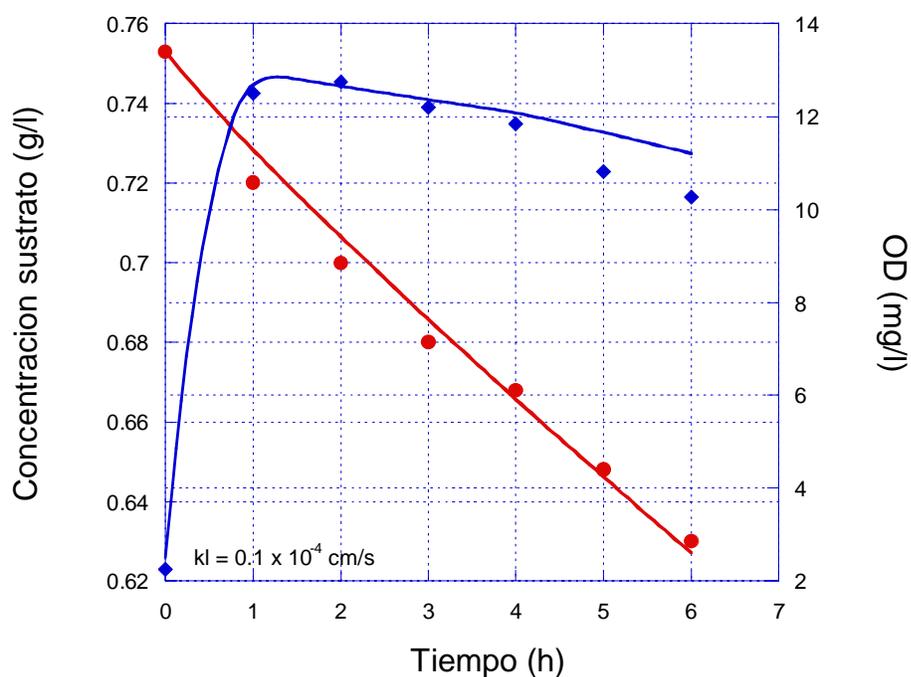


Figura 7.2. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculado a un flujo de recirculación de 30 ml/min, de acuerdo con el modelo homogéneo. ● - Sustrato experimental, — - Sustrato calculado, ◆ - oxígeno experimental, — oxígeno calculado.

La figura 7.3 muestra los perfiles de concentración de sustrato, oxígeno disuelto y tasa de producción de biomasa al interior de la biopelícula obtenidos para este mismo flujo de recirculación, después de 4 horas de operación. De acuerdo con las estimaciones obtenidas con el modelo homogéneo, el sustrato no llega a toda la biopelícula y la concentración de oxígeno es cero en más de la mitad de ella.

En la figura 7.4 se muestran los perfiles de concentración de biomasa y PEC al interior de la biopelícula para el mismo flujo de recirculación después de 4 y 8

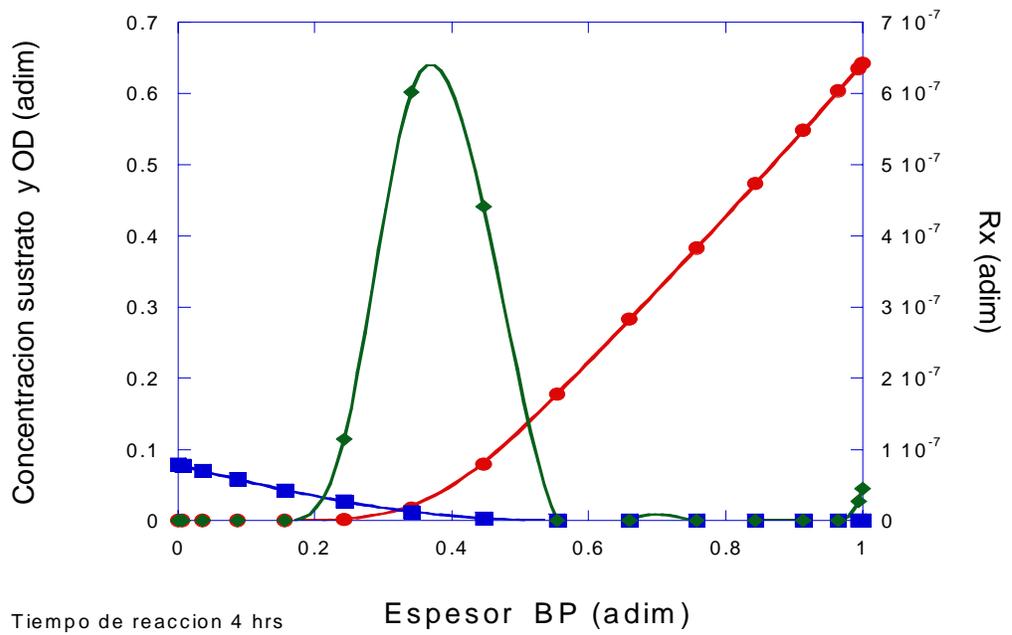


Figura 7.3. Predicción de los perfiles de concentración de sustrato, OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 30 ml/min, de acuerdo con el modelo homogéneo. ● - Sustrato, ■ - Oxígeno, ○ - Tasa de reacción.

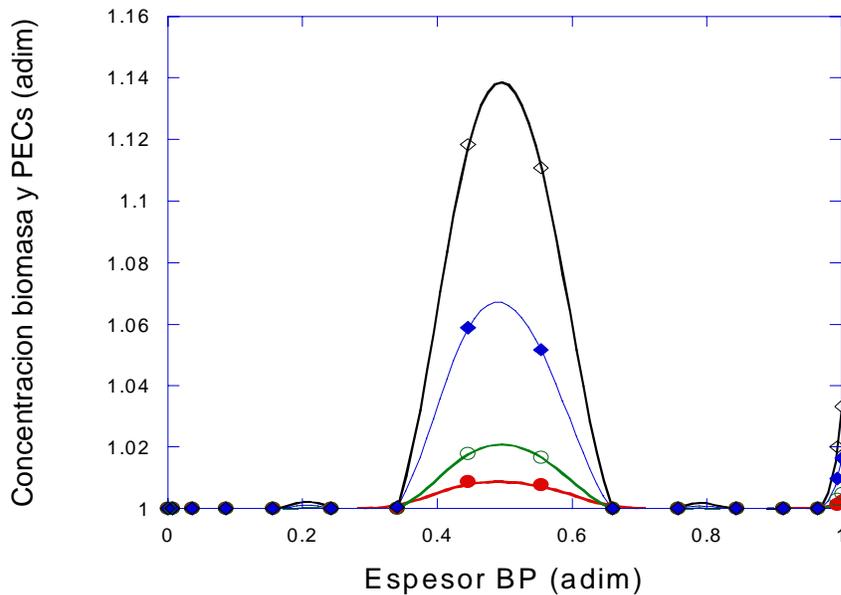


Figura 7.4. Perfiles de concentración de biomasa y polímeros extracelulares al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 30 ml/min, de acuerdo con el modelo homogéneo. ● - Biomasa 4 hrs, ○ - Biomasa 8 hrs, ◆ - PEC 4 hrs, ◇ - PEC 8 hrs.

horas de reacción. En este caso las células al centro de la biopelícula son las que se reproducen y generan PEC con mayor velocidad, observándose que la producción de PEC es mayor que la de biomasa.

La figura 7.5 muestra la comparación entre experimentos y predicciones de las concentraciones de sustrato y oxígeno disuelto en el líquido para un flujo de recirculación de 120 ml/min utilizando un coeficiente de masa interfacial de  $2.0 \times 10^{-4}$  cm/s; con este nuevo coeficiente de transferencia de masa interfacial el ajuste de los datos experimentales es bastante bueno y se observa que un incremento de cuatro veces en el flujo de recirculación ha duplicado el valor del coeficiente de transferencia de masa interfacial.

La figura 7.6 muestra las concentraciones de sustrato, oxígeno disuelto y la tasa de reacción al interior de la biopelícula para un flujo de recirculación de 120 ml/min, a un tiempo de reacción de 4 horas. Dado que se ha aumentado el coeficiente de transferencia de masa interfacial, el sustrato penetra un poco más en la biopelícula y la curva de la tasa de reacción se ha desplazado ligeramente hacia la interfase con la membrana, en relación con la tasa de recirculación a 30 ml/min.

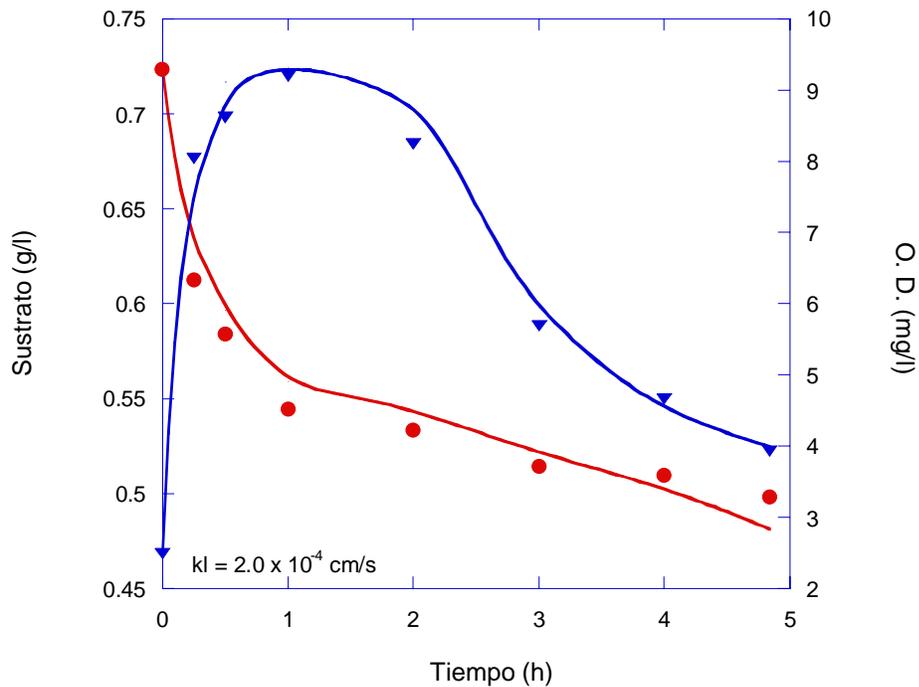


Figura 7.5. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculado a un flujo de recirculación de 120 ml/min, de acuerdo con el modelo homogéneo. ● – Sustrato experimental, — Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — Oxígeno calculado.

La figura 7.7 muestra los perfiles de concentración de biomasa y PEC al interior de la biopelícula después de 4 y 8 horas de operación. También en esta figura se observa que el área donde ocurre la mayor producción de biomasa y PEC se ha movido hacia la membrana, en comparación con los perfiles obtenidos para un flujo de recirculación de 30 ml/min.

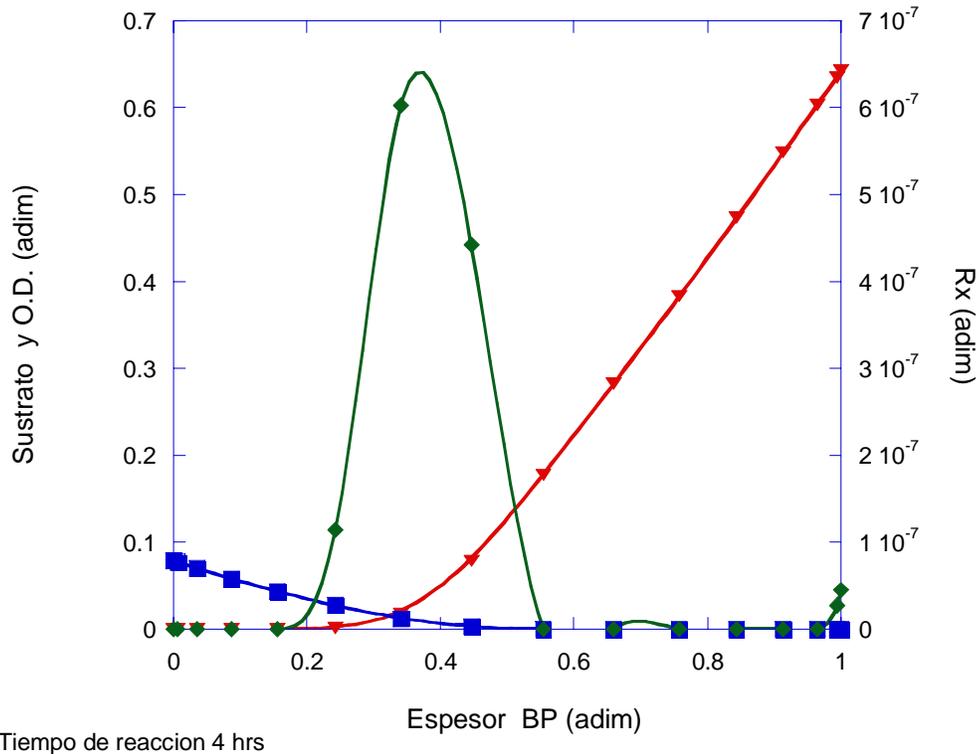


Figura 7.6. Perfiles de concentración de sustrato, OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 120 ml/min, de acuerdo con el modelo homogéneo. ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno, ◆ - Tasa de reacción.

Aunque los dos casos anteriores pudieron simularse de forma adecuada al duplicar el coeficiente de transferencia de masa interfacial, no sucedió lo mismo con los resultados experimentales obtenidos con un flujo de recirculación de 350 ml/min. Para este caso se realizaron diversas simulaciones aumentando el coeficiente de masa interfacial hasta no lograrse ningún cambio en el consumo de sustrato, y aún así no se obtuvieron resultados adecuados. Para poder obtener una mejor simulación fue necesario aumentar también los coeficientes de difusividad efectivos tanto del sustrato como de oxígeno, ambos, aproximadamente al doble de su valor original. Los coeficientes estimados se muestran en la Figura 7.8, así como la comparación entre los resultados experimentales y simulados para este caso. Estas predicciones se realizaron utilizando el modelo homogéneo, el cual no toma en cuenta la transferencia de masa entre el líquido que se encuentra dentro de los poros y canales, y los conglomerados celulares. Aumentar el coeficiente de difusión efectivo equivale

a tomar en cuenta dicha transferencia de masa, por lo cual se realizaron las mismas simulaciones utilizando el modelo heterogéneo y sus resultados se muestran en el inciso 7.3.

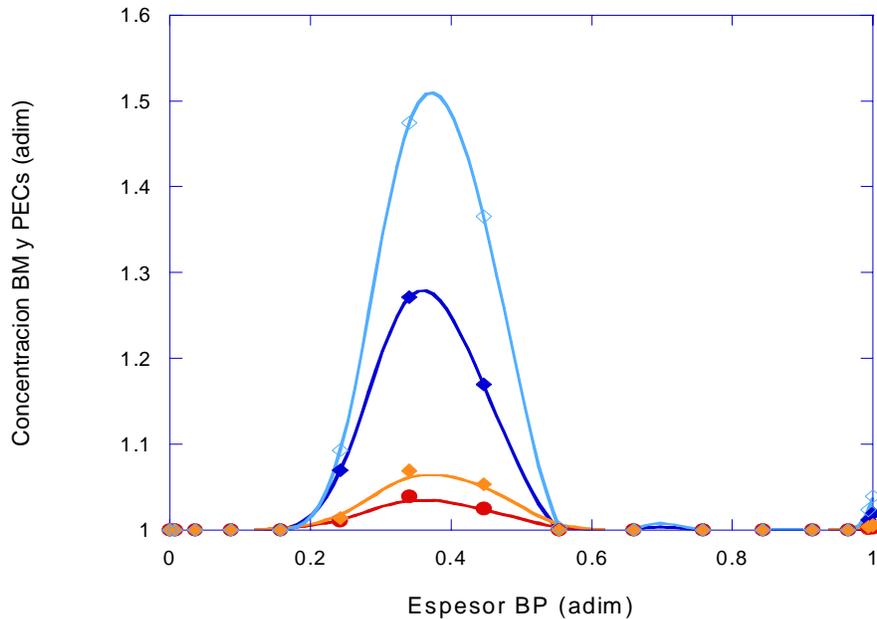


Figura 7.7. Perfiles de concentración de biomasa y polímeros extracelulares al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 120 ml/min, de acuerdo con el modelo homogéneo. ● - Biomasa 4 hrs, ○ - Biomasa 8 hrs ◆ - PEC 4 hrs, ◇ - PEC 8 hrs.

La figura 7.9 muestra los perfiles de concentración de sustrato, oxígeno disuelto y la tasa de reacción al interior de la biopelícula, para un tiempo de reacción de 4 horas. En este caso se observa que el sustrato penetra más a la biopelícula que en los dos casos anteriores, y la zona de reacción también se ha desplazado hacia la membrana.

La figura 7.10 muestra los perfiles de concentración de biomasa y PEC para el mismo caso con tiempos de reacción de 4 y 8 horas. Ahora las células que pueden reproducirse y producir PEC no se encuentran en el centro de la biopelícula sino en la mitad de ésta más cercana a la membrana.

En la figura 7.11 se muestra la concentración de biomasa al interior de la biopelícula para los tres casos estudiados. En ella se observa que la zona de reacción se mueve hacia la interfase con la membrana y que aumenta en tamaño al ir aumentando los coeficientes de transferencia de masa, lo cual indica que el sustrato penetra más hacia el interior de la biopelícula.

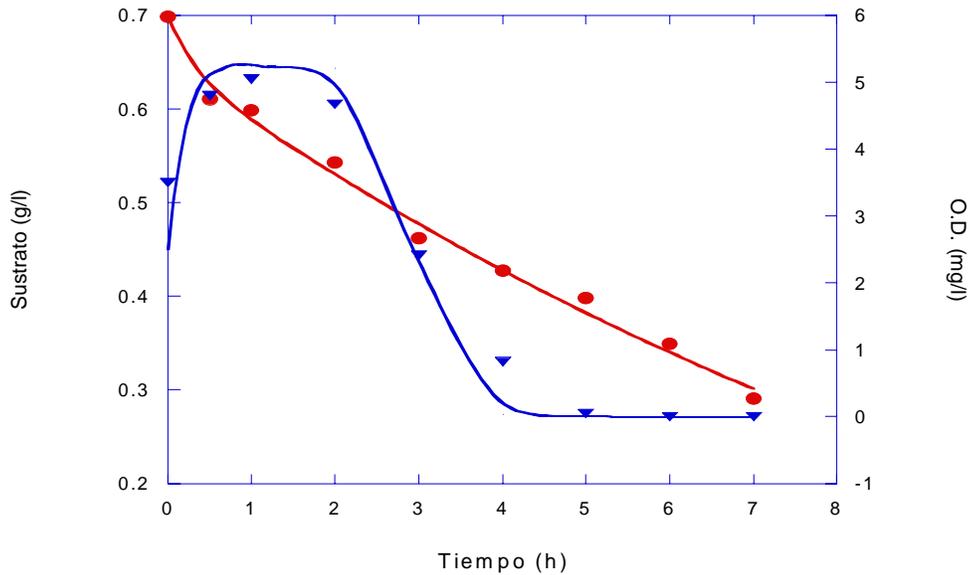


Figura 7.8. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculado a un flujo de recirculación de 350 ml/min, de acuerdo con el modelo homogéneo. ● – Sustrato experimental, — Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — - Oxígeno calculado.

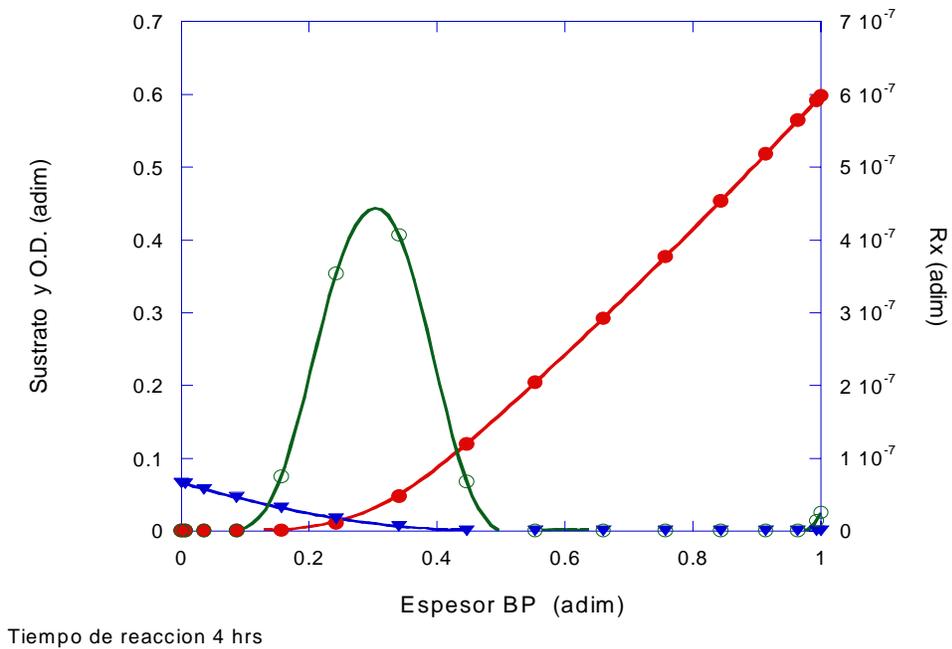


Figura 7.9. . Perfiles de concentración de sustrato, OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 350 ml/min, de acuerdo al modelo homogéneo. ▼ - Sustrato, ■ – Oxígeno, ◆- Tasa de reacción.

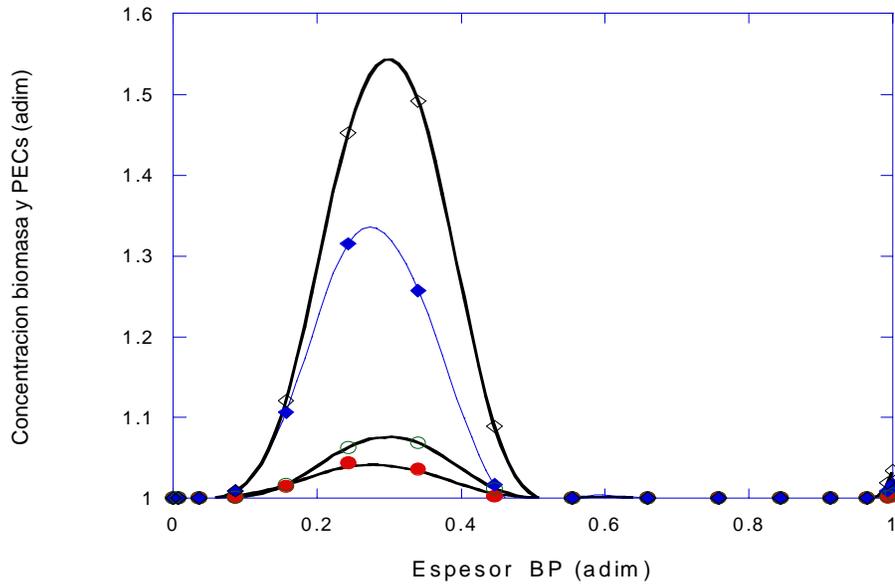


Figura 7.10. Perfiles de concentración de biomasa y polímeros extracelulares al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 350 ml/min, de acuerdo al modelo homogéneo. ● - Biomasa 4 hrs., ○ - biomasa 8 hrs., ◆ - PEC 4 hrs., ◇ - PEC 8 hrs.

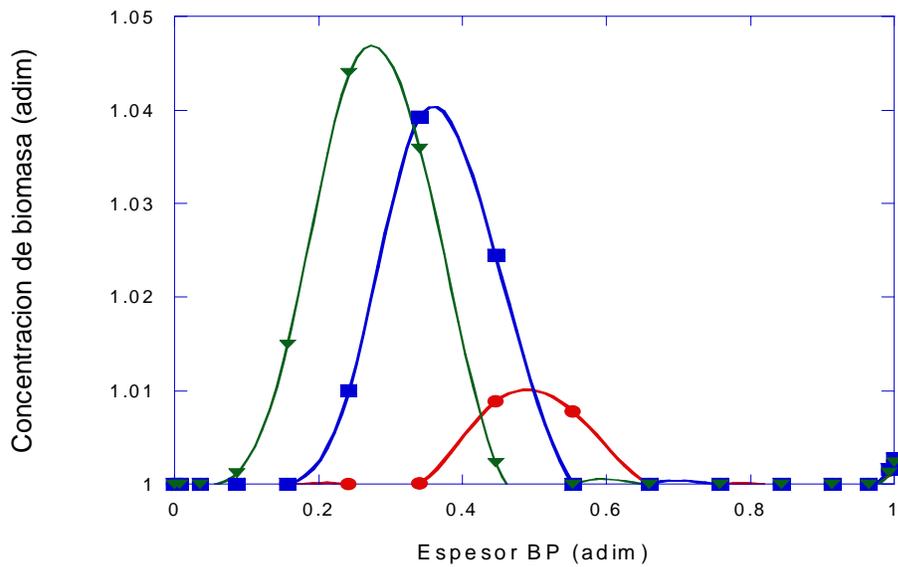


Figura 7.11. Efecto de la variación de flujo de recirculación en los perfiles de concentración de biomasa al interior de la biopelícula, de acuerdo al modelo homogéneo. ● - 30 ml/min, ■ 120 ml/min, ▼ 350 ml/min.

### 7.3. Los perfiles calculados de concentración en el líquido y en la biopelícula de acuerdo con el modelo heterogéneo.

El modelo homogéneo presenta limitaciones propias de su desarrollo ya que no considera la transferencia de masa de los poros y canales hacia los conglomerados celulares. Por ello se utilizó el modelo heterogéneo para simular los datos experimentales y la comparación entre éstos resultados y las mediciones experimentales para los tres casos estudiados en este capítulo se encuentran en las Figuras 7.12, 7.15 y 7.18. Utilizando este modelo si fue posible obtener un buen ajuste de las concentraciones en el líquido utilizando los mismos coeficientes efectivos de difusión para sustrato y oxígeno en los tres casos, y únicamente se varió el coeficiente de transferencia de masa interfacial externo (el coeficiente de transferencia de masa interfacial entre los poros y los conglomerados celulares se mantuvo constante).

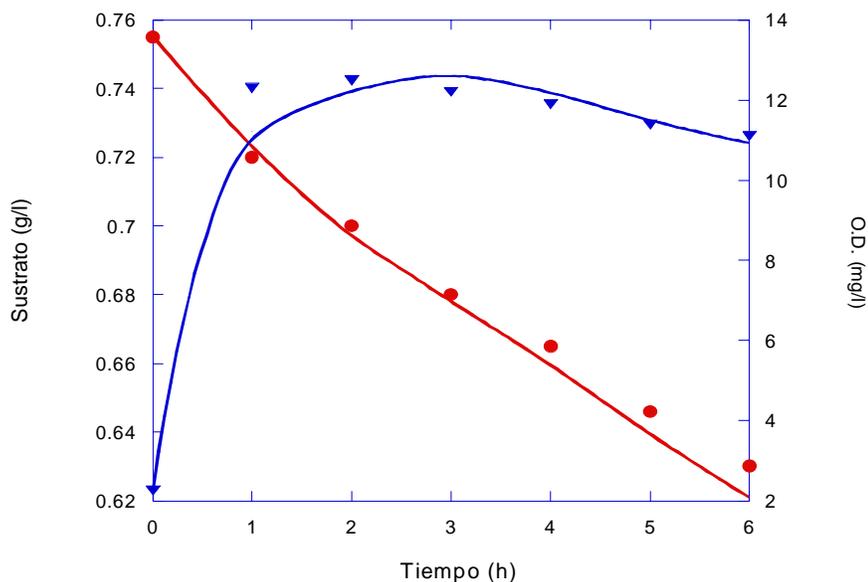
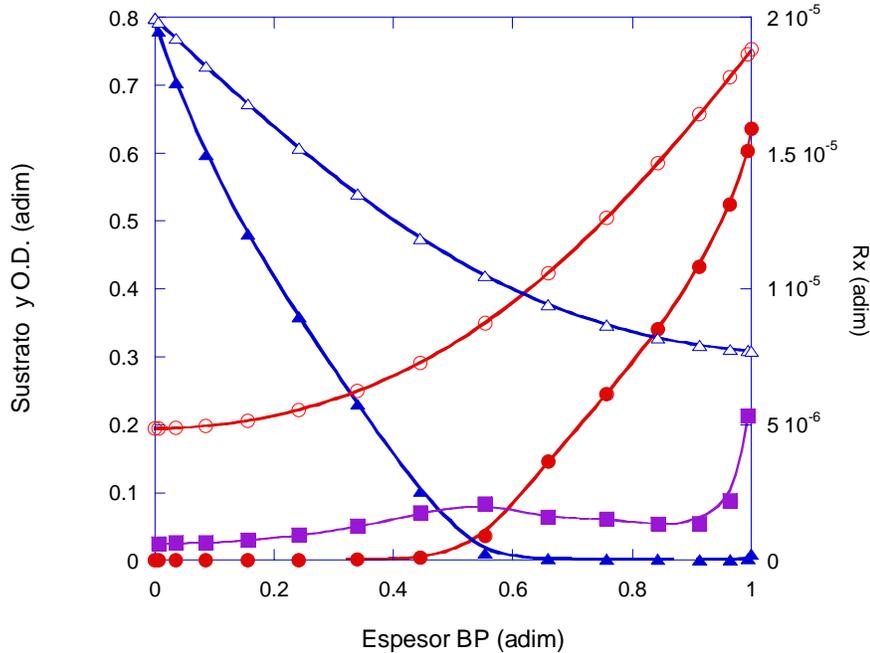


Figura 7.12. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculado a un flujo de recirculación de 30 ml/min, de acuerdo con el modelo heterogéneo. ● - Sustrato experimental, — Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — - Oxígeno calculado.

Las Figuras 7.13, 7.16 y 7.19 muestran los perfiles de concentración de sustrato y oxígeno disuelto, y la tasa de reacción en el interior de la biopelícula para los tres casos estudiados. En cuanto a la concentración de sustrato tanto en los conglomerados celulares como en los poros y canales, se observa que la concentración es mayor en el caso del flujo de recirculación de 30 ml/min (Figura 7.13), que en el caso de 120 ml/min (Figura 7.16) y que la concentración menor se presenta en el flujo de recirculación de 350 ml/min (Figura 7.19). Esto se debe a que los perfiles de concentración en los tres casos se reportan al mismo tiempo de operación y dado que el consumo de

sustrato es mayor en el flujo de recirculación de 350 ml/min, a las 3.5 horas de operación la concentración en el líquido externo es menor que en los casos anteriores y por ello la concentración de sustrato dentro de la biopelícula disminuye al aumentar la velocidad de recirculación.



Tiempo de operación = 3.5 hrs

Figura 7.13. Perfiles de concentración de sustrato, OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 30 ml/min, de acuerdo con el modelo heterogéneo. - ● Sustrato en conglomerados celulares, ○ Sustrato en poros y canales, ▲ - Oxígeno en conglomerados celulares, △ - Oxígeno en poros y canales, ■ - Tasa de reacción.

La concentración de oxígeno tanto en poros y canales como en los conglomerados celulares observada en las mismas tres figuras varía de manera inversa a la del sustrato, con respecto a la velocidad de recirculación. La mayor concentración de oxígeno la encontramos en la Figura 7.19, que corresponde a una tasa de recirculación de 350 ml/min, y la concentración menor de oxígeno se presenta en el caso de la tasa de recirculación de 30 ml/min. Esto se observa debido a que la alimentación de oxígeno es continua mientras que la de sustrato es por lotes; por lo tanto a medida que se agota el sustrato la concentración de oxígeno aumenta en la biopelícula.

Como es de esperarse, dados los perfiles de concentración de oxígeno y sustrato en los conglomerados celulares, las tasas de reacción para cada uno de los flujos son diferentes. Para los tres casos la tasa máxima de reacción se encuentra en la interfase líquido-biopelícula, pero los valores de las tasas de reacción son diferentes para cada caso. El flujo de recirculación de 30 ml/min -

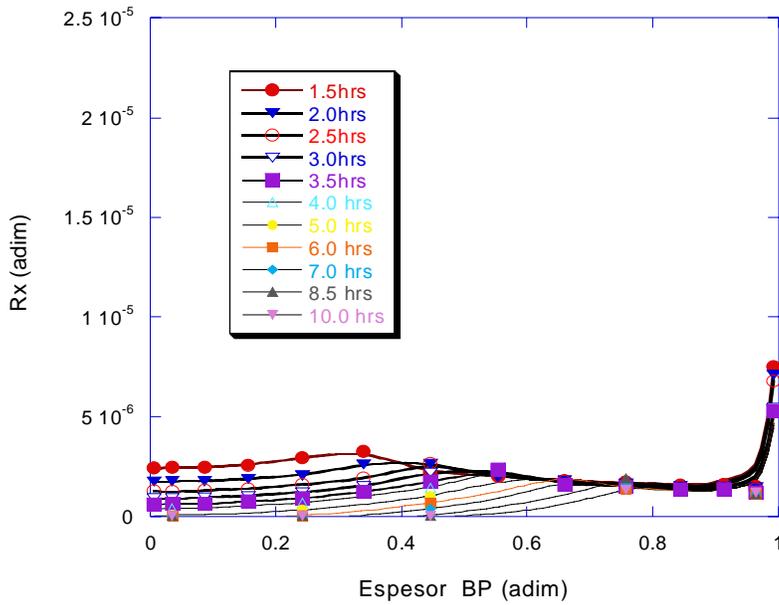


Figura 7.14. Evolución de la región donde ocurre la biorreacción al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Flujo de recirculación = 30 ml/min.

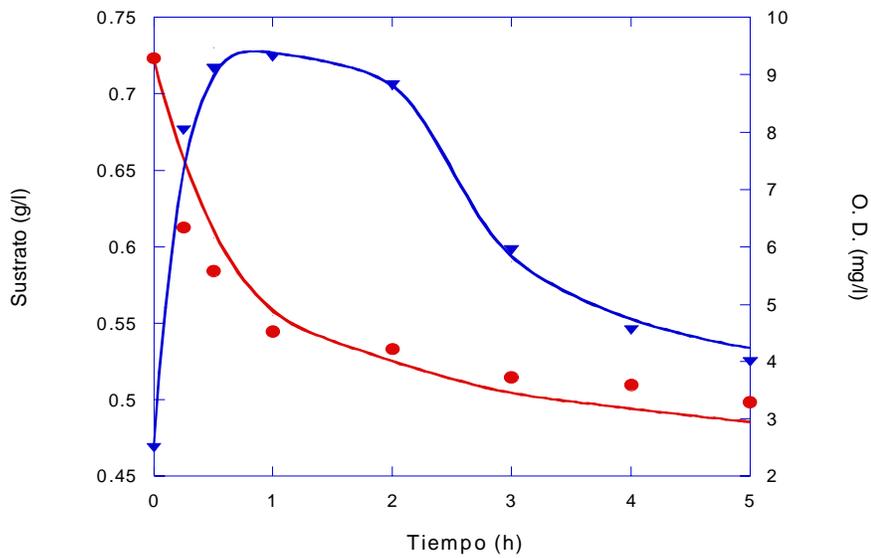


Figura 7.15. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculado a un flujo de recirculación de 120 ml/min, de acuerdo con el modelo heterogéneo. ● - Sustrato experimental, — Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — - Oxígeno calculado.

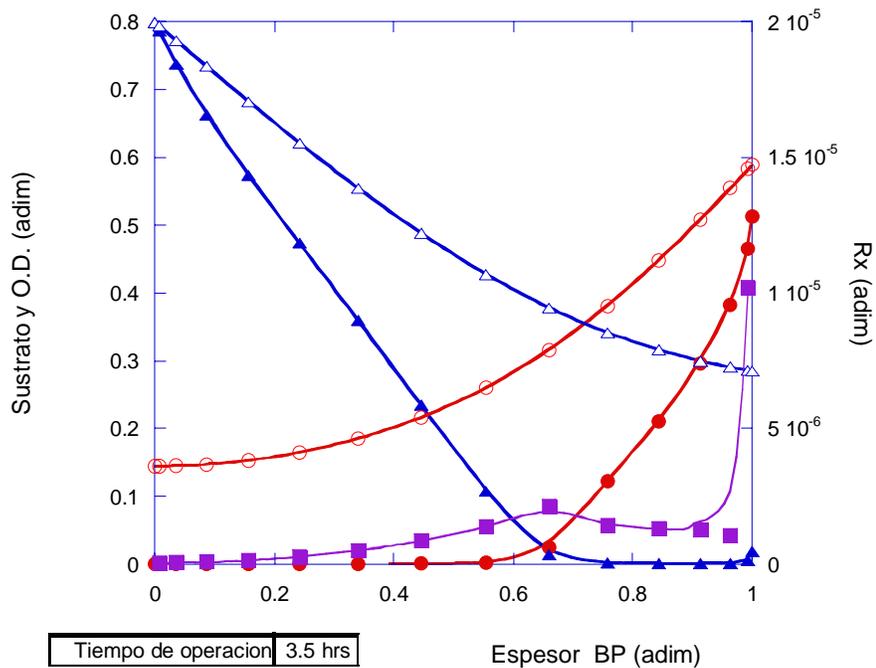


Figura 7.16. Perfiles de concentración de sustrato, OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 120 ml/min, de acuerdo con el modelo heterogéneo. - ● Sustrato en conglomerados celulares, ○ Sustrato en poros y canales, ▲ – Oxígeno en conglomerados celulares, △ - Oxígeno en poros y canales, ■ - Tasa de reacción.

de 30 ml/min presenta una tasa máxima de reacción adimensional aproximada de  $0.5 \times 10^{-5}$ , la misma tasa para el flujo de recirculación de 120 ml/min es de  $1.0 \times 10^{-5}$  y para el flujo de recirculación de 350 ml/min la tasa máxima de reacción adimensional es de  $1.5 \times 10^{-5}$ , lo cual concuerda con las observaciones experimentales. Mientras la tasa de reacción para el flujo de recirculación mayor, a 3.5 hrs de operación, es cero para casi el 60 % de la biopelícula; para el flujo de recirculación medio es cero solo en el 10% de la biopelícula; y en el caso de flujo de recirculación menor toda la biopelícula se encuentra activa. Sin embargo la comparación de estas tres tasas de reacción está influenciada por el tiempo, ya que como se mencionó anteriormente, la concentración en el líquido externo es diferente para cada uno de los casos. Sin embargo se puede observar la evolución de las tasas de reacción en el tiempo para cada uno de los diferentes flujos. Estos se muestran en las Figuras 7.14, 7.17 y 7.20 para cada una de las tasas de recirculación. Al comparar estas tres figuras se observa que (aunque no se encuentran en la misma escala por razones de claridad) las tasas de reacción aumentan considerablemente al aumentar la velocidad y además, a diferencia de lo observado con las simulaciones del modelo homogéneo, toda la biopelícula se encuentra activa mientras el sustrato no se agote.

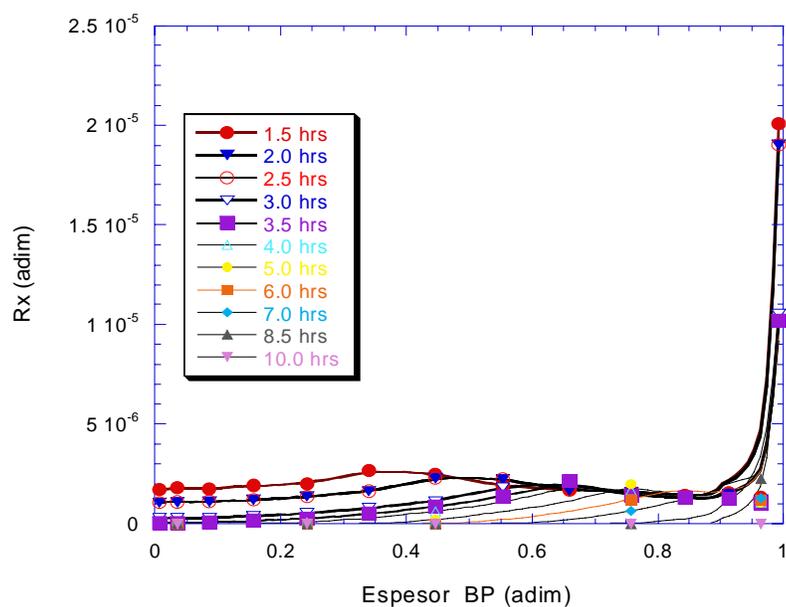


Figura 7.17. Evolución de la región donde ocurre la biorreacción al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Flujo de recirculación = 120 ml/min.

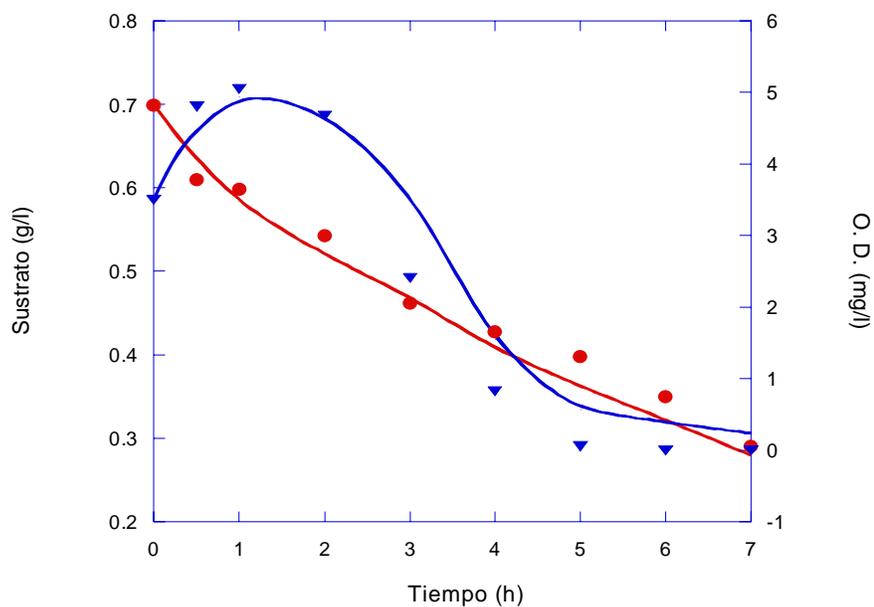


Figura 7.18. Comparación entre la concentración de sustrato y OD en el líquido experimental y calculado a un flujo de recirculación de 350 ml/min, de acuerdo con el modelo heterogéneo. ● - Sustrato experimental, — Sustrato calculado, ▼ - oxígeno experimental, — Oxígeno calculado.

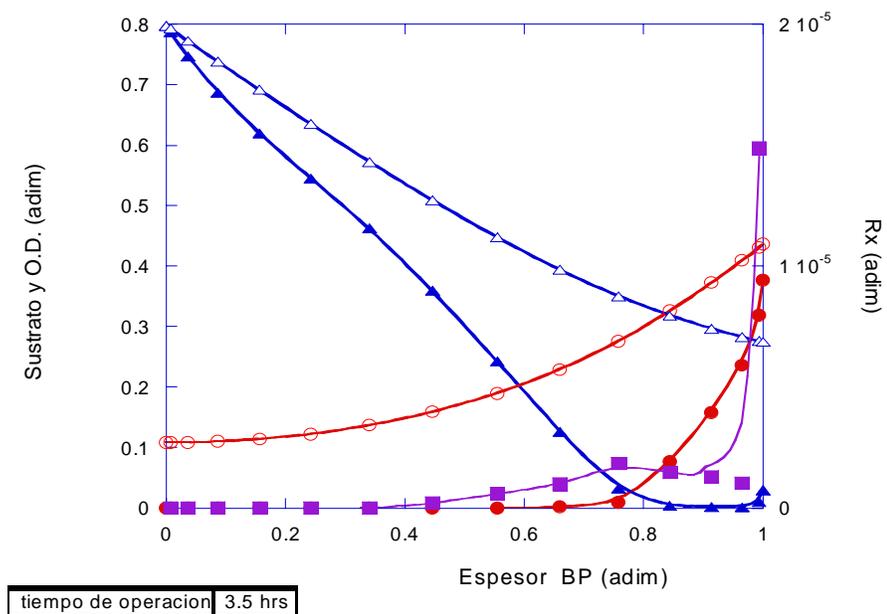


Figura 7.19. Perfiles de concentración de sustrato, OD y tasa de reacción al interior de la biopelícula a un flujo de recirculación de 350 ml/min, de acuerdo con el modelo heterogéneo. - ● Sustrato en conglomerados celulares, ○ Sustrato en poros y canales, ▲ – Oxígeno en conglomerados celulares, △ - Oxígeno en poros y canales, ■ - Tasa de reacción.

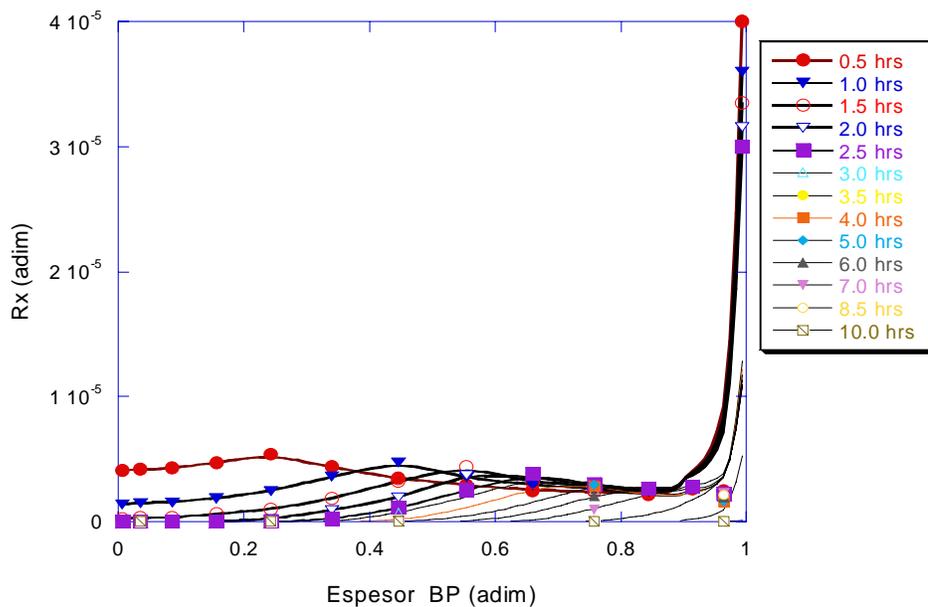


Figura 7.20. Evolución de la región donde ocurre la biorreacción al interior de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo. Flujo de recirculación = 350 ml/min.

Con el propósito de comparar la variación de los coeficientes de transferencia de masa interfacial con la velocidad de flujo, se utilizaron las ecuaciones 7.1 (Welty *et al.*, 1969), 7.2 (De Beer y Kühl, 2001) y 7.3 (Schlichting, 1979) para calcular el coeficiente de masa interfacial  $k_l$  en función del Número de Reynolds y del Número de Schmidt, ésta última derivada de la solución de Blasius de la capa límite para flujo laminar de Prandtl (Schlichting, 1979):

$$k_l = \frac{1.66 * U_\infty}{\sqrt{\text{Re}}} Sc^{1/3} \quad (7.1)$$

$$k_l = 0.0889 U_\infty Sc^{-0.704} \quad (7.2)$$

$$k_l = \frac{1.66 * U_\infty}{\text{Re}^{1/2} Sc^{2/3}} \quad (7.3)$$

En donde  $U_\infty$  es la velocidad de flujo del líquido fuera de la capa límite. La velocidad de flujo en cada caso se calculó utilizando el área de sección transversal que se encuentra entre la interfase líquido biopelícula y la pared interior del biorreactor.

El Número de Reynolds se calculó con la siguiente ecuación (Bird *et al.*, 2002):

$$\text{Re} = \frac{U_\infty L}{\nu} \quad (7.4)$$

Donde  $\nu = \frac{\mu}{\rho}$  es la viscosidad cinemática y  $L$  es la longitud de la biopelícula.

El Número de Schmidt se calculó de acuerdo con la ecuación 7.5 (Bird *et al.*, 2002):

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D_l} \quad (7.5)$$

Los esfuerzos de corte se calcularon utilizando la ecuación 7.6 derivada de la solución de Blasius para la capa límite de Prandtl (Schlichting, 1979):

$$\tau_0 = \alpha \mu V_\infty \sqrt{\frac{V_\infty}{\nu x}} \quad (7.6)$$

Donde  $\alpha = 0.332$

$x$  = longitud a la cual se calcula  $\tau_0$

También se tomó en cuenta que el esfuerzo de corte es proporcional a la velocidad del fluido elevada a la 2/3:  $\tau_0 \propto U_\infty^{2/3}$

El espesor de la capa límite  $\delta$  se calculó de acuerdo con la ecuación 7.7 (Schlichting, 1979):

$$\delta = 5.0 \sqrt{\frac{vx}{V_\infty}} \quad (7.7)$$

ó también:

$$\frac{\delta}{L} = \frac{5}{\sqrt{Re}} \quad (7.8)$$

Los resultados obtenidos para cada uno de los flujos se muestran en la tabla 7.1, así como coeficientes de transferencia de masa interfacial calculados utilizando las ecuaciones anteriores y los coeficientes de masa interfacial estimados utilizando los dos modelos.

*Tabla 7.1. Comparación entre los valores de coeficiente de transferencia de masa interfacial calculados y simulados con los dos modelos.*

Flujo (ml/min)	30	120	350
Velocidad (cm/s)	0.092	0.37	1.07
No. de Reynolds	239.3	957.0	2791.2
No. de Schmidt	666.7	666.7	666.7
Esfuerzo de corte (25% BP) (g/cms)	$3.63 \times 10^{-4}$	$2.91 \times 10^{-3}$	$1.45 \times 10^{-2}$
Esfuerzo de corte (50% BP) (g/cms)	$2.5 \times 10^{-4}$	$2.05 \times 10^{-3}$	$1.02 \times 10^{-2}$
Espesor de capa límite (25% BP) (cm)	4.202	2.066	1.230
Espesor de capa límite (50% BP) (cm)	5.943	2.971	1.739
$k_l$ (ec. 7.1) (cm/s)	$4.64 \times 10^{-4}$	$9.28 \times 10^{-4}$	$1.58 \times 10^{-3}$
$k_l$ (ec. 7.2) (cm/s)	$0.937 \times 10^{-5}$	$3.723 \times 10^{-4}$	$1.085 \times 10^{-3}$
$k_l$ (ec. 7.3) (cm/s)	$1.266 \times 10^{-4}$	$2.558 \times 10^{-4}$	$4.420 \times 10^{-4}$
$k_l$ (estimado por mod. Homog.) (cm/s)	$0.984 \times 10^{-4}$	$2.256 \times 10^{-4}$	$4.161 \times 10^{-4}$
$k_l$ (estimado por mod. Heterog.) (cm/s)	$1.165 \times 10^{-4}$	$2.437 \times 10^{-4}$	$4.012 \times 10^{-4}$

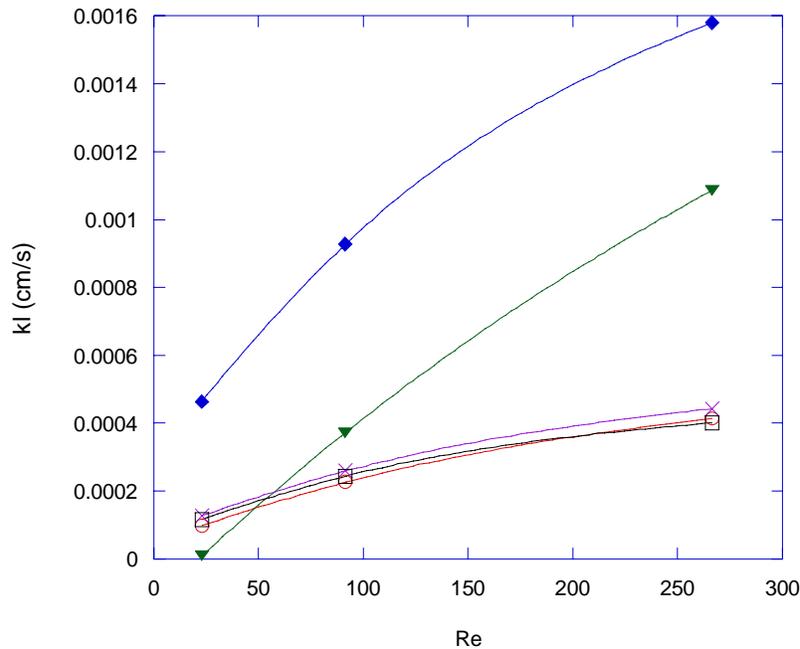


Figura 7.21. Comparación entre los coeficientes de transferencia masa interfacial obtenidos mediante el modelo y mediante ecuaciones de velocidad. ○ - Estimado con modelo homogéneo, □ estimado con modelo heterogéneo, ♦ - calculado con ec. 7.1, ▼ - calculado con ec. 7.2, X - calculado con ecuación 7.3

#### 7.4. La influencia del coeficiente de transferencia de masa interfacial interno.

Como se mencionó en el capítulo 3 el modelo heterogéneo considera la transferencia de masa interfacial entre el líquido contenido en los poros y los conglomerados celulares dentro de la biopelícula. En este inciso se muestra cómo influyen las variaciones del  $k_i$  interno en los perfiles de concentración y tasas de reacción dentro de la biopelícula, ya que éste varía con la velocidad del líquido externo, y su influencia en las concentraciones del líquido externo. Para realizar este análisis teórico se utilizó la velocidad de recirculación de 120 ml/min y por consiguiente su coeficiente de transferencia de masa interfacial biopelícula-líquido estimado ( $k_i = 2.437 \times 10^{-4}$  cm/s).

Las Figuras 7.22 a 7.24 muestran los perfiles de concentración de sustrato en los conglomerados celulares para tres diferentes coeficientes de transferencia de masa interfacial internos ( $k_{ii}$ ):  $0.1 \times 10^{-5}$ ,  $0.3 \times 10^{-5}$ , y  $0.5 \times 10^{-5}$  cm/s respectivamente. En ellas se observa cómo la concentración de sustrato disminuye con el tiempo debido al consumo del sustrato; también se observa (Figura 7.25), que al aumentar el  $k_{ii}$ , aumenta la penetración del sustrato al interior de la biopelícula,

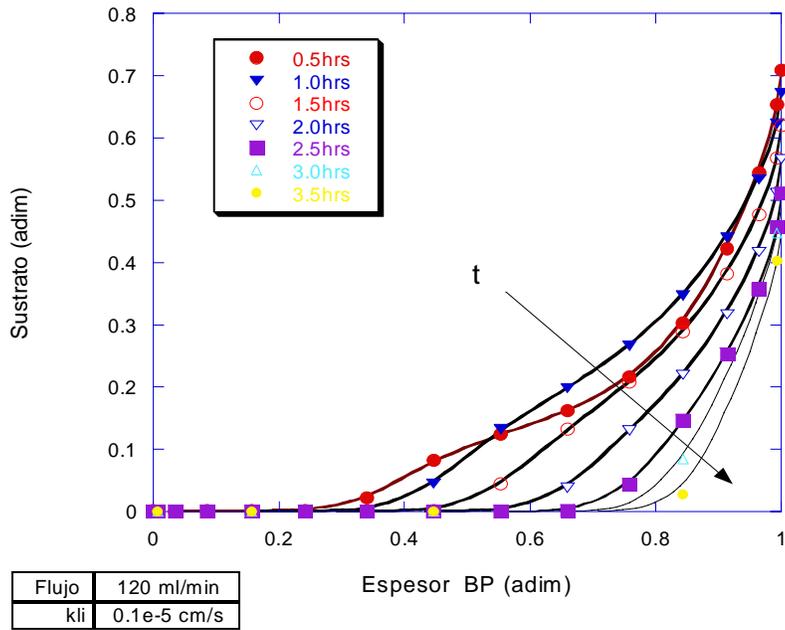


Figura 7.22. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en los conglomerados celulares de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{ij} = 0.1 \times 10^{-5}$  cm/s.

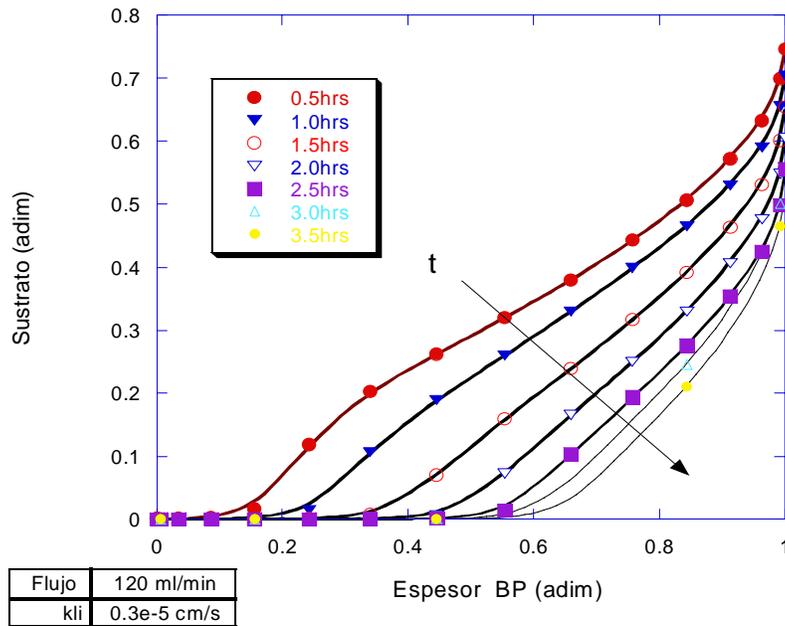


Figura 7.23. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en los conglomerados celulares de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{ij} = 0.3 \times 10^{-5}$  cm/s.

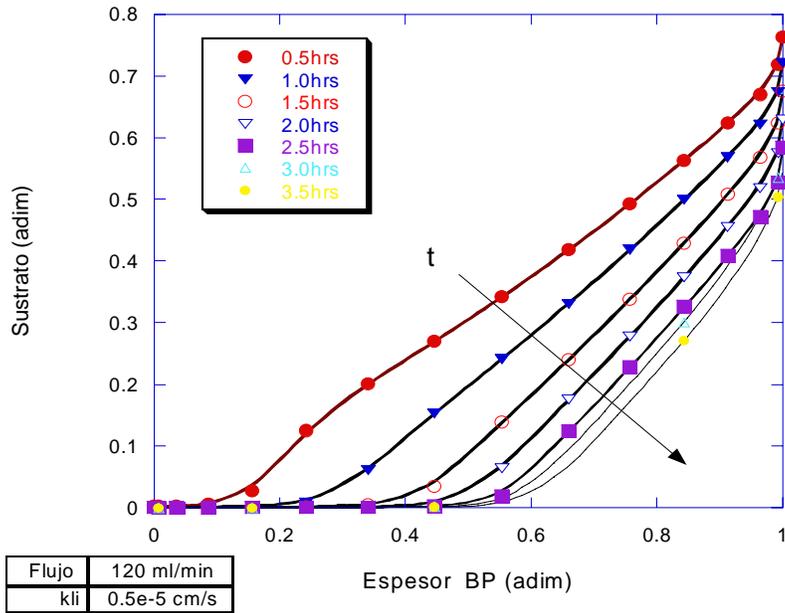


Figura 7.24. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en los conglomerados celulares de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{li} = 0.5 \times 10^{-5}$  cm/s.

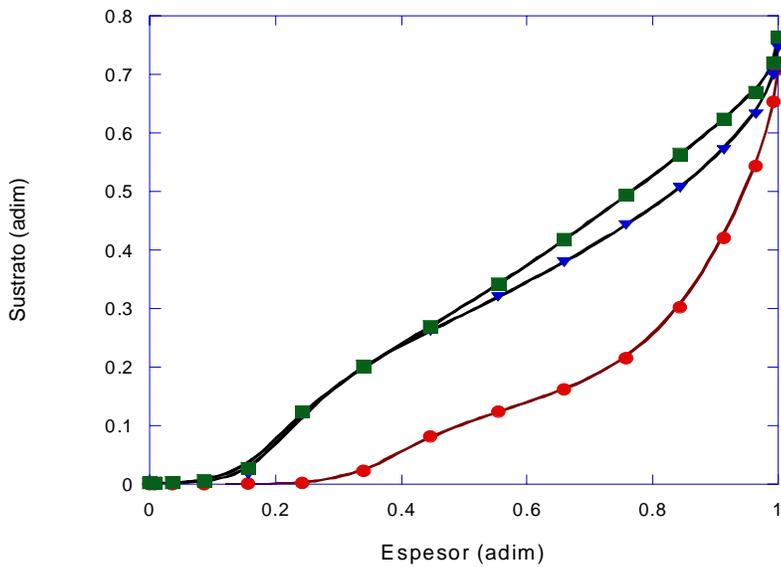


Figura 7.25. Comparación de los perfiles de concentración de sustrato en los conglomerados celulares de la biopelícula a tres diferentes  $k_{li}$ . Modelo heterogéneo. ● -  $k_{li} = 0.1 \times 10^{-5}$  cm/s, ▼ -  $k_{li} = 0.3 \times 10^{-5}$  cm/s ■  $k_{li} = 0.5 \times 10^{-5}$  cm/s.

así como también la concentración en la interfase líquido-biopelícula y en general en todo el espesor de la biopelícula. Y como es de esperarse ocurre lo contrario en los perfiles de concentración de sustrato en el líquido contenido en los poros y canales; ya que los coeficientes efectivos de difusión y de transferencia de masa interfacial externos se mantuvieron constantes, la concentración de sustrato disminuye al aumentar el coeficiente de transferencia de masa interfacial interno. Esto puede observarse en las Figuras 7.26 a 7.28 que muestran los perfiles de concentración de sustrato en los poros a través del tiempo para los mismos tres valores de  $k_{li}$ , para los que se presentaron los perfiles en los conglomerados celulares. En estas figuras también se observa que la concentración de sustrato en poros y canales disminuye con el tiempo debido al agotamiento de sustrato en el líquido externo.

En cuanto a los perfiles de concentración de oxígeno en los conglomerados celulares, presentados en las Figuras 7.29 a 7.31, se observa que la concentración de oxígeno va aumentando con el tiempo ya que la alimentación de oxígeno es continua. También se observa que la concentración de oxígeno es más baja en el caso en que el  $k_{li}$  es más alto y va aumentando al disminuir el  $k_{li}$ , lo cual se debe a que se requiere mayor cantidad de oxígeno para consumir la mayor cantidad de sustrato que entra al conglomerado celular.

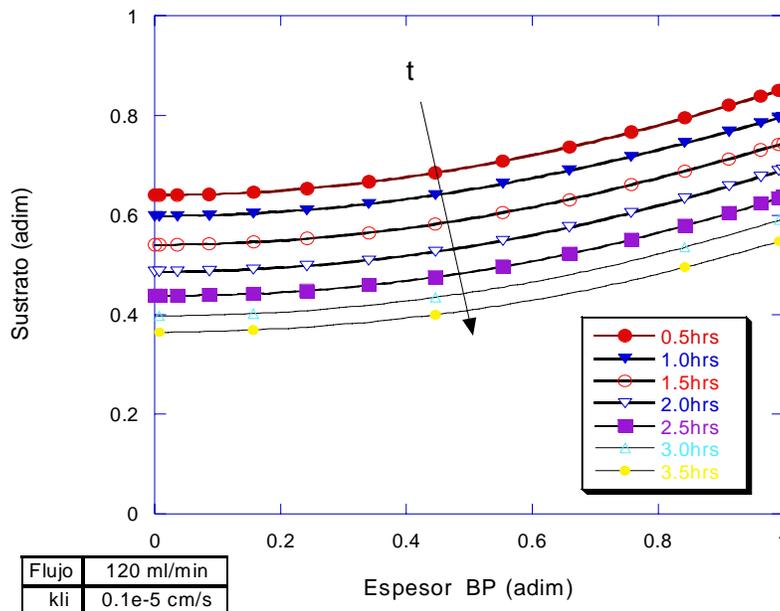


Figura 7.26. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en los poros y canales de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{li} = 0.1 \times 10^{-5}$  cm/s.

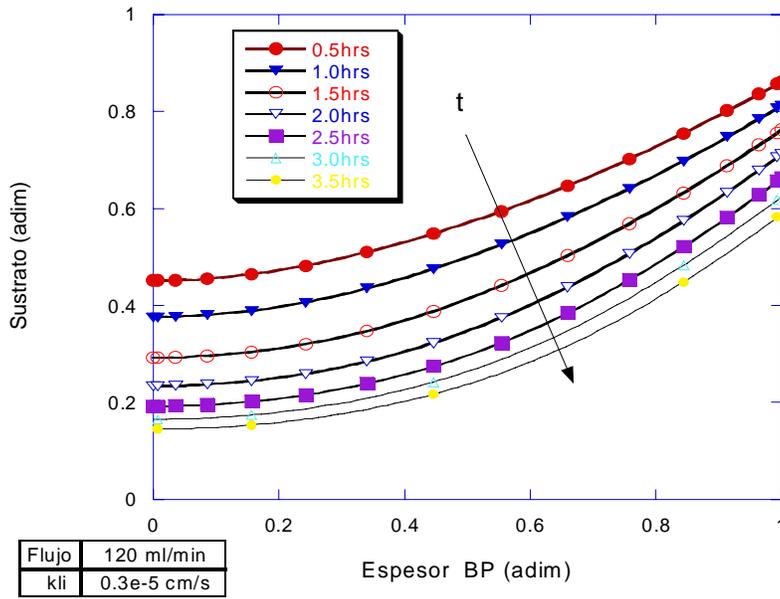


Figura 7.27. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en los poros y canales de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{ij} = 0.3 \times 10^{-5}$  cm/s.

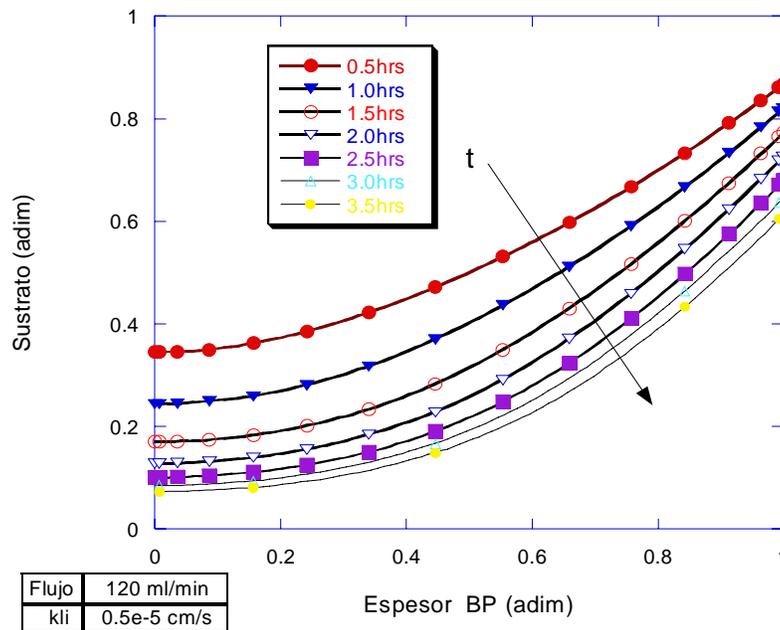


Figura 7.28. Evolución de los perfiles de concentración de sustrato en los poros y canales de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{ij} = 0.5 \times 10^{-5}$  cm/s.

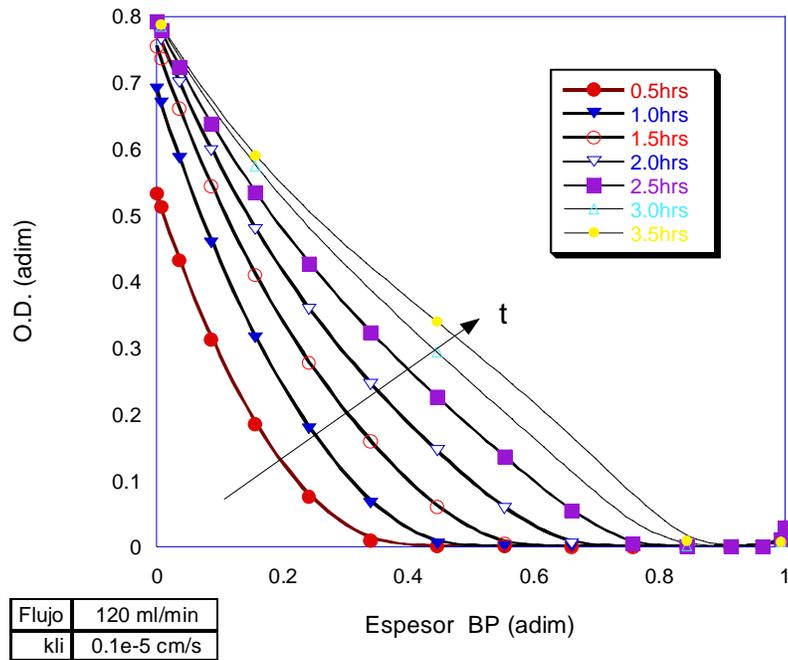


Figura 7.29. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en los conglomerados celulares de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{ij} = 0.1 \times 10^{-5}$  cm/s.

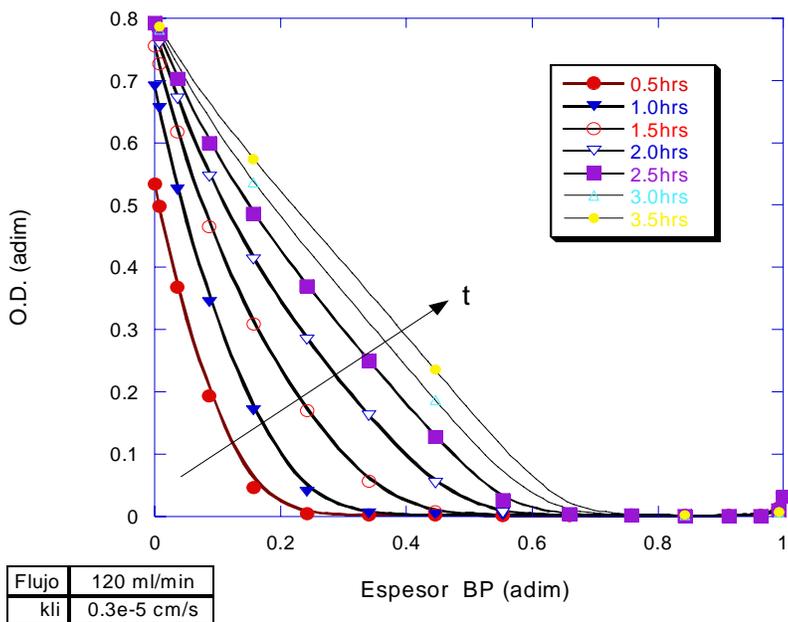


Figura 7.30. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en los conglomerados celulares de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{ij} = 0.3 \times 10^{-5}$  cm/s.

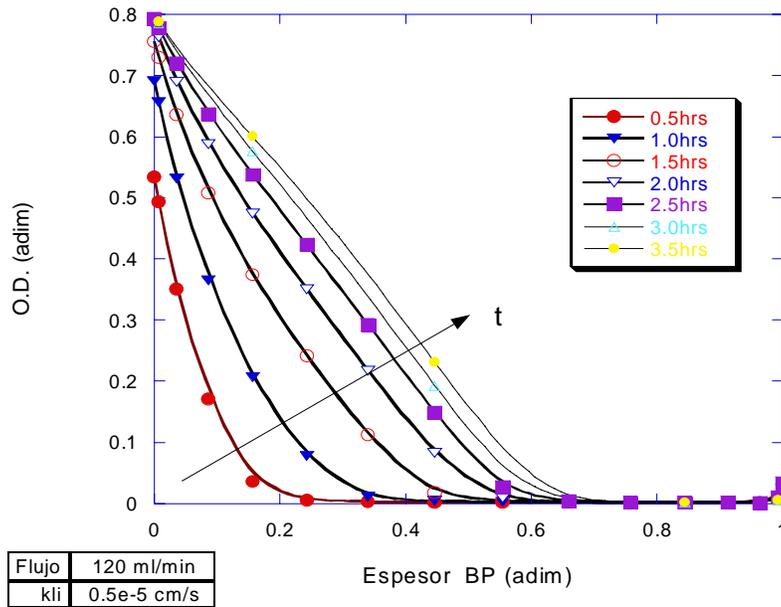


Figura 7.31. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en los conglomerados celulares de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{li} = 0.5 \times 10^{-5}$  cm/s.

En el caso de los perfiles de concentración de oxígeno en poros y canales dentro de la biopelícula, presentados en las Figuras 7.32 a 7.34 para los tres valores de coeficiente de transferencia de masa interfacial que se analizan, se observa que la concentración de oxígeno aumenta con el tiempo por la alimentación continua de éste, y que la concentración de oxígeno es mayor en el caso del  $k_{li}$  más bajo, comparada con los valores más altos de  $k_{li}$ , debido a la menor transferencia de oxígeno hacia los conglomerados y a su consumo en estos.

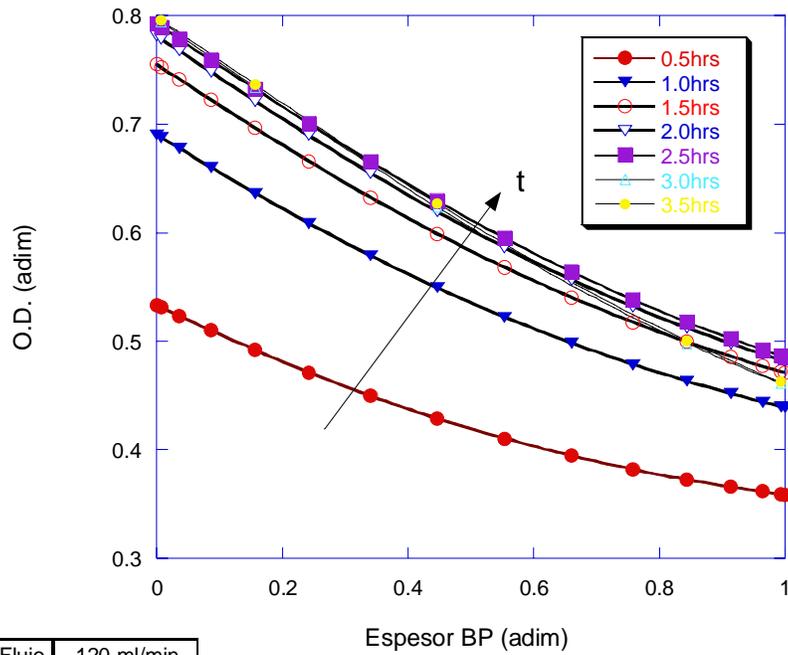


Figura 7.32. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en los poros y canales de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{li} = 0.1 \times 10^{-5}$  cm/s.

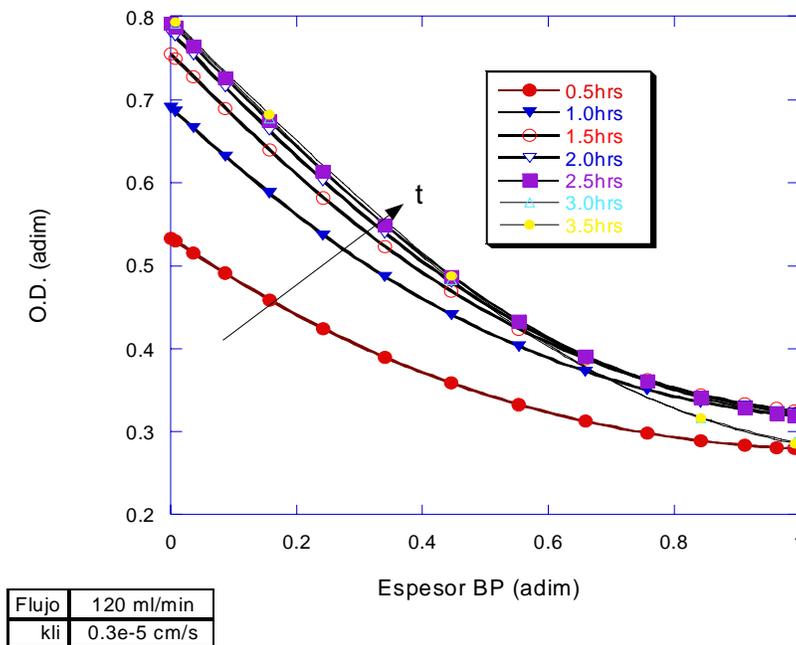


Figura 7.33. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en los poros y canales de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{li} = 0.3 \times 10^{-5}$  cm/s.

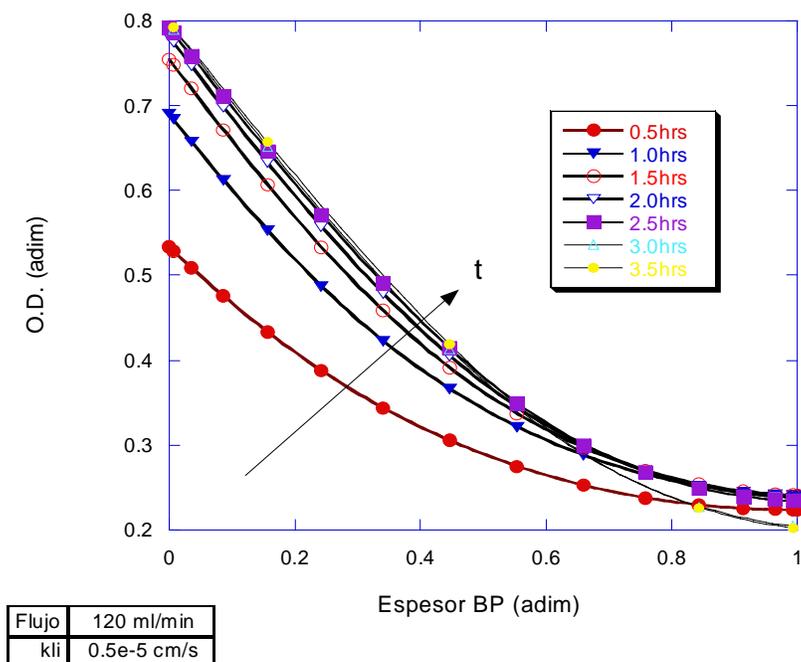


Figura 7.34. Evolución de los perfiles de concentración de oxígeno en los poros y canales de la biopelícula a través del tiempo. Modelo heterogéneo.  $k_{li} = 0.5 \times 10^{-5}$  cm/s.

## 7.5. Discusión de resultados y conclusiones.

Después de analizar los resultados obtenidos en este capítulo podemos concluir que:

- El consumo de sustrato dentro de nuestro sistema es mayor al aumentar la velocidad de flujo de recirculación, como es de esperarse de acuerdo con un mayor transporte de masa interfacial al disminuir el espesor de capa límite (solución de Blasius de la capa límite de Prandtl).
- De acuerdo con las predicciones del modelo homogéneo, al aumentar la velocidad de recirculación el espesor de capa límite disminuye y el sustrato penetra más al interior de la biopelícula, aumentando la velocidad de reacción y el volumen activo de biopelícula.
- De acuerdo con las predicciones del modelo homogéneo, la zona de la biopelícula en donde se lleva a cabo la reacción se desplaza hacia la membrana al aumentar la velocidad de flujo, debido a la mayor penetración del sustrato al interior de la biopelícula.

- De acuerdo con las predicciones del modelo homogéneo, en todos los casos el oxígeno es el sustrato limitante en la biopelícula.
- Los coeficientes de transferencia de masa interfacial calculados y simulados se encuentran en el mismo orden de magnitud.
- De acuerdo con las predicciones del modelo heterogéneo, el coeficiente de masa interfacial líquido-biopelícula puede determinarse utilizando la ecuación 7.3, derivada de la solución de Blasius de la capa límite para flujo laminar de Prandtl (Schlichting, 1979), ya que los valores estimados para el coeficiente de transferencia de masa interfacial externo, obtenidos con los modelos, son muy similares a los obtenidos con dicha ecuación.
- De acuerdo con el modelo heterogéneo el aumentar la velocidad de recirculación en el biorreactor, produce un aumento en el coeficiente de transferencia de masa interfacial, el cual se refleja en una mayor penetración de sustrato y oxígeno al interior de la biopelícula, y por tanto mayores tasas de reacción en el interior de la biopelícula.
- En cuanto al coeficiente de transferencia de masa interfacial interno se requiere de un mayor estudio del transporte de masa acoplado con la hidrodinámica del líquido externo interactuando con la de la biopelícula, considerando a esta última como un medio poroso isotrópico. Si bien la consideración de isotropía es difícil de cumplir, lo anterior será un primer paso para un estudio posterior.

# Capítulo 8

## Sistemas dinámico y continuo

### 8.1 Sistema dinámico

*En este inciso se analiza el comportamiento dinámico de la biopelícula cuando se inyectan, a ciertos tiempos, dos pulsos secuenciales conteniendo un pequeño volumen de líquido con una concentración muy alta de sustrato. Las corridas experimentales se llevaron a cabo alimentando una solución muy concentrada de acetato de sodio con dos objetivos diferentes: 1. alimentar cada dos horas la cantidad de sustrato necesaria para alcanzar la concentración inicial; 2. alimentar cada dos horas una cantidad de sustrato para alcanzar una concentración mayor a la inicial.*

Para este análisis definiremos el caso en el que se alcanzó una concentración similar a la inicial y se utilizó una tasa de recirculación de 120 ml/min como el caso 1. En el caso 3 se logró la misma concentración que en el caso 1 pero se utilizó una tasa de recirculación de 350 ml/min. El Caso 2 es en el que se alcanzó una concentración mayor con cada inyección y se llevó a cabo a una tasa de recirculación de 120 ml/min. Las figuras 8.1 a 8.3 muestran los resultados experimentales para estos tres casos.

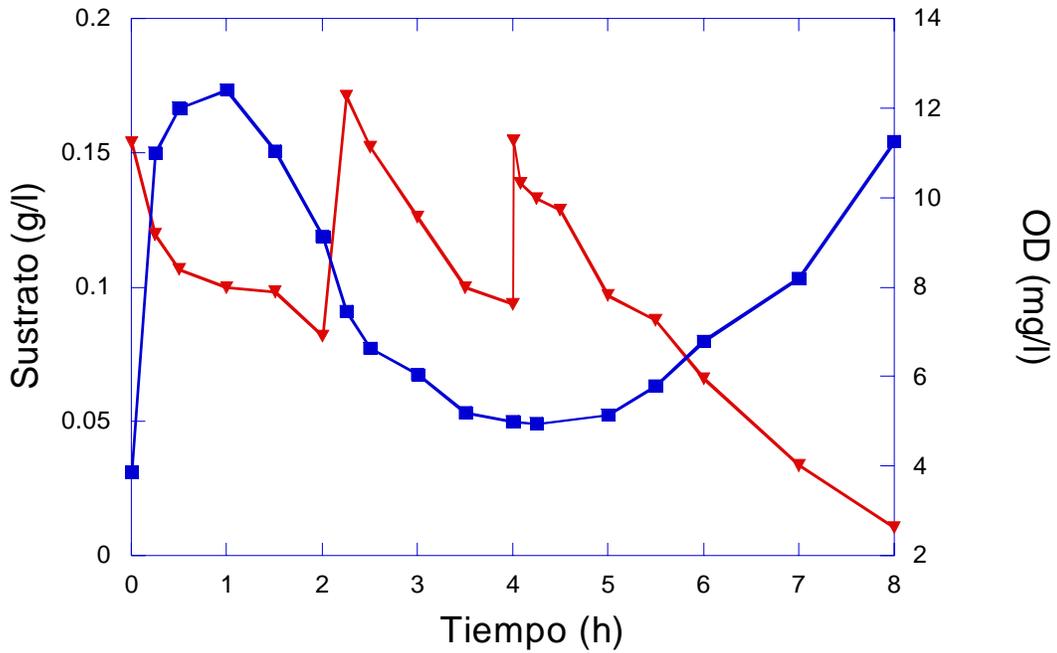


Figura 8.1. Caso 1. Experimento dinámico de inyección de pulsos, con flujo de recirculación de 120 ml/min. ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno

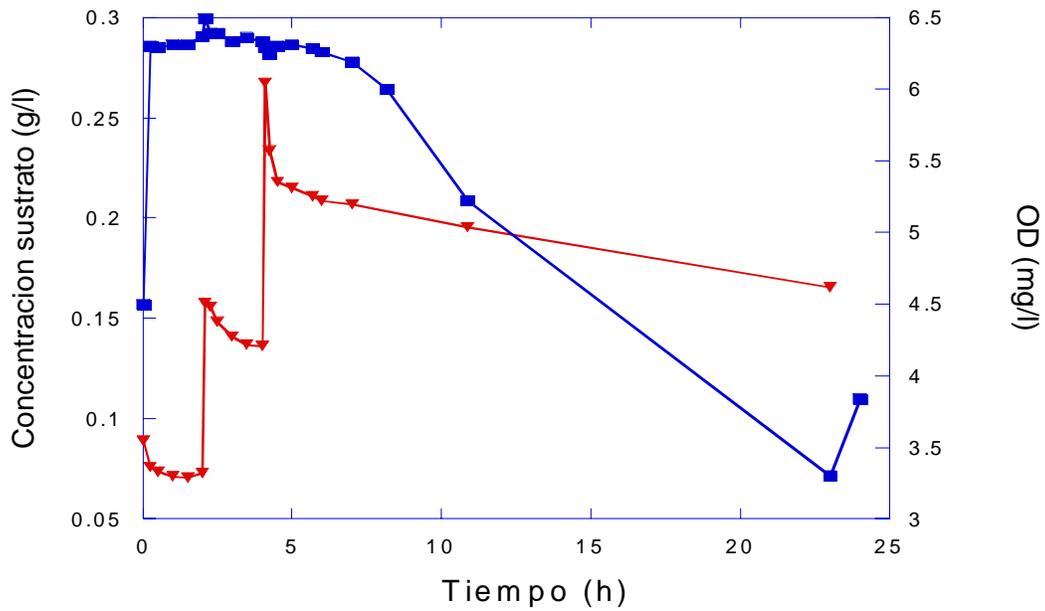


Figura 8.2. Caso 2. Experimento dinámico con inyección de pulsos, con flujo de recirculación de 120 ml/min. ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno

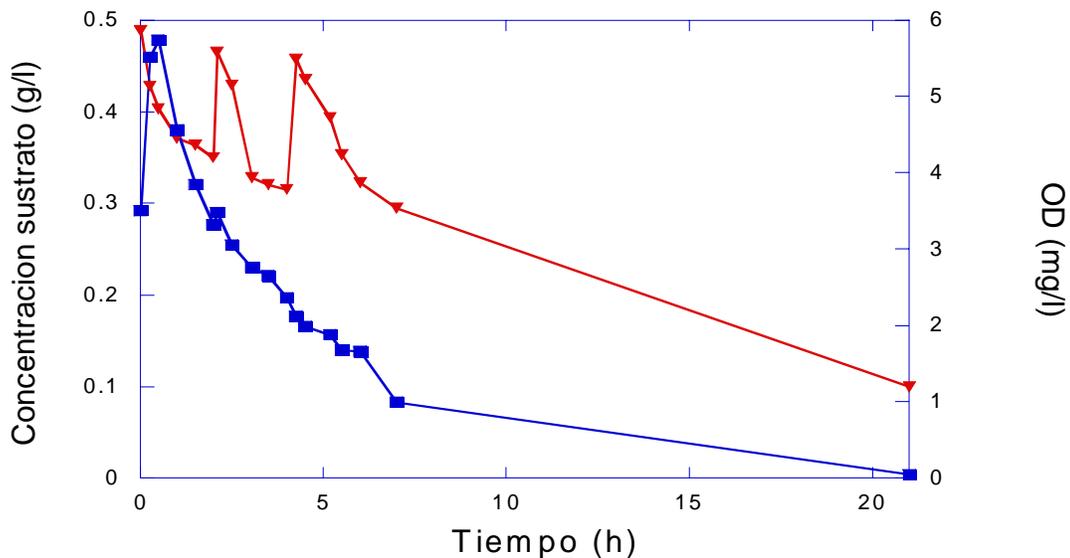


Figura 8.3 Caso 3. Experimento dinámico de inyección de pulsos, con flujo de recirculación de 350 ml/min. ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno

Para analizar, de forma cualitativa, si la tasa de reacción en la biopelícula se ve afectada por la inyección de estos pulsos de concentración de sustrato, definimos una tasa de transporte-reacción en la que se engloban los transportes de masa interfacial y difusivo, y la tasa de reacción, dado que experimentalmente no podemos diferenciarlas dentro de una biopelícula.

$$R_{rd} = \frac{S_0 - S_1}{t_0 - t_1}$$

De esta forma podemos calcular una tasa de transporte-reacción global y comparar si ésta cambia al inyectar la solución concentrada de sustrato. La figura 8.4 muestra la comparación entre los valores obtenidos para la tasa de transporte-reacción para los tres casos de inyección de pulsos de sustrato.

En los tres casos se observa un aumento en la tasa de reacción durante cada una de las inyecciones consecutivas de sustrato. Esto bien puede deberse a la respuesta bioquímica de los microorganismos. Los microorganismos deben gastar cierta cantidad de ATP para el catabolismo del sustrato y esta cantidad de ATP debe ser regenerada, vía la fosforilación oxidativa, con la reoxidación de  $\text{NADH}_2$  y  $\text{NADPH}_2$  lo que requiere de entre otras cosas de enzimas como la ATPasa mitocondrial, la ATP-ADP translocasa y del transporte de  $\text{H}^+$  de la matriz al espacio intermembranoso de las mitocondrias y todo ello se encuentra acoplado en la cadena respiratoria (Roels, 1983; Stryer, 1995). Es posible que

al iniciar el consumo de sustrato en la primera inyección, los microorganismos no cuentan con la concentración adecuada de todos los elementos para llevar a cabo el consumo de sustrato de la manera más eficiente posible; pero al hacer una segunda y tercera inyección, la maquinaria para llevar a cabo la fosforilación oxidativa ya se encuentra lista y en funcionamiento y las cantidades disponibles de ATP para catabolizar el sustrato también sean mayores, por lo cual la tasa de difusión-reacción es mayor, con cada inyección posterior. Sin embargo, debe llegarse a un punto en donde se alcance un equilibrio y no pueda aumentarse más la tasa de difusión-reacción global.

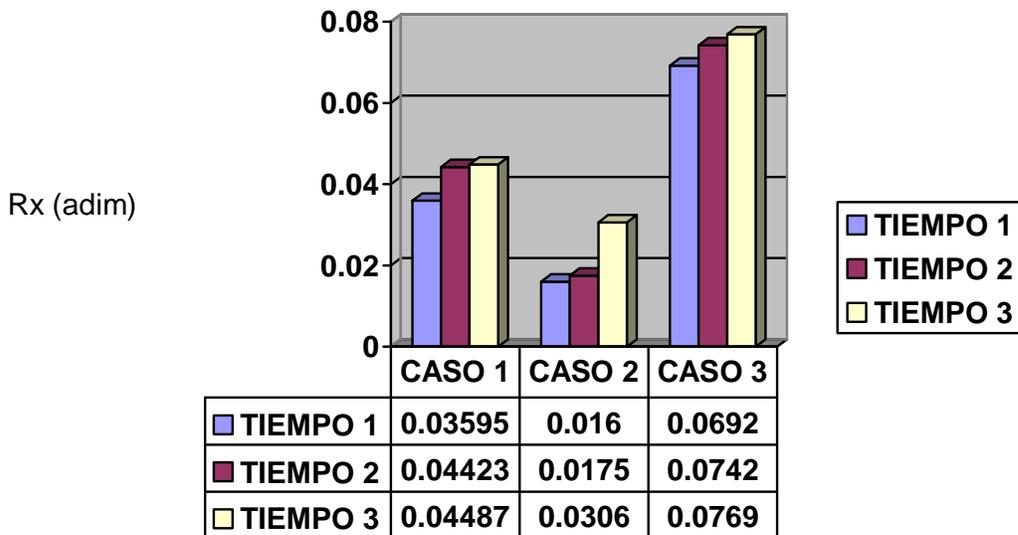


Figura 8.4 Variación de la tasa de transporte-reacción durante los experimentos dinámicos con inyección de pulsos. Valores adimensionales.

Lo anterior permite suponer que el complejo enzimático para el consumo de sustrato se ha acoplado a cierta cantidad de sustrato, por ello el aumento en la tasa de transporte-reacción en todos los casos es mayor. El caso 2 presenta una tasa de transporte-reacción menor al caso 1 aunque la velocidad de recirculación fue igual para estos dos casos, lo que hace suponer que la mayor concentración usada en el caso 2 inhibe su consumo. El caso 3, que se llevó a cabo a una tasa de recirculación de 350 ml/min, pero con cambios muy parecidos en la concentración de sustrato presenta tasas de transporte-reacción mayores y que aumentan en mayor proporción con cada inyección de sustrato que los dos casos anteriores (ver capítulo 7). Lo anterior nos permite concluir que al aumentar la tasa de transporte de sustrato, y especialmente de oxígeno, este último favorece la regeneración de ATP y permite mayores tasas de reacción independientemente de su contribución al transporte de masa interfacial.

## 8.2 La simulación de la operación continua del biorreactor

En esta sección se presenta un análisis teórico sobre la operación de forma continua del biorreactor, de acuerdo con el modelo homogéneo, de manera que la cantidad de sustrato que se consume es igual a la cantidad de sustrato que se alimenta al tanque agitado anexo al biorreactor. Se alimenta oxígeno por la membrana y se burbujea aire en el líquido. Para realizar estas simulaciones se utilizó el coeficiente de transporte de masa interfacial estimado para un flujo de recirculación de 120 ml/min.

La figura 8.5 muestra las concentraciones de oxígeno disuelto y sustrato en el líquido a lo largo de la operación continua, mostrando que el estado estacionario se alcanza antes de las 10 horas, por lo que los cambios iniciales en la concentración de sustrato no se aprecian en esta figura. En esta figura también se muestra el aumento en el espesor de la biopelícula el cual se lleva a cabo muy lentamente.

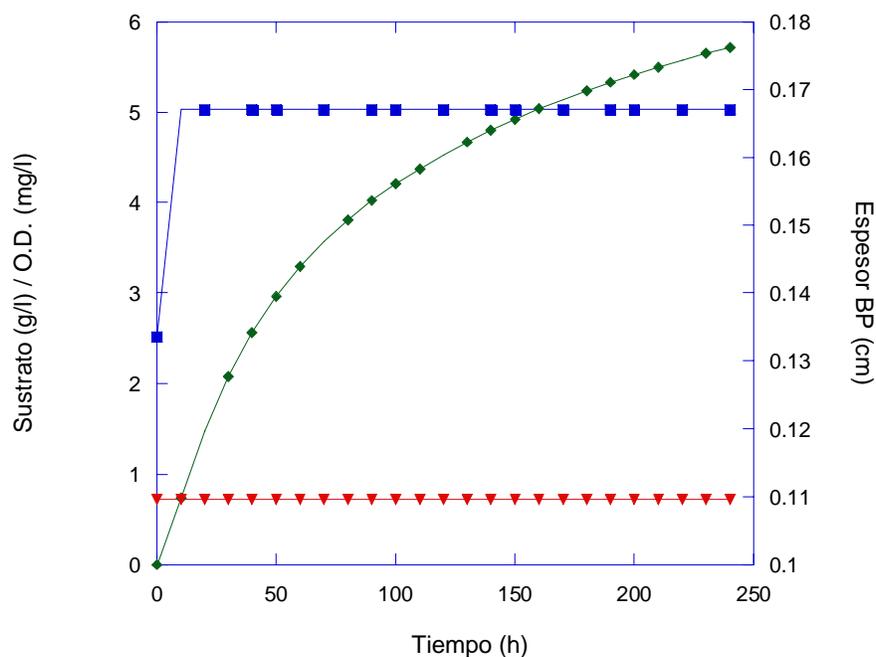


Figura 8.5 Predicción de las concentraciones de sustrato y OD en el líquido y de la evolución del espesor de la biopelícula con respecto al tiempo cuando el sistema opera continuamente, (caso  $O_2$ - aire: ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno, ◆ - Espesor biopelícula).

Las Figuras 8.6, 8.7 y 8.8 muestran los perfiles de concentración de sustrato, oxígeno disuelto y tasa de reacción en el interior de la biopelícula, después de 10, 50 y 100 horas de iniciada la operación, respectivamente, para el caso mostrado en la Figura 8.5. En estas tres figuras se observa que aunque en la fase líquida se mantiene un estado estacionario por medio de la alimentación de sustrato y oxígeno, las condiciones al interior de la biopelícula no son constantes a lo largo del tiempo, por lo que no se puede hablar de un “estado estacionario” en un sistema operando en forma continua en un reactor de membrana con biopelícula. Comparando estas tres figuras se observa que al interior de la biopelícula, la tasa de reacción disminuye con el tiempo y el área dentro de la biopelícula donde ocurre la reacción disminuye también. Esto se aprecia mejor en la figura 8.9 en donde se comparan las tres tasas de reacción correspondientes a 10, 50 y 100 horas. Esta disminución en la tasa de reacción se debe a que, al comenzar la operación, el oxígeno penetra la biopelícula hasta llegar casi a la mitad del espesor de la misma. De hecho se sabe que estos sistemas son continuos para el líquido y dinámicos para biomasa. Al mismo tiempo, el sustrato comienza a difundir en sentido contrario, hasta alcanzar al perfil de oxígeno y ser consumido por las células. Sin embargo, el perfil de concentración de oxígeno al aumentar el tiempo de reacción va retrocediendo hacia la membrana, debido a que la biopelícula ha crecido y el oxígeno se va consumiendo en una región de igual longitud que al inicio. Esto se aprecia en la figura 8.10 en donde se presenta la variación en el perfil de oxígeno dentro de la biopelícula con el tiempo. Esto hace pensar que el oxígeno es el sustrato limitante en este sistema durante todo el tiempo, lo cual se acentúa al crecer la biopelícula a lo largo de la operación continua.

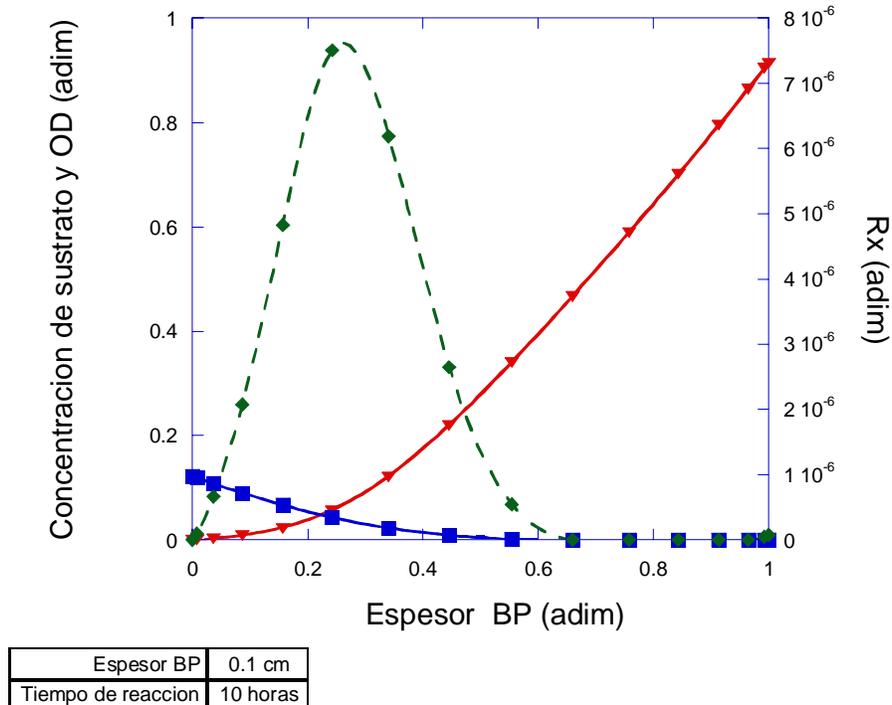


Figura 8.6. Predicción de los perfiles de concentración de sustrato, OD y Rx al interior de la biopelícula, después de 10 horas de iniciada la operación continua: (caso  $O_2$ -aire),  $\blacktriangledown$  - Sustrato,  $\blacksquare$  - Oxígeno,  $\blacklozenge$  - Tasa de reacción.

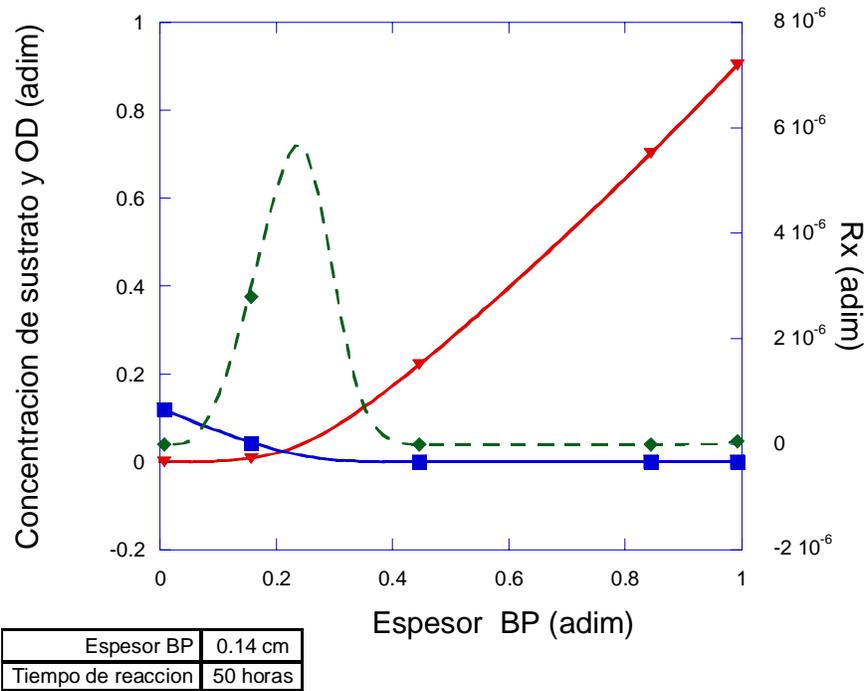


Figura 8.7. Predicción de los perfiles de concentración de sustrato, OD y Rx al interior de la biopelícula, después de 50 horas de iniciada la operación continua, (O<sub>2</sub>-aire). ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno, ◆ - Tasa de reacción.

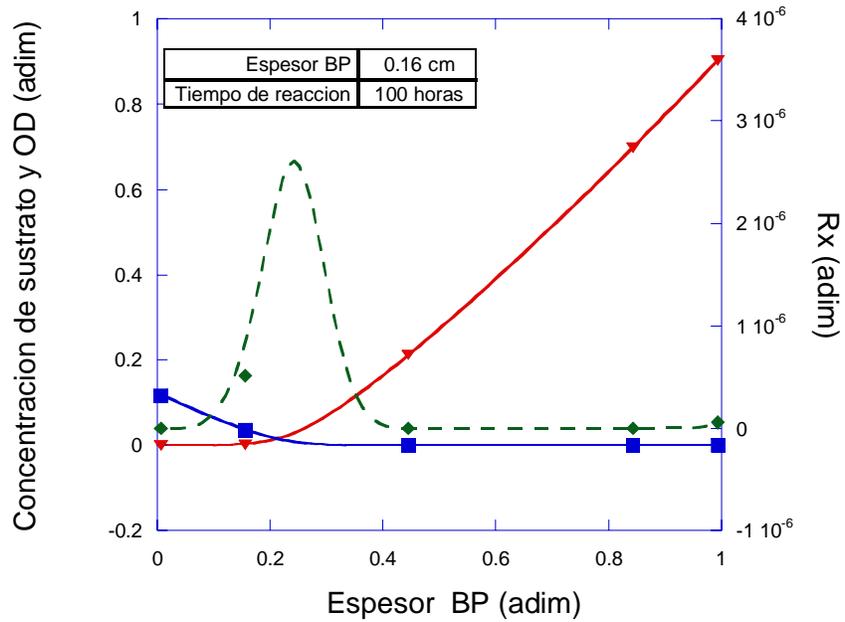


Figura 8.8. Predicción de los perfiles de concentración de sustrato, OD y Rx al interior de la biopelícula, después de 100 horas de iniciada la operación continua: (O<sub>2</sub>-aire), ▼ - Sustrato, ■ - Oxígeno, ◆ - Tasa de reacción.

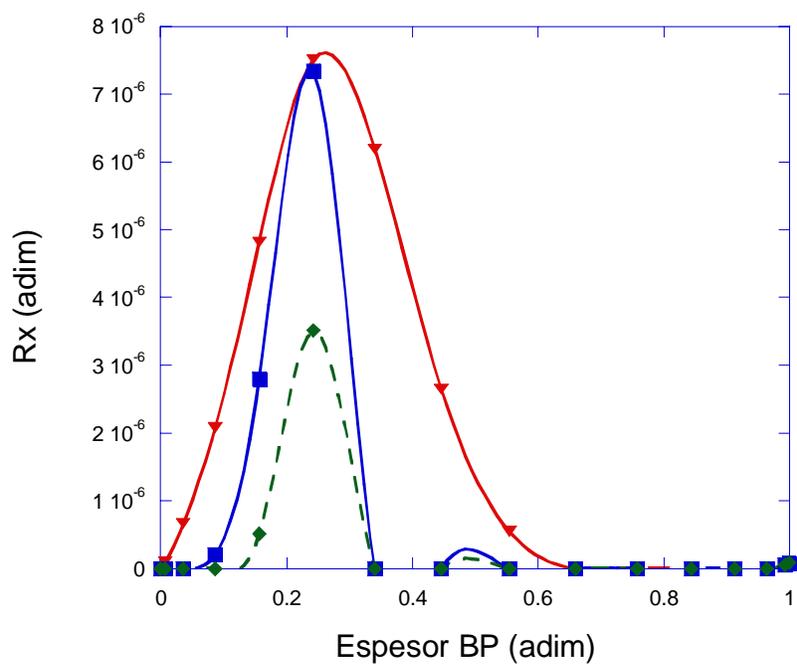


Figura 8.9 Comparación de los perfiles de Rx calculados al interior de la biopelícula a diferentes tiempos de operación continua: ( $O_2$ -aire). ▼ - 10 hrs., ■ - 50 hrs., ◆ - 100 hrs.

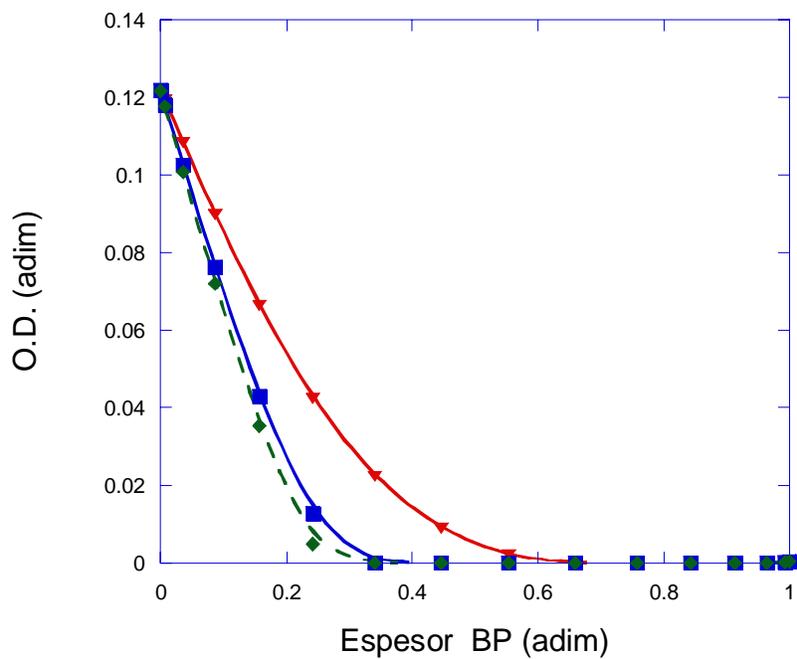
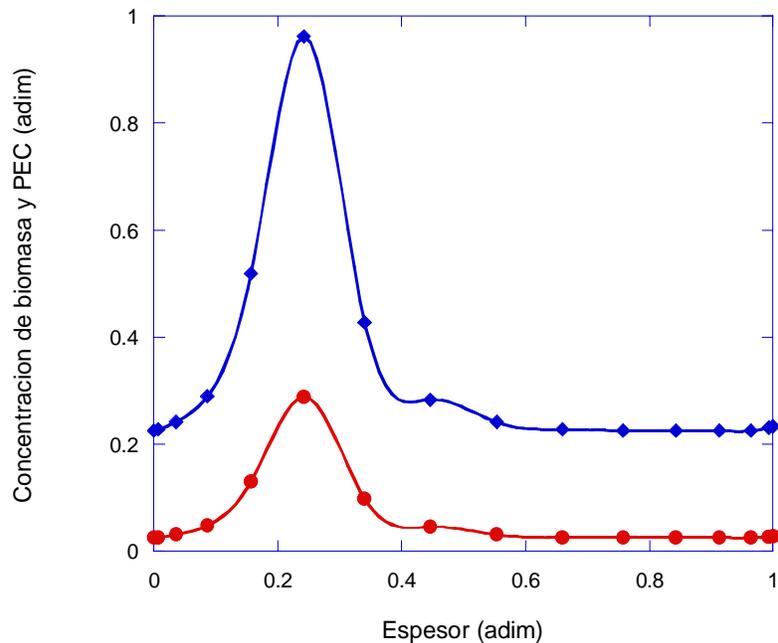


Figura 8.10 Comparación de los perfiles de OD al interior de la biopelícula a diferentes tiempos de reacción. Sistema continuo ( $O_2$ -aire). ▼ - 10 hrs, ■ - 50 hrs, ◆ - 100 hrs.

En la Figura 8.10 se observa que la concentración de oxígeno al interior de la biopelícula aparentemente disminuye con el tiempo, aunque la alimentación de oxígeno y de sustrato sea continua ya que si bien se ha mantenido la longitud (adimensional) de la biopelícula, ésta ha crecido, ocasionando el desplazamiento del perfil de oxígeno hacia la membrana. Esto produce que las zonas de reacción se recorran hacia la membrana y disminuyan con el tiempo. En resumen, es necesario considerar que el espesor de la biopelícula aumenta de forma continua, lo que contribuye a que el perfil de oxígeno proveniente de la membrana “retroceda”, con el tiempo.



Espesor BP	0.3 cm
Tiempo de reacción	100 horas

Figura 8.11 Perfiles de concentración de biomasa y PEC al interior de la biopelícula, después de 100 hrs. de reacción. Sistema continuo ( $O_2$ -aire). ● - Biomasa, ◆ - PEC.

La figura 8.11, muestra los perfiles de concentración de biomasa y PEC después de 100 horas de iniciada la reacción. Como se esperaba, la concentración de PEC dentro de la biopelícula es mucho mayor que la de biomasa.

Uno de los retos más importantes para la utilización de reactores de membrana con biopelícula adherida es obtener un espesor de biopelícula óptimo en el cual la biopelícula contenga la mayor cantidad de biomasa activa posible dentro de un espesor que permita la mayor difusión posible de sustratos. Por ello, se presenta una comparación teórica entre la tasa de reacción de tres biopelículas con diferente espesor, y se realizaron simulaciones utilizando el modelo homogéneo con tres diferentes espesores de biopelícula: 0.1, 0.3 y 0.5 cm.

Si consideramos a la concentración de biomasa como una medida de la magnitud de la tasa de reacción dentro de una biopelícula, podemos comparar la concentración de ésta, contenida en diferentes espesores de biopelícula. La figura 8.12 muestra los perfiles de concentración de biomasa para tres diferentes espesores de biopelícula: 0.1, 0.3 y 0.5 cm. De acuerdo con esta simulación una biopelícula de 0.3 cm es capaz de consumir más sustrato que las otras dos, ya que es la biopelícula que presenta una mayor concentración de biomasa y una mayor área activa por longitud de biopelícula. Esto se debe a que en la biopelícula con este espesor se presenta un mejor equilibrio entre el sustrato que puede consumirse y el que puede transportarse por difusión a través de ésta. La biopelícula con espesor de 0.1 cm teóricamente consume menos sustrato debido a que tiene una menor cantidad de células que puedan utilizarlo, en cambio la biopelícula con un espesor de 0.5 cm presenta dificultades en cuanto al transporte de masa hacia su interior y aunque tiene mayor número de células, ésta no es más eficiente que la biopelícula con un espesor de 0.3 cm.

En el capítulo 3.6 se analizó el consumo experimental de sustrato a diferentes espesores de biopelícula, comparando biopelículas de 0.05 y 0.2 cm de espesor, en los cuales se observó un mayor consumo de sustrato en la biopelícula más gruesa. De acuerdo con las simulaciones realizadas una biopelícula de 0.2 cm es más eficiente que una más delgada, por lo que la simulación corrobora los resultados experimentales presentados en la sección 4.6.

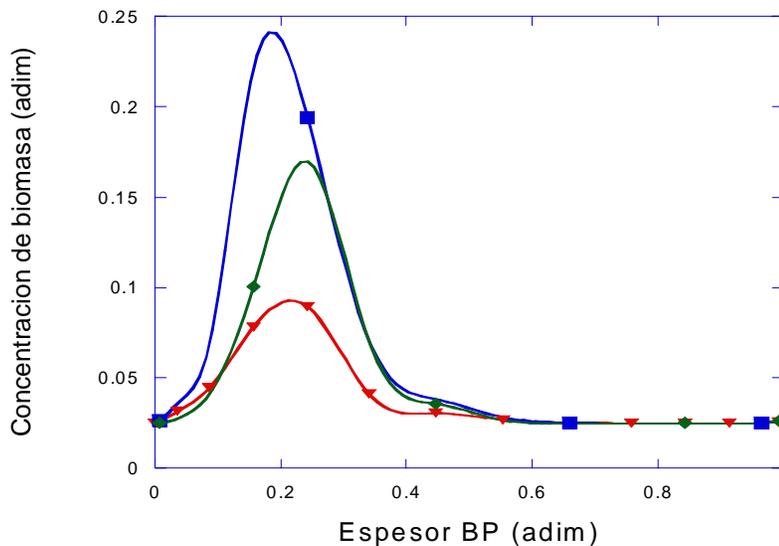


Figura 8.12 Comparación de los perfiles de concentración de biomasa al interior de la biopelícula para tres diferentes espesor de biopelícula. Sistema continuo ( $O_2$ -aire). ▼ - 0.1 cm, ■ - 0.3 cm, ◆ - 0.5 cm.

### 8.3 Discusión de resultados y conclusiones.

En este capítulo se analizaron los experimentos dinámicos realizados experimentalmente y se simuló la operación continua del biorreactor.

- De acuerdo con los experimentos dinámicos se puede concluir que al realizar la inyección de una secuencia de pulsos de una solución concentrada de sustrato, aumenta la tasa de reacción dentro de la biopelícula, ya que esto se observó en los tres casos analizados. Desde el punto de vista del metabolismo de estos microorganismos, esto se debe a que a cada inyección consecutiva la maquinaria enzimática de las células se encuentra mejor adaptada para consumir determinada concentración de sustrato, lo cual se confirma al observar en los resultados experimentales, cómo la tasa de transporte-reacción aumenta en mayor escala cuando los pulsos llegan a la misma concentración inicial y no a una mayor. También se confirma que la tasa de reacción aumenta al aumentar el flujo de recirculación, y una posible explicación esta asociada con un mayor transporte de oxígeno y una mayor regeneración de ATP.
- De la simulación de un sistema operando continuamente se puede deducir que aunque en el líquido se observe un estado estacionario, dentro de la biopelícula no es fácil alcanzarlo por diversos factores, como el crecimiento de biomasa y el aumento en el espesor de la biopelícula. Estos factores a su vez afectan la magnitud de los perfiles de concentración y de reacción dentro de la biopelícula.
- También se puede esperar que en un sistema como el utilizado en este estudio, un espesor de biopelícula eficiente sea cercano a 0.3 cm, ya que como se observa en la Figura 8.12 una biopelícula con este espesor, presenta el mejor balance entre las tasas de consumo de sustratos y sus transportes difusivos, que conjuntamente producen una tasa de producción de biomasa mayor a los encontrados para espesores mayores y menores.



# **Capítulo 9**

## **Conclusiones generales**

Las biopelículas son la mejor manera de utilizar a los microorganismos para optimizar su desempeño bajo ciertas condiciones, en operaciones como el tratamiento aerobio de aguas residuales. El entendimiento de la estructura y del comportamiento de las biopelículas mediante el uso de modelos, convierte a éstos en una herramienta para desarrollar alternativas tanto para optimizar procesos existentes como para desarrollar nuevos procesos.

La hidrodinámica, el transporte de masa y la cinética del sistema llamado biopelícula, se encuentran íntimamente relacionadas por el hecho de que la mayoría de estas reacciones se encuentran limitadas por difusión (Lewandowski et al., 1994). Consecuentemente, los perfiles de concentración al interior de aquella, están determinados por la difusión molecular y la convección. Por tanto, la aplicación de estudios fundamentales sobre la estructura de las biopelícula en el desarrollo de modelos matemáticos ayuda a obtener resultados, cualitativamente mejores, sobre la magnitud de los diversos procesos que ocurren al interior de una biopelícula. Un modelo que considera a la biopelícula como un sistema homogéneo requiere de un menor número de parámetros a estimar, y aunque predice adecuadamente las concentraciones en el líquido, no proporciona una explicación del motivo por el cual la mayoría de los microorganismos en una biopelícula subsisten, ya que sus predicciones muestran que existen zonas que no reciben nutrientes. Sin embargo, aunque un modelo heterogéneo requiere de un mayor número de parámetros de transporte, cuyo valor es normalmente desconocido, éste describe mejor lo que los estudios sobre estructura de biopelícula han demostrado experimentalmente; este modelo predice que el total de la biopelícula recibe nutrientes a través de los poros y canales dentro de ésta y que éstos están llenos de líquido.

Los resultados experimentales muestran que una biopelícula es más eficiente si los nutrientes se proporcionan a contracorriente por ambos lados de la biopelícula, que si éstos difunden en la misma dirección. Esto se aplica principalmente al caso del oxígeno ya que en todos los casos es éste el sustrato limitante.

Un problema difícil de resolver, encontrado en la construcción del biorreactor de membrana fue que la membrana utilizada no es muy resistente por lo cual no resulta fácil utilizarla en reactores de mayor tamaño. Ésta es la razón por la cual se estudiaron primeramente membranas cerámicas, ya que éstas son más resistentes y pudieran utilizarse con más facilidad en reactores de mayor escala.

Otro de los resultados experimentales importantes obtenidos durante este estudio es el hecho de que el consumo de sustrato aumenta al incrementar la tasa de recirculación entre el biorreactor y el tanque agitado. Esto se debe al aumento en el coeficiente de transferencia de masa interfacial líquido-biopelícula.

De acuerdo con los experimentos dinámicos llevados a cabo en este trabajo, se observó un ligero aumento en la tasa de reacción al realizar inyecciones de sustrato concentradas a ciertos intervalos en el reactor. Se ha sugerido en este trabajo que dicho cambio en la tasa de reacción se debe que el complejo enzimático en las células dentro de la biopelícula se va adaptando a las condiciones de operación, lo cual favorece el consumo de sustrato a determinada concentración en el líquido. Sin embargo también pueden presentarse mecanismos de inducción enzimática, lo cual puede ser motivo de un estudio más detallado. Lo anterior también sugiere que una estrategia para la eliminación de contaminantes en aguas residuales consiste en la operación por pulsos con soluciones concentradas de aquellos.

Operar un biorreactor como el utilizado en este trabajo en forma continua resulta muy complejo debido a que el espesor de la biopelícula cambia constantemente, al igual que la zona de reacción, por lo que lograr un verdadero estado estacionario en cuanto a biomasa en el reactor no es sencillo. Además, otro problema que se presentó con frecuencia es el taponamiento de las tuberías con biomasa, después de algunas semanas de operación, por lo que es necesario tomar en consideración la limpieza de tuberías periódicamente. También debe desarrollarse un método eficiente para controlar el espesor de la biopelícula, de tal manera que se conserve en un espesor óptimo que permita un buen equilibrio entre el transporte de masa y la reacción; para lograr este propósito se ha propuesto adicionar cloruro de sodio en el líquido que aumenta la cantidad de energía utilizada por las células para mantenimiento y por lo tanto disminuye la cantidad de energía disponible para producir biomasa.

Para futuras investigaciones resultaría de interés realizar experimentos en un reactor más grande con el objeto de tratar de controlar el espesor de la biopelícula y el taponamiento de las tuberías, el cual fue controlado en los experimentos manualmente. También resultaría interesante desarrollar un

modelo que, además de tomar en cuenta el movimiento de líquido al interior de la biopelícula, calculara la tasa de reacción conforme a las rutas metabólicas más comunes en la mayoría de las bacterias que se encuentran en los lodos activados, en lugar de usar la ecuación de Monod con doble sustrato limitante. Otra mejora que se considera realizar al modelo heterogéneo consiste en determinar los perfiles de velocidad en el líquido externo y en el interior de la biopelícula, y estudiar cómo afectan los perfiles de concentración.



# Nomenclatura

	Significado
$a_v$	Área específica por unidad de volumen de biopelícula homogénea.
$a_{vbub}$	Área específica por unidad de volumen de burbujas.
$a_{vext}$	Área específica por unidad de volumen de biopelícula parte sólida de biopelícula.
$a_{vint}$	Área específica por unidad de volumen de la fase líquida de la biopelícula.
$Bim_O$	$Bim_O = \frac{l_{bp0} k_{l_{ext}}}{D_{effO}}$
$Bim_{O1}$	$Bim_{O1} = \frac{k_{l_{ext}} l_{bp0}}{D_{effO1}}$
$Bim_S$	$Bim_S = \frac{l_{bp} k_l}{D_{effS}}$
$Bim_{S1}$	$Bim_{S1} = \frac{k_{l_{ext}} l_{bp0}}{D_{effS1}}$

<b>Biot<sub>e</sub></b>	$Biot_e = \theta k_{l_{ext}} a_{v_{ext}}$
<b>Biot<sub>S</sub></b>	$Biot_S = \frac{l_{bp}^2 k_{l_{int}} a_{v_{int}}}{D_{effs}}$
<b>C<sub>Oeq</sub>*</b>	Concentración de oxígeno en equilibrio.
<b>C<sub>O</sub></b>	Concentración de oxígeno en la fase sólida de la biopelícula.
<b>C<sub>Ogas</sub></b>	Concentración de oxígeno en el gas dentro de la membrana.
<b>C<sub>oL</sub></b>	Concentración de oxígeno en el líquido en el biorreactor.
<b>C<sub>oi</sub></b>	Concentración de oxígeno en la fase líquida de la biopelícula.
<b>C<sub>oLT</sub></b>	Concentración de oxígeno en el tanque agitado.
<b>C<sub>om</sub></b>	Concentración de oxígeno en la membrana.
<b>C<sub>s</sub></b>	Concentración de sustrato en la fase sólida de la biopelícula.
<b>C<sub>sL</sub></b>	Concentración de sustrato en el líquido en el biorreactor.
<b>C<sub>si</sub></b>	Concentración de sustrato en la fase líquida de la biopelícula.
<b>C<sub>sLT</sub></b>	Concentración e sustrato en el tanque agitado.
<b>D<sub>effmO</sub></b>	Coefficiente de difusión efectivo de O <sub>2</sub> en la membrana.
<b>D<sub>effO</sub></b>	Coefficiente de difusión efectivo de O <sub>2</sub> en la fase sólida de la biopelícula.
<b>D<sub>effOI</sub></b>	Coefficiente de difusión efectivo de O <sub>2</sub> en la fase líquida de la biopelícula.
<b>D<sub>effS</sub></b>	Coefficiente de difusión efectivo de sustrato en la fase sólida de la biopelícula.
<b>D<sub>effSI</sub></b>	Coefficiente de difusión efectivo de sustrato en la fase líquida de la biopelícula.
<b>F</b>	Flujo de recirculación entre el biorreactor y el tanque agitado.

<b>k<sub>g</sub></b>	Coeficiente de transferencia de masa en la interfase gas-membrana.
<b>k<sub>lbub</sub></b>	Coeficiente de transferencia de masa en la interfase líquido-burbuja.
<b>k<sub>l<sub>ext</sub></sub></b>	Coeficiente externo de transferencia de masa en la interfase líquido-biopelícula.
<b>k<sub>l<sub>int</sub></sub></b>	Coeficiente interno de transferencia de masa interfacial en la interfase líquido sólido dentro de la biopelícula.
<b>K<sub>O</sub></b>	Constante cinética de saturación de Monod para Oxígeno.
<b>K<sub>O</sub><sup>*</sup></b>	$K_O^* = \frac{K_O}{C_{Oeq}^*}$
<b>K<sub>S</sub></b>	Constante cinética de saturación de Monod para sustrato.
<b>K<sub>S</sub><sup>*</sup></b>	$K_S^* = \frac{K_S}{C_{S0}}$
<b>l<sub>bf(t)</sub></b>	Espesor de biopelícula, > 0 a cualquier tiempo.
<b>l<sub>bf0</sub></b>	Espesor de biopelícula @ t=0.
<b>l<sub>m</sub></b>	Espesor de la pared de membrana.
<b>m<sub>O</sub></b>	Constante de mantenimiento de oxígeno.
<b>m<sub>S</sub></b>	Constante de mantenimiento de sustrato.
<b>R<sub>bf</sub></b>	Tasa de reacción total en la biopelícula.
<b>R<sub>pec</sub></b>	Tasa de reacción de polímeros extracelulares.
<b>R<sub>x</sub></b>	Tasa de reacción de biomasa.
<b>t</b>	Tiempo.
<b>V<sub>R</sub></b>	Volumen de biorreactor.
<b>V<sub>T</sub></b>	Volumen de tanque agitado.

<b>x</b>	Concentración de biomasa en biopelícula.
<b>y</b>	Coordenada axial en la biopelícula.
<b>Y<sub>pec/O</sub></b>	Coefficiente de rendimiento de oxígeno a PEC.
<b>Y<sub>pec/s</sub></b>	Coefficiente de rendimiento de sustrato a PEC.
<b>Y<sub>pec/x</sub></b>	Coefficiente de rendimiento de biomasa a PEC.
<b>Y<sub>x/O2</sub></b>	Coefficiente de rendimiento de oxígeno a biomasa.
<b>Y<sub>x/s</sub></b>	Coefficiente de rendimiento de sustrato a biomasa.
<b>z</b>	Coordenada axial en membrana.

*Abreviaturas:*

*BP:* biopelícula

*DO:* oxígeno disuelto

*PEC:* polímeros extracelulares.

*O:* oxígeno

*S:* sustrato

*Letras griegas:*

<b><math>\alpha_o</math></b>	$\alpha_O = \frac{x_0}{C_{Oeq}^* y_{x/O}}$
<b><math>\alpha_s</math></b>	$\alpha_S = \frac{x_0}{C_{S0} y_{x/S}}$
<b><math>\beta</math></b>	$\beta = \theta k_{gb} a_{vb}$

$\beta_r$	$\beta_r = \theta k_l a_v$
$\beta_t$	$\beta_t = \theta k_{lbub} a_{vbub}$
$\delta$	$\delta = \frac{l_{bp}}{l_m}$
$\delta^2$	$\delta^2 = \frac{l_{bp}^2}{l_m^2}$
$\epsilon_p$	Fracción sólida de la biopelícula
$\mathfrak{S}_m$	$\mathfrak{S}_m = \frac{D_{effO}}{D_{effOm}}$
$\mathfrak{S}_{Ol}$	$\mathfrak{S}_{Ol} = \frac{D_{effOl}}{D_{effOm}}$
$\mathfrak{S}_{Ol_m}$	$\mathfrak{S}_{Ol_m} = \frac{D_{effOl}}{D_{effS}}$
$\mathfrak{S}_S$	$\mathfrak{S}_S = \frac{D_{effOm}}{D_{effS}}$
$\mu_{max}$	Tasa máxima de crecimiento.
$\rho_{bf}$	Densidad de biopelícula (g/ml)
$\tau_r$	$\tau_r = \frac{V_R}{F}$
$\tau_{red1}$	$\tau_{red1} = \frac{V_R}{F}$
$\tau_T$	$\tau_T = \frac{V_T}{F}$
$\phi^2$	$\phi^2 = \mu_{max} \theta$



## Referencias

1. Abrahamson, M., Lewandowski, Z., Geesey, G., Skjak-Braek, G., Strand, W., Christensen, B.E., 1996. *Journal of Microbiological Methods* 26, 161-169.
2. Allison, D. G., Evans, D. J., Brown, M.R.W., 1990. Possible involvement of the division cycle in dispersal of *Escherichia Coli* biofilms. *Journal of Bacterial*, 172, 1667-1669.
3. Arvin, E, Harremoes, P., 1990. Concepts and models for biofilm reactor performance. *Water Science & Technology*, 22, 171-192.
4. Beyenal H, Lewandowski Z., 2002. Internal and external mass transfer in biofilms grown at various flow velocities. *Biotechnology Progress*, 18, 55-61.
5. Beyenal H, Lewandowski Z., 2005. Modeling mass transport and microbial activity in stratified biofilms. *Chemical Engineering Science*, 60, 4337-4348.
6. Bailey, James, Ollis David., 1994. *Biochemical Engineering Fundamentals*. McGraw Hill International Editions.
7. Bakke, R., 1986. *Biofilm detachment*. Tesis doctoral. Montana State University. Bozeman, MT.
8. Bird, R.B., Stewart, W.E., Lightfoot, E. N., 2002. *Transport Phenomena*. 2a. Edition, John Willey & Sons. New York.
9. Bivar Xavier, J. de, Picioreanu, C., Loosdrecht M. C.M., 2005. A general description of detachment for multidimensional modeling of biofilms. *Biotechnology & Bioengineering*, 91, 651-669.
10. Brindle, K., Stephenson, T. (1996). Nitrification in a bubbleless oxygen mass transfer bioreactor. *Water Science Technology*. Vol. 34: 261-267.
11. Casey, E., Glennon, B., Hamer, G., 1999. Oxygen Mass Transfer Characteristics in a membrane-Aerated Biofilm Reactor. *Biotechnology & Bioengineering*. 62, 183-192.
12. Casey, E., Glennon, B., Hamer, G., 2000. Biofilm development in a membrane-aerated biofilm reactor: effect of low velocity on performance. *Biotechnology & Bioengineering*, 67, 476-486.
13. Cheng, G., McCoy, B.J., Show, K.M., 1992. Criteria to assess when biodegradation is kinetically limited by intraparticle diffusion and sorption. *Biotechnology & Bioengineering*, 41, 625-632.
14. Christensen, B.E., Characklis, W. G., 1990. Physical and Chemical Properties of Biofilms. In Characklis and Marshall. *Biofilms*. Willey & Sons. New York.

15. Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D. R., Lappin-Scott, H.M., 1995. Microbial Biofilms. *Annual Review Microbiology*, 49, 711-745.
16. Crank, J., 1984. *Free and moving boundary problems*. Oxford. Clarendon Press.
17. Cunningham, A. B. 1989. Hydrodynamics and solute transport in the fluid-biofilm interface. In *Structure and Functions of Biofilms*. John Willey & Sons. Pp. 19-31.
18. Cussler, E. L., 1989. *Diffusion: mass transfer in fluid systems*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
19. De Beer D., Stoodley, P., Roe, F., Lewandowski, Z., 1984. Effects of Biofilm Structures on Oxygen Distribution and Mass Transport. *Biotechnology & Bioengineering* 43, 1131-1138.
20. De Beer, D., Stoodley, P., Lewandowski, Z., 1994. Liquid Flow in heterogeneous biofilms. *Biotechnology & Bioengineering*. 44, 636-641.
21. De Beer, D., Schramm, A., 1999. Micro-environments and mass transfer phenomena in biofilms studied with microsensors. *Water Science & Technology*, 39, 173-178.
22. De Beer, D. and Kühn, Michael, 2001. Interfacial microbial mats and biofilms, 374-394. In B.P. Boudreau & B.B. Jorgensen (eds.) *The Benthic Boundary Layer*, Oxford University Press, New York.
23. Debus O., Wanner O., 1992. Degradation of xylene by a biofilm growing on a gas permeable membrane. *Water Science Technology*, 26, 607-616.
24. Draper, N.R., Smith, H., 1966. *Applied regression analysis*. Wiley, New York.
25. Eberl, H.J., Picioreanu, C., Heijnen J., Loosdrecht M., 2000. A three-dimensional numerical study on the correlation of spatial structure, hydrodynamic conditions, and mass transfer and conversion in biofilms. *Chemical Engineering Science*, 55, 6202-6222.
26. Ferreira Jorge, R.M., Livingston, A.G., 2000. Microbial dynamics in an extractive membrane bioreactor exposed to an alternating sequence of organic compounds. *Biotechnology & Bioengineering*, 70, 313-322.
27. Finlayson, B. A., 1981. *Nonlinear analysis in Chemical Engineering*. Mc Graw Hill. U.S.A.
28. Freitas dos Santos L. M., Livingston, A.G., 1994. Extraction and biodegradation of a toxic volatile organic compound, 1,2-dichloroethane from waste-water in a membrane bioreactor. *Applied Microbiological Biotechnology*, 42, 421-431.
29. Freitas dos Santos, L. M., Livingston A.G., 1995 a. Membrane Attached Biofilms for VOC wastewater treatment I: Novel in situ measurement technique. *Biotechnology & Bioengineering*, 47, 82-89.
30. Freitas dos Santos, L. M., Livingston, A.G., 1995 b. Membrane Attached Biofilms for VOC wastewater treatment II: Effect of Biofilm Thickness on Performance. *Biotechnology & Bioengineering*, 47, 90-95.
31. Freitas dos Santos, L. M., Pavasant, P., Strachan, L. F., Pistikopoulos, E. N., Livingston, A. G., 1997. Membrane attached biofilms for waste treatment – fundamentals and applications. *Pure and Applied Chem.*, 69, 2459-2469.
32. Greenberg, E.P., 1997. Quorum sensing in gram-negative bacteria. *ASM News*, 63, 371-377.
33. González-Brambila, M., Monroy, O., López-Isunza, F., 2006. Experimental and theoretical study of membrane-aerated biofilm reactor behavior under different modes of oxygen supply for the treatment of synthetic wastewater. *Chemical Engineering Science*, 61, 5268-5281.
34. Horn H., 1994. Dynamics of nitrifying bacteria population in a biofilm controlled by an oxygen microelectrode. *Water Science & Technology*, 29, 69-76.

35. Jiménez-Islas, H.; López-Isunza, F., 1996. Par-Col2: Programa para resolver EDP parabólicas bidimensionales no lineales, por doble colocación ortogonal. *Avances en Ingeniería Química*, 6, 168-173.
36. Jiménez-Islas, H., 1999. *Modelamiento matemático de los procesos de transferencia de momentum, calor y masa en medios porosos*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
37. Karel, S.F. and Robertson, C.R., 1987. Reaction rate calculations for cosubstrates diffusing into catalyst layer from opposite sides. *Biotechnology & Bioengineering*, 30, 427-438.
38. Klapper, I., Rupp, C. J., Cargo, R., Purvedorj, B., Stoodley, P., 2002. Viscoelastic fluid description of bacterial biofilm material properties. *Biotechnology & Bioengineering*, 80, 289-296.
39. Lawrence, J.R., Korkber, D.R., Hoyle, B.D., Costerton, J.W., 1991. Optical sectioning of microbial biofilms. *Journal Bacteriology*, 173, 6558-6567.
40. Lewandowski, Z., Characklis, W.S., 1991. Reaction Kinetics in Biofilms. *Biotechnology & Bioengineering*, 38, 877-882.
41. Lewandowski, Z., Stoodley, P., Altobelli, S., Fukushima, E., 1994. Hydrodynamics and Kinetics in biofilm systems – recent advances and new problems. *Water Science and Technology*, 29, 223-229.
42. Lewandowski, Z.; Stoodley, P., Altobelli, S., 1995. Experimental and conceptual studies on mass transport in biofilms. *Water Science and Technology*, 31, 153-162.
43. Lewandowski, Z., 1998. Structure and function of bacterial biofilms. *Corrosion* 98. NACE International.
44. Livingston, A. G., Arcangelli, A., Boam S., Zhang, S. F., Marangon D., Freitas dos Santos, L.M., 1998. Extractive membrane bioreactors for detoxification of chemical industry wastes: process development. *Journal of Membrane Science*, 151, 29-44.
45. Loosdrecht, M.C.M. van, Heijnen, J.J., Eberl, H., Kreft, J., Picioreanu, C., 2002. Mathematical modelling of biofilm structures. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 245-256.
46. López-Isunza F., Larralde Corona .C. P., Viniegra González, G., 1997. Mass transfer and growth kinetics in filamentous fungi. *Chemical Engineering Science*. Vol. 52:2629-2639.
47. Massol-Deyá, A. A., Whallon, J., Hickey, R. F., Tiedje, J.M., 1995. Channel structures in aerobic biofilms of fixed-film reactors treating contaminated groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*. Feb, 1995, 769-777.
48. Matson, J.V., Characklis, W. G., 1976. Diffusion into microbial aggregates. *Water Research*, 10, 877-885.
49. Metcalf and Eddy, Inc., 1991. *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse*, 3a, Edition, Mc Graw Hill, New York.
50. Meeter, D. A., 1965. *Non-linear Least Squares GAUSHAUS*, Computer code from University of Wisconsin Computing Center.
51. Moreira dos Santos, M., Gombert, A. K., Christensen, B., Olsson, L., Nielsen, J., 2003. Identification on in vivo enzyme activities in the cometabolism of glucose and acetate by *Saccharomyces cerevisiae* by using 13-C labeled substrates. *Eukaryotic Cell*, 2, 599-608.
52. Nicoletta, C., Pavasant, P., Livingston, A. G., 2000. Substrate counter diffusion and reaction in membrane attached biofilms: mathematical analysis of rate limiting mechanisms. *Chemical Engineering Science*, 55, 1385-1398.
53. Nott, K. P., Heese, F.P., Hall, L.D., 2005. Measurement of flow field in biofilm reactors by 3-D magnetic resonance imaging. *AIChE Journal*, 51, 3072-3079.

54. Pavasant, P., Freitas dos Santos, L. M., Pistikopoulos, E. N., Livingston, A. G., ,1996. Prediction of optimal biofilm thickness of membrane-attached biofilms growing in an extractive membrane bioreactor. *Biotechnology & Bioengineering*, 52, 373-386.
55. Pavasant, P., Pistikopoulos, E. N., Livingston, A. G., 1997. Prediction of axial concentration profiles in an extractive membrane bioreactor and experimental verification. *Journal of Membrane Science*, 130, 85-98.
56. Perry, R. H. y Green, D. W., 1997. *Perry's chemical engineers' handbook*. 7a. ed. Mc Graw Hill.
57. Picioreanu, C., Loosdrecht, M., Heijnen, J., 1998. Mathematical modeling of biofilm structure with a hybrid differential-discrete cellular automaton approach. *Biotechnology & Bioengineering*, 58, 101-116.
58. Picioreanu, C., Loosdrecht, M., Heijnen, J., 2000. Effect of diffusive and convective substrate transport on biofilm structure formation: a two-dimensional modeling study. *Biotechnology & Bioengineering*, 69, 504-515.
59. Picioreanu, C., Loosdrecht, M., Heijnen, J., 2001. Two dimensional model of biofilm detachment caused by internal stress from liquid flow. *Biotechnology & Bioengineering*, 72, 205-218.
60. Powell, M. S., Slater, N. K., 1983. The deposition of bacterial cells from laminar flows onto solid surfaces. *Biotechnology & Bioengineering*, 25, 891-900.
61. Rittman, B. E., 1989. Detachment from Biofilms. In *Structure and Functions of Biofilms*. John Willey & Sons. Pp. 49-58.
62. Roels, J. A., 1983. *Energetics and kinetics in biotechnology*. Elsevier biomedical Press, Netherlands.
63. Schlichting, H., 1979. *Boundary-Layer Theory*. McGraw Hill, 7a. ed.
64. Schulze, U., 1998. *Anaerobic metabolism of Saccharomyces cerevisiae*. Tesis Doctoral. DTU.
65. Semmens, M. J., Dahm, K., Shanahan, J., Christianson, A., 2003. COD a nitrogen removal by biofilms growing on gas permeable membranes. *Water Research*, 37, 4343-4350.
66. Stewart, P. S., Drury, W. J., and Murga, R., 1993. Quantitative observations of heterogeneities in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Applied Environment Microbiology*, 59, 327-329.
67. Stewart, P.S., Murga, R., Srinivasan, R., De Beer, D., .1995. Biofilm structural heterogeneity visualized by three microscopic methods. *Water Research*. 29, 2006-2009.
68. Stewart, P. S., 1998. A review of experimental measurements of effective diffusive permeability and effective diffusion coefficients in biofilms. *Biotechnology & Bioengineering*, 50, 261-272.
69. Stoodley, P., de Beer, D., Lewandowski, Z., 1994. Liquid flow in biofilm systems. *App. Environment Microbiology*, 60, 2711-2716.
70. Stoodley, P., Yang, S., Lappin-Scott, H., Lewandowski, Z., 1997. Relationship between mass transfer coefficient and liquid flow velocity in heterogeneous biofilms using microelectrodes and confocal microscopy. *Biotechnology & Bioengineering*, 56, 681-688.
71. Stryer, L., 1995. *Bioquímica*. Ed. Reverté, 4a. ed. Barcelona.
72. Tjihuis, L., Hijman, B., van Lousdrecht, M.C.M., and Heijnen, J. J., 1996. Influence of detachment, substrate loading and reactor scale on the formation of biofilms in airlift reactors. *Applied Microbiology Biotechnology* 45, 7-17.
73. Villadsen, J., Michelsen, M. L., 1978. *Solution of Differential Equation Models by Polynomial Approximation*. Prentice-Hall, New Jersey.

74. Wanner, O., 1989. Modeling Population Dynamics. In *Structure and Function of Biofilms*. John Willey & Sons. Pp. 91-110.
75. Welty, Willson & Wicke. 1969. *Fundamentals of momentum, heat and mass transfer*. John Willey. New York.
76. Widerer, P. A., Characklis, W.F., 1989. *Structure and Function of Biofilms*. John Willey & Sons.
77. Wobus, A., Ulrich, S., Roske, I., 1995. Degradation of chlorophenols by biofilms on semi-permeable membranes in two types of fixed bed reactors. *Water Science Technology*, 32, 205-212.
78. Woolard, C. R. and Irvine, R. L., 1994. Biological Treatment of hyper saline wastewater by a biofilm of hemophilic bacteria. *Water Environment Research*, 66, 230-235.
79. Zhang, S. F., Splendiani, A., Freitas dos Santos, L.M., Livingston, A.G., 1998. Determination of pollutant diffusion coefficients in naturally formed biofilms using a single tube extractive membrane bioreactor. *Biotechnology & Bioengineering*, 59, 80-89.



## Apéndice 1.

### Resultados experimentales

#### 1. Resultados experimentales de difusión a través de diferentes membranas.

Tabla 1. Resultados experimentales de difusión de aire a través de la membrana de silicón en ausencia de reacción.

#### Oxígeno Disuelto en mg/l

TIEMPO (min)	FLUJO 0.35 (ml/min)	FLUJO 0.6 (ml/min)	FLUJO 1.0 (ml/min)	FLUJO 2.0 (ml/min)
0.0	0.0	1.10	0.81	0.00
2.0				0.9467
3.0	0.0	1.41	0.93	
4.0				1.08
6.0	0.77	1.54	1.43	1.21
8.0				1.46
9.0	0.78		1.79	
10.0				1.61
12.0	0.84	1.86	1.79	1.74
14.0				1.97
15.0	0.91	1.93	1.89	
16.0				2.08
18.0	0.97	2.05	2.13	2.20
20.0				2.25
21.0	1.04	2.16	2.17	
24.0	1.091	2.24	2.24	2.55
26.0				2.65
27.0	1.13	2.22	2.32	
28.0				2.83
30.0	1.26	2.38		2.94
32.0				3.16
33.0	1.31	2.45	2.78	
34.0				3.19
36.0	1.37	2.54	2.78	3.30
39.0	1.39	2.58	3.12	
40.0				3.60
42.0	1.45	2.70	3.12	3.72
45.0	1.48		3.16	
46.0		2.89		3.87
48.0	1.56		3.1	3.92
50.0				3.98
51.0	1.59	2.84	3.06	
52.0				4.07
54.0	1.57		3.07	4.12

56.0				4.15
58.0				4.22
60.0	1.58			4.26
62.0				4.33
63.0	1.61			
66.0	1.70			4.40
68.0				4.53
69.0	1.68			
72.0	1.67			4.56
75.0				4.63

Tabla 2. Resultados experimentales de difusión de aire a través de membrana de fibra hueca (hollow fiber).

Oxígeno Disuelto en mg/l		
TIEMPO	FLUJO DE AGUA	FLUJO DE AGUA
(min)	1 (ml/min)	2 (ml/min)
0.0	0.92	0.2
10.0	0.94	1.75
20.0	1.56	2.02
30.0	1.91	2.32
40.0	2.12	2.41
50.0	2.28	2.45
60.0	2.36	2.54
70.0	2.39	2.55
80.0	2.42	2.50
90.0	2.45	2.45
100.0	2.50	
120.0	2.52	2.58

## 2. Resultados experimentales a diferentes flujos de recirculación

Tabla 3. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con flujo de recirculación de 20 ml/min y alimentación de aire a través de la membrana

TIEMPO	CONC. SUSTRATO	O <sub>2</sub> DISUELTO
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	0.7422	5.2
18.5	0.6880	0.7
21.0	0.6800	0.5
45.0	0.6700	0.1
71.0	0.4241	0.1

Tabla 4. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con flujo de recirculación de 60 ml/min y alimentación de aire a través de la membrana

TIEMPO	CONC. SUSTRATO	O <sub>2</sub> DISUELTO
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	0.7878	2.78
18.5	0.5907	0.16
24.0	0.5548	0.15
46.5	0.364	0.15
70.0	0.2505	0.15
95.5	0.0873	3.8

Tabla 5. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con flujo de recirculación de 120 ml/min y alimentación de aire a través de la membrana

Tiempo	Conc. Sustrato	O <sub>2</sub> disuelto
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	1.3479	4.84
24.25	0.7557	0.00
47.25	0.3268	0.00
70.00	0.0000	0.00
70.00	0.0210	0.15

Tabla 6. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con flujo de recirculación de 350 ml/min y alimentación de aire a través de la membrana

<b>TIEMPO</b>	<b>CONC. SUSTRATO</b>	<b>O<sub>2</sub> DISUELTO</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	0.7878	2.91
21.0	0.5923	1.00
45.0	0.4200	5.10
46.5	0.3150	5.10
71.0	0.2196	5.10
92.0	0.1877	5.10

Tabla 7. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con flujo de recirculación de 30 ml/min y alimentación de O<sub>2</sub> a través de la membrana y burbujeo de aire por el líquido

<b>TIEMPO</b>	<b>CONC. SUSTRATO</b>	<b>O<sub>2</sub> DISUELTO</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	0.7535	2.25
1.0	0.7000	1.50
2.0	0.6800	1.76
3.0	0.6500	2.21
4.0	0.6500	0.85
5.0	0.6380	0.83
6.0	0.6300	0.77
7.0	0.6111	0.63
8.0	0.5910	0.10
10.0	0.5702	0.03
24.7	0.3198	0.23

Tabla 8. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con flujo de recirculación de 120 ml/min y alimentación de O<sub>2</sub> a través de la membrana y burbujeo de aire por el líquido

<b>TIEMPO</b>	<b>CONC. SUSTRATO</b>	<b>O<sub>2</sub> DISUELTO</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	0.7233	2.50
0.25	0.6127	8.04
0.5	0.5841	8.62
1.0	0.5443	9.20
2.0	0.5332	8.25
3.0	0.5145	5.69
4.0	0.5096	4.66
5.0	0.5017	3.93

6.0	0.4429	1.34
7.0	0.3957	0.44
8.0	0.3395	0.43
8.67	0.2811	0.39
22.6	0.0000	6.12

Tabla 9. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con flujo de recirculación de 350 ml/min y alimentación de O<sub>2</sub> a través de la membrana y burbujeo de aire por el líquido

TIEMPO	CONC. SUSTRATO	O <sub>2</sub> DISUELTO
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	0.6983	2.50
0.5	0.5549	8.62
1.0	0.4484	9.20
2.0	0.4424	8.25
3.0	0.4316	5.69
4.0	0.3872	4.66
5.0	0.3298	3.93
6.0	0.3092	1.34
7.0	0.2902	0.44
8.0	0.2147	0.43
8.67	0.1639	0.39

### 3. Resultados experimentales a diferentes concentraciones iniciales.

Tabla 10. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con concentración inicial de sustrato = 0.8 g/l, alimentación de aire a través de la membrana.

TIEMPO	CONC. SUSTRATO	O <sub>2</sub> DISUELTO
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	0.7878	2.91
18.5	0.7261	1.00
24.0	0.5263	5.10
46.5	0.4977	5.10
70.5	0.0500	5.10
95.5	0.0000	5.10

Tabla 11. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con concentración inicial de sustrato = 1.4 g/l, alimentación de aire a través de la membrana.

<b>TIEMPO</b>	<b>CONC. SUSTRATO</b>	<b>O<sub>2</sub> DISUELTO</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.0	1.3794	4.34
21.5	1.2580	1.75
45.5	0.7625	1.45
71.5	0.5542	0.95
92.5	0.1877	1.3

Tabla 12. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con concentración inicial de sustrato = 2.0 g/l, alimentación de aire a través de la membrana.

<b>TIEMPO</b>	<b>CONC. SUSTRATO</b>	<b>O<sub>2</sub> DISUELTO</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)
0.00	2.0120	4.60
24.25	1.4279	1.14
47.25	0.8535	0.00
74.25	0.6780	0.00
93.75	0.3266	1.75
128.75	0.0348	3.90

Tabla 13. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con concentración inicial de sustrato = 0.27 g/l, alimentación de O<sub>2</sub> a través de la membrana y burbujeo de aire por el líquido.

<b>TIEMPO</b>	<b>SUSTRATO</b>	<b>O.D.</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	0.2756	2.5	0.0000
0.60	0.2557	9.3	7.22
1.00	0.2549	8.9	7.51
2.00	0.2504	6.8	9.14
3.00	0.2310	1.2	16.18
4.00	0.2300	1.0	16.55
5.00	0.2300	1.0	16.55
6.00	0.2234	1.0	18.94
8.00	0.2215	1.0	19.63
10.50	0.2200	1.0	20.17

Tabla 14. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con concentración inicial de sustrato = 0.7 g/l, alimentación de O<sub>2</sub> a través de la membrana y burbujeo de aire por el líquido.

<b>TIEMPO</b>	<b>SUSTRATO</b>	<b>O.D.</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	0.6983	3.5	0.0000
0.50	0.5549	3.88	20.53
1.00	0.4484	3.05	35.79
2.00	0.4424	2.67	36.65
3.00	0.4316	1.41	38.19
4.00	0.3872	0.82	44.55
5.00	0.3298	0.05	52.77
6.00	0.3092	0.05	55.72
7.00	0.2902	0.05	58.44
8.00	0.2147	0.05	69.25
8.67	0.1639	0.05	76.53

Tabla 15. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto con concentración inicial de sustrato = 2.6 g/l, alimentación de O<sub>2</sub> a través de la membrana y burbujeo de aire por el líquido.

<b>TIEMPO</b>	<b>SUSTRATO</b>	<b>O.D.</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	2.6396	2.68	0.0000
0.50	2.1703	7.99	17.78
1.66	2.0991	8.05	20.47
2.00	2.0689	7.25	21.62
3.00	2.0679	7.03	21.66
4.00	2.0622	6.06	21.87
5.00	2.0553	4.55	22.14
6.00	1.9448	3.64	26.32
7.00	1.9389	3.14	36.54
11.00	1.8963	1.18	38.16

#### 4. Resultados experimentales a diferentes formas de suministro de O<sub>2</sub>

Tabla 16. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, alimentando aire a través de la membrana.

TIEMPO	SUSTRATO	O.D.	CONVERSION
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	1.3479	4.84	0.00
24.00	0.7575	0.00	0.44
47.25	0.3268	0.00	0.75
70.00	0.0000	0.30	1.00

Tabla 17. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, alimentando aire a través de la membrana y aire en el líquido.

TIEMPO	SUSTRATO	O.D.	CONVERSION
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	0.4850	1.85	0.00
1.00	0.4427	0.18	0.0872
2.00	0.4406	0.88	0.0915
3.00	0.4359	0.55	0.1012
8.50	0.4349	0.74	0.1033
9.00	0.3503	1.11	0.2778
11.80	0.2728	3.70	0.4375

Tabla 18. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, alimentando O<sub>2</sub> a través de la membrana.

TIEMPO	SUSTRATO	O.D.	CONVERSION
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	0.5767	2.00	0.00
1.00	0.4953	18.00	14.11
2.00	0.4173	20.00	27.64
3.00	0.3665		36.45
4.00	0.3564		38.20
6.00	0.3288		42.98
11.80	0.3063		46.89
13.00	0.2728		52.70
23.50	0.1325		77.02

Tabla 19. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, alimentando O<sub>2</sub> a través de la membrana y aire en el líquido.

<b>TIEMPO</b>	<b>SUSTRATO</b>	<b>O.D.</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	0.6549	2.47	0.00
1.00	0.5600	3.52	14.49
3.5	0.3300	4.25	49.61
4.75	0.1936	4.08	70.43
23.5	0.0100	4.2	98.47

Tabla 20. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, alimentando aire en el líquido.

<b>TIEMPO</b>	<b>SUSTRATO</b>	<b>O.D.</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.00	0.5395	1.24	0.00
0.50	0.2839	9.03	51.85
1.00	0.2672	9.85	54.68
2.00	0.2291	8.00	61.14
3.00	0.2235	7.00	62.93
7.00	0.2098	6.30	64.42
9.00	0.2053	5.00	65.18
11.80	0.1418	4.55	75.95

## 5. Resultados experimentales de experimentos dinámicos

Tabla 21. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, en experimento dinámico alcanzando la concentración inicial, flujo 120 ml/min.

<b>TIEMPO</b>	<b>SUSTRATO</b>	<b>O.D.</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.0000	0.15380	3.8800	0.0000
0.25000	0.11970	11.000	22.170
0.50000	0.10670	12.000	30.620
1.0000	0.10000	12.410	30.620
1.5000	0.098300	11.050	36.080
2.0000	0.081900	9.1500	46.740
2.2500	0.17100	7.4700	0.0000
2.5000	0.15220	6.6400	10.990
3.0000	0.12600	6.0500	26.320
3.5000	0.099800	5.2000	41.640

4.0000	0.093600	5.0000	45.260
4.0100	0.15456		0.00000
4.0800	0.13880		10.197
4.2500	0.13310	4.9500	13.880
4.5000	0.12880		16.670
5.0000	0.096900	5.1500	37.300
5.5000	0.087700	5.8000	43.260
6.0000	0.065900	6.8000	57.360
7.0000	0.033700	8.2000	78.200
8.0000	0.010500	11.270	93.210

Tabla 22. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, en experimento dinámico alcanzando una concentración mayor a la inicial, flujo 120 ml/min.

<b>TIEMPO</b>	<b>SUSTRATO</b>	<b>O.D.</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.0000	0.089000	4.5000	0.0000
0.2500	0.075900	6.3000	14.720
0.5000	0.073700	6.2900	17.190
1.0000	0.071300	6.3100	19.890
1.5000	0.070600	6.3100	20.670
2.0000	0.073000	6.3700	
2.0800	0.15760	6.4900	0.0000
2.2500	0.15080	6.3900	4.3150
2.5000	0.14110	6.3900	10.460
3.0000	0.13690	6.3300	13.130
3.5000	0.12800	6.3600	18.780
4.0000	0.12400	6.3300	21.320
4.0800	0.26730	6.2900	0.0000
4.2500	0.23340	6.2400	12.680
4.5000	0.21800	6.3000	18.440
5.0000	0.21510	6.3100	19.530
5.6700	0.21090	6.2800	21.100
6.0000	0.20850	6.2600	22.630
7.0000	0.20680	6.1900	22.640
8.1670		6.0000	20.095
10.870	0.19550	5.2200	26.860
23.000	0.16570	3.3000	38.000
24.000	0.15190	3.8400	43.170

Tabla 23. Resultados experimentales de consumo de sustrato y O<sub>2</sub> disuelto, en experimento dinámico, flujo 350 ml/min.

<b>TIEMPO (H)</b>	<b>SUSTRATO (G/L)</b>	<b>O.D. (MG/L)</b>	<b>CONVERSION</b>
(h)	(g/l)	(mg/l)	%
0.0000	0.48840	3.5000	0.0000
0.25000	0.42790	5.5200	12.390
0.50000	0.40270	5.7400	17.540
1.0000	0.37080	4.5600	24.070
1.5000	0.36350	3.8500	25.570
2.0000	0.35000	3.3200	28.330
2.0830	0.46500	3.4800	0.0000
2.5000	0.42900	3.0500	7.7400
3.0500	0.32810	2.7600	29.440
3.5000	0.32050	2.6500	31.070
4.0000	0.31490	2.3700	32.280
4.2500	0.45710	2.1200	0.0000
4.5000	0.43490	1.9900	4.8570
5.1700	0.39350	1.8800	13.910
5.5000	0.35370	1.6800	22.620
6.0000	0.32250	1.6600	29.440
7.0000	0.29480	1.0000	35.510
21.000	0.099800	0.050000	78.167

#### 6. Resultados experimentales de determinación de peso seco.

Tabla 24. Resultados experimentales de medición de biomasa después de desprendida la biopelícula, después de 4 meses aproximadamente.

CAJA	PESO SIN BIOMASA	PESO CON BIOMASA	PESO BIOMASA
	(g)	(g)	(g)
1	32.70 g	33.03 g	5.44
2	40.29 g	40.53 g	3.21
3	40.78 g	41.01 g	3.32
4	41.58 g	41.72g	2.43

## **Apéndice 2**

**Estudio estructural de membrana polimérica utilizada en los experimentos con biopelícula**

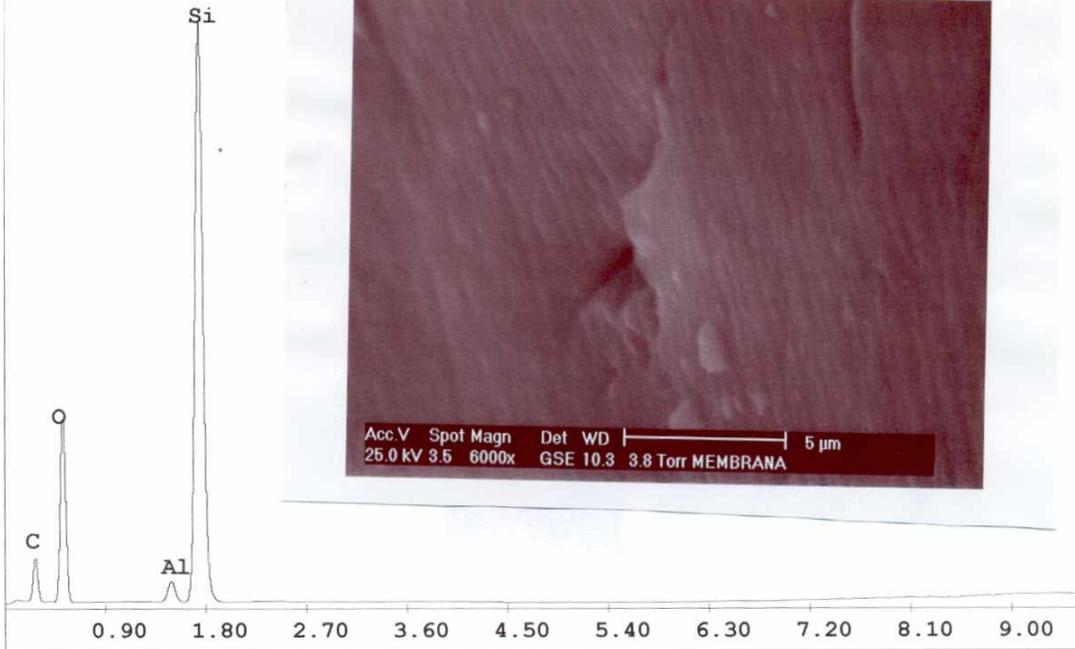
C:\x1\USR\cac\D-1234\eds\MEMBRANA.spc

Label:AMGPC3-3

kV:25.0 Tilt:0.0 Take-off:36.2 Det Type:UTW+ Res:128 Tc:50

FS : 3616 Lsec : 115

2-Apr-2003 12:45:21



EDAX ZAF Quantification (Standardless)

Element Normalized

SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
C K	31.36	42.88	0.0528	1.0221	0.1645	1.0004
O K	38.36	39.38	0.0806	1.0066	0.2088	1.0004
AlK	1.07	0.65	0.0069	0.9407	0.6728	1.0163
SiK	29.22	17.09	0.2236	0.9688	0.7900	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
C K	8.37	0.70	3.48	11.91
O K	38.37	0.52	1.52	73.73
AlK	5.65	0.83	4.46	6.79
SiK	175.76	0.94	0.71	187.65

## Apéndice 3

### Técnicas para la preparación de muestras analizadas en el microscopio electrónico de barrido

Para obtener las muestras a analizar por microscopía electrónica de barrido se procedió a desprender tres pequeñas porciones de biopelícula del reactor, las cuales fueron tratadas con el siguiente método con el propósito de fijarlas, eliminar de ellas toda el agua y montarlas para poder ser observadas en un microscopio electrónico de barrido marca JEOL, modelo JSM-5900 LV a cargo del Dr. José Sepúlveda Sánchez de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Metodología:

- Primeramente se llevó a cabo una fijación de las muestras con glutaraldehído durante 72 horas.
- Posteriormente se cortaron las muestras para obtener tres pedazos muy delgados que pudieran ser observados posteriormente.
- Los pedazos cortados se lavaron 8 veces con un líquido amortiguador de fosfato de amonio.
- Se llevó a cabo una post-fijación con tetraóxido de osmio al 1% durante 2 horas.
- Las muestras se deshidrataron, lavándolas sucesivamente, dos veces con soluciones de acetona al 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 %.
- Posteriormente se llevó a cabo una desecación a punto crítico de las muestras para eliminar la acetona y cualquier otro líquido que pudieran contener las muestras.
- Las muestras se colocaron en un soporte de aluminio con carbón adhesivo.
- Por último se cubrieron con carbón y oro al vacío para poder ser conservadas y observadas en el microscopio electrónico.

Iztapalapa, D. F., a 6 de octubre de 2006.

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

**“Estudio del comportamiento de biopelículas aerobias en  
membranas permeables”**

Que presentó:

**Margarita Mercedes González Brambila**

Jurado:

Presidente: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Secretario: Dr. Sergio Huerta Ochoa

Sinodal: Dr. Sergio Revah Moiseev

Sinodal: Dr. Hugo Jiménez Islas