

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA



Evaluación del coeficiente de retención de la fase gaseosa como
criterio para el escalamiento de un biorreactor de columna de burbujas

TESIS

Que para obtener el grado de Maestro en Biotecnología

PRESENTA

I.B.I. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez

DIRECTOR

Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Marzo de 2007

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

Iztapalapa, D.F. a 22 de Marzo de 2007

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

**Evaluación del coeficiente de retención de la fase gaseosa como criterio para el
escalamiento de un biorreactor de columna de burbujas**

Que presentó

I.B.I. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez

Comité Tutorial:

Director: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas Universidad Autónoma Metropolitana.

Asesor: Dr. Gerardo Saucedo Castañeda Universidad Autónoma Metropolitana.

Asesor: Dr. Leobardo Serrano Carreón Universidad Nacional Autónoma de México.

Jurado:

Presidente: **Dr. Ernesto Favela Torres** _____

Secretario: **Dr. Gerardo Saucedo Castañeda** _____

Vocal: **Dr. Sergio Huerta Ochoa** _____

Vocal: **Dr. Alejandro Medina Moreno** _____

¿O alguien, antes, quisiera agregar un comentario?

¿Cómo que todas las mañanas nace, pequeño un árbol?

Alejandro Aura

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad Autónoma Metropolitana por ser mi casa. Al consejo Nacional de Ciencia y tecnología por la beca otorgada. Al doctor Mariano Gutiérrez por dirigir esta tesis y brindarme su ejemplo, dos cosas que a estas alturas de mi vida resultan fundacionales. A los doctores Gerardo Saucedo y Leobardo Serrano por su valiosa asesoría. A los doctores Sergio Huerta, Ernesto Favela y Alejandro Medina por enriquecer con su experiencia este trabajo.

A mis compañeros del W-108 por hacer inmejorable mi estancia en el laboratorio.

A Hugo por ese discurso de vida del cual ya no sabemos donde comienzan sus palabras o terminan las mías.

A Gina por estar a mi lado y quererme tanto.

A mi familia, especialmente a Lidia por enseñarme que ningún obstáculo resiste a la constancia y a Vania por amigos y fantasía.

A mis tíos José de Jesús y Mario Jiménez Galván por pagar con su vida mi derecho a pensar distinto. A ellos dedico esta tesis.

Tabla de contenido.

	Pag.
Tabla de contenido.	i
i Resumen.	iv
ii Abstract.	v
iii Nomenclatura.	vi
iv Introducción.	vii
1. Revisión bibliográfica.	1
1.1. Problemática de la contaminación de suelos por derrames de petróleo.	2
1.2. Biorreactor de columna de burbujas.	2
1.3. Escalamiento.	3
1.3.1. Criterios para el escalamiento de un biorreactor de columna de burbujas.	3
1.3.2. Correlaciones empíricas para los criterios de escalamiento de transferencia de masa y agitación.	5
1.3.3. Dependencia de los criterios de transferencia de masa y agitación del diámetro promedio Sauter.	6
1.3.4. Factores que influyen en el diámetro promedio Sauter.	7
1.3.5. El coeficiente de retención de la fase gaseosa como manifestación macroscópica del diámetro promedio Sauter.	8
1.4. El coeficiente de retención de la fase gaseosa como criterio de escalamiento.	8
2. Planteamiento del problema.	10
3. Hipótesis y objetivos.	12
4. Estrategia de trabajo experimental.	14
5. Materiales y métodos.	16
5.1. Materiales.	17
5.1.1. Biorreactores y operación.	17

5.1.2. Distribuidores.	18
5.1.3. Consorcio microbiano biodegradador de petroleo y medio de cultivo.	19
5.1.4. Propiedades de la fase líquida.	19
5.1.5. Determinación de parámetros hidrodinámicos.	19
5.1.6. Sólidos suspendidos y carbono orgánico soluble.	21
5.1.7. Hidrocarburos totales residuales y hexadecano.	21
6. Resultados y discusión.	23
6.1. Diseño y evaluación del sistema abiótico.	24
6.1.1. Diámetro promedio Sauter.	24
6.1.2. Velocidad de ascenso de la burbuja.	27
6.1.3. Coeficiente de retención de la fase gaseosa.	28
6.1.3.1. Sensibilidad de la técnica fotográfica.	28
6.1.3.2. Comparación entre medios	30
6.1.3.2.1. Coeficiente de retención de la fase gaseosa en el agua.	32
6.1.3.2.2. Coeficiente de retención de la fase gaseosa en el medio modelo.	33
6.1.4. Correlaciones empíricas.	34
6.1.5. Número de <i>Reynolds</i> de las burbujas.	35
6.1.6. Selección del distribuidor de gas.	36
6.2. Pérdidas de hidrocarburos residuales totales por volatilización.	37
6.3. Diseño y evaluación del sistema biótico.	37
6.4. Evaluación del efecto del coeficiente de retención de la fase gaseosa en la producción de consorcios microbianos biodegradadores de petróleo.	40
6.4.1. Coeficiente de retención de la fase gaseosa y tensión superficial.	40
6.4.2. Formación de sólidos suspendidos y biodegradación de hexadecano.	43
6.4.3. Tasas de formación de sólidos suspendidos y biodegradación de hexadecano.	45

6.4.4. Rendimiento de carbono orgánico soluble y sólidos suspendidos.	49
6.5. Validación experimental del coeficiente de retención de la fase gaseosa como criterio de escalamiento.	52
6.5.1. Parámetros hidrodinámicos en diferentes escalas.	55
6.5.2. Producción de sólidos suspendidos y biodegradación de hexadecano en diferentes escalas	59
7. Conclusiones.	64
8. Recomendaciones para trabajos posteriores.	66
9. Referencias bibliográficas.	68
Anexo A	74

i. Resumen.

Los problemas de contaminación con petróleo y derivados en México, requieren de la producción de consorcios microbianos biodegradadores de petróleo que satisfagan el mercado de biorremediación de suelos contaminados con petróleo, el biorreactor de columna de burbujas (BCB) es un equipo ampliamente usado para este fin. Para alcanzar los niveles de producción deseados se hace necesario el escalamiento de los BCB, entendiendo el escalamiento como la serie de etapas técnicas que permiten predecir con un riesgo mínimo las condiciones de operación de un equipo a cualquier otra escala con base en los resultados experimentales en una escala disponible. Para un correcto cambio de escala, es necesario considerar criterios de ingeniería. En el presente trabajo se seleccionó como criterio el coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g), que tiene que ver con tres principios físicos fundamentales para el escalamiento de un BCB: i) el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (kla), ii) el número de *Reynolds* (Re) y iii) la energía necesaria para la agitación en el BCB.

Se diseñó y evaluó el BCB (1.5 L) en forma abiótica determinándose algunos parámetros hidrodinámicos, tales como: el diámetro promedio Sauter (SMD), ϵ_g , velocidad de ascenso de las burbujas (U_b) y Re . Tres diferentes distribuidores de gas fueron estudiados, siendo el mejor de estos un tubo de acero inoxidable de 1/4 de pulgada de diámetro, con un doblez en forma de L, provisto de siete orificios equidistantes de 1 mm de diámetro, y con expulsión de aire hacia abajo. El BCB también fue evaluado de manera biótica, obteniéndose un consorcio microbiano con edad fisiológica y actividad constantes. Se determinó la influencia del ϵ_g sobre la producción del consorcio microbiano biodegradador de petróleo. La mayor concentración del consorcio microbiano se obtuvo para valores de ϵ_g entre 0.02 y 0.06. Los valores mas altos de rendimiento específico del consorcio microbiano se presentaron para el valor de ϵ_g de 0.024.

Se demostró que las correlaciones empíricas obtenidas en la escala de 1.5 L fueron capaces de predecir el valor del ϵ_g en BCB de diferentes escalas (0.5 y 10.5 L). Se validó que utilizando el ϵ_g como criterio de escalamiento para BCB la producción del consorcio microbiano no cambia con el escalamiento.

ii. Abstract.

The trouble pollution with oil in México makes necessary the production of microbial inoculants, that satisfies the commercial market of the bioremediation of petroleum contaminated sites. The bubble column bioreactor (BCB) is a device widely used for this purpose. In order to achieve the desired production levels, the bioreactor scale up is necessary, implicitly understood the scaling as the series of techniques that allow to predict, with minimal risks, the conditions under which one bioreactor must be operated based on the results obtained in the available experimental scale. For a succesful scale change, it is necessary to consider engineering criteria. We selected the criterion named gas hold up (ε_g), related with three fundamentals physical principles: i) volumetric mass transfer coefficient (k_{la}), ii) the *Reynolds* number (Re) and, iii) agitation energy.

The abiotic system was designed and evaluated (in 1.5 L BCB); some hydrodynamic parameters were determinated, such as: Sauter mean diameter (SMD), ε_g , bubble rise velocity (U_b) and Re . Three different gas spargers were studied as well. A perforated pipe built of stainless steel with seven orifices of 1 mm diameter which expulses air to the bottom was the best one and was selected. The biotic system was designed and evaluated (in 1.5 L BCB), a microbial consortium of constant physiological age and activity was obtained. The variation of ε_g and its influence in the hydrocarbon-biodegrading microorganism production was also evaluated. ε_g values between 0.02 and 0.06 showed the higher microbial consortium concentration. The higher specific yield was obtained close to an ε_g value of 0.024.

The empiric correlations obtained in 1.5 L scale for the prediction of ε_g were validated in two scales 0.5 and 10.5 L operated at 0.024 of ε_g . We demonstrated that using the ε_g as scale criterion the microbial consortium production do not change with the scales.

iii Nomenclatura.

A	Área transversal de la columna	L^2
COS	Concentración de carbono orgánico soluble	$M L^{-3}$
D	Diámetro de columna del biorreactor	L
H	Altura del biorreactor	L
HXD	Concentración de hexadecano	$M L^{-3}$
HTR	Concentración de hidrocarburos totales residuales	$M L^{-3}$
kla	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa	T^{-1}
Q	Gasto de aire que entra a la columna	$L^3 T^{-1}$
Re	Número de <i>Reynolds</i>	adimensional
SMD	Diámetro promedio Sauter	L
SS	Concentración de sólidos suspendidos.	$M L^{-3}$
t	tiempo	T
U _b	Velocidad de ascenso de las burbujas de gas	$L T^{-1}$
U _g	Velocidad superficial de la fase gaseosa.	$L T^{-1}$
U _l	Velocidad de recirculación de la fase líquida	$L T^{-1}$
Y	Logaritmo del tamaño relativo de la población microbiana	adimensional

Letras griegas

ε_g	Coefficiente de retención de la fase gaseosa	adimensional
λ	Tiempo de la fase lag	T
μ_{agua}	Viscosidad del agua	$M L^{-1} T^{-1}$
μ_l	Viscosidad de la fase líquida.	$M L^{-1} T^{-1}$
μ_m	Tasa específica de crecimiento máxima	T^{-1}
μ_{modelo}	Viscosidad del medio modelo	$M L^{-1} T^{-1}$
ρ_{agua}	Densidad del agua	$M L^{-3}$
ρ_g	Densidad de la fase gaseosa	$M L^{-3}$
ρ_l	Densidad de la fase líquida	$M L^{-3}$
ρ_{modelo}	Densidad del medio modelo	$M L^{-3}$
σ_{agua}	Tensión superficial del agua	$M T^{-2}$
σ_{modelo}	Tensión superficial del medio modelo	$M T^{-2}$
ν_l	Viscosidad cinemática de la fase líquida	$L^2 T^{-1}$
ν_g	Viscosidad cinemática de la fase gaseosa	$L^2 T^{-1}$

iv. Introducción.

El petróleo con que México cuenta, constituye un recurso esencial para el desarrollo del país. No obstante a los beneficios que el petróleo proporciona, la sociedad en general también reconoce la grave problemática ambiental local, regional y global debida a su utilización (Gonzalez-Camacho y col., 2001). Los derrames de petróleo en suelo, y sus componentes principales son susceptibles de biodegradación mediante consorcios microbianos, por lo que ha surgido un gran interés industrial y de investigación por la generación de tecnologías capaces de recuperar sitios contaminados por derrames de petróleo (Mehrnia y col., 2002). La gran escala de la contaminación por petróleo y derivados, hace necesario que la producción de los consorcios microbianos sea también en gran escala.

En el presente documento, se aborda como tema principal, la evaluación del coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g) como criterio para el escalamiento de biorreactores de columna de burbujas (BCB) como una opción biotecnológica que permita la producción en gran escala de los consorcios microbianos biodegradadores de petróleo, y con esto satisfacer el mercado de conformado para las empresas encargadas de la biorremediación de suelos contaminados con petróleo y sus derivados.

Este trabajo esta dividido en nueve capítulos. En el capítulo uno se presenta la revisión bibliográfica acerca del tema propuesto, exponiéndose que, para alcanzar los niveles de producción deseados se hace necesario el escalamiento de los biorreactores. Para lograr el cambio de escala exitoso es necesario considerar criterios, en este capitulo se selecciona a uno de estos. En el capítulo dos, se define el problema, su originalidad y alcances. En el capítulo tres, se plantea la hipótesis y los objetivos del trabajo. En el capítulo cuatro, se plantea la estrategia de trabajo experimental, se hace énfasis en la división del trabajo en experimentos en medio abiótico y biótico y en las diferentes escalas ensayadas. En el capítulo cinco, se presentan los materiales utilizados y los métodos seguidos en el trabajo experimental. El capítulo seis, tiene una gran importancia pues muestra los resultados experimentales obtenidos así como una valoración crítica en la determinación de parámetros hidrodinámicos tales como el diámetro promedio Sauter (SMD), la velocidad

de ascenso de la burbuja (U_b) y el coeficiente de retención de la fase gaseosa (ε_g). En base a estos parámetros, se selecciona el mejor distribuidor de aire en el BCB experimental. A continuación, se estudia la variación del ε_g y su efecto sobre la producción de los consorcios microbianos. Se determinan los valores del ε_g en donde el rendimiento específico de los consorcios microbianos capaces de biodegradar petróleo sea el mayor, con lo que este valor de ε_g se convierte en el criterio de escalamiento. Finalmente, se muestra la validación del criterio en una escala diferente. En el capítulo siete se exponen las principales conclusiones del trabajo y en el ocho las recomendaciones que han surgido a partir de las experiencias descritas. El capítulo nueve, muestra las referencias bibliográficas que sustentan la tesis.

1. Revisión bibliográfica.

1.1. Problemática de la contaminación de suelos por derrames de petróleo.

Estudios realizados por PEMEX (2001), determinaron que en promedio se derraman 8,800 toneladas de petróleo en suelo cada año. Por otra parte, el petróleo y sus componentes principales derramados en suelo han mostrados ser susceptibles a los procesos microbianos de biodegradación. Esto, ha generado un gran interés industrial y de investigación por el desarrollo de tecnologías capaces de recuperar suelos contaminados por derrames de petróleo (Mehrnia y col., 2005). Cualesquiera que sea la opción biotecnológica para la biorremediación de suelos contaminados por petróleo, esta se basa en el uso de consorcios microbianos (Medina-Moreno y col., 2005). Para la remediación de suelos contaminados a nivel nacional, se estima que la cantidad anual necesaria de consorcios microbianos biodegradadores de petróleo debe ser alrededor 30 toneladas en base seca, lo que representa una producción aproximada de estos consorcios en volumen de operación en biorreactores de 3,000,000 de litros por año.

Para generar las condiciones que permitan al país enfrentar el problema de contaminación de suelos, es indispensable y necesario desarrollar tecnologías competitivas para la producción en gran escala de consorcios biodegradadores de hidrocarburos. Como se verá más adelante, el biorreactor de columna de burbujas (BCB) es un equipo tecnológico que muestra capacidad para la producción en gran escala de este tipo de consorcios microbianos. En el presente trabajo, se utilizo al hexadecano (HXD) como molécula modelo de fácil seguimiento. Este hidrocarburo alifático posee un peso molecular de 226 uma, un punto de ebullición 151 °C y una densidad relativa 0.773.

1.2. Biorreactor de columna de burbujas.

Un BCB es un recipiente cilíndrico con un distribuidor de gas ubicado en la parte inferior del biorreactor. Este gas (generalmente aire) es suministrado en forma de burbujas hacia la fase líquida (Kantarci y col., 2005). Se ha reportado que, desde hace tres décadas, los BCB han sido utilizados en diversos procesos bioquímicos a nivel industrial (Mashelkar, 1970), en procesos tales como absorción, licuefacción y biorreacciones. En todos estos procesos se ha remarcado que los BCB son preferidos por su fácil operación y mantenimiento. Sin

embargo, los BCB son difíciles de diseñar debido a la complejidad de sus patrones de flujo, lo que ha conducido a proponer nuevas líneas de investigación (Shah y col., 1982). En concordancia con lo anterior, estudios recientes (Kantarci y col., 2005) afirman que es necesario estudiar la hidrodinámica y parámetros operacionales de los BCB, con el propósito de detallar el diseño y escalamiento de los BCB (Kantarci y col. 2005; Shah y col., 1982).

1.3. Escalamiento.

Trabajos precedentes (Bisio y Kabel, 1985) definen el escalamiento como el conjunto de técnicas que conducen a predecir con un riesgo mínimo las condiciones bajo las cuales debe operar un equipo a cualquier otra escala, con base en los resultados experimentales en una escala disponible. Generalmente, este cambio de escala conduce a la instalación y operación de un equipo a escala industrial cuyo diseño y condiciones de operación se basan en la experimentación a una pequeña escala de operación. Así, para alcanzar los niveles de producción elevados se hace necesario entonces el escalamiento de los BCB acorde a ciertas reglas o criterios (Lih y Teng, 2002).

1.3.1. Criterios para el escalamiento de un biorreactor de columna de burbujas

Un criterio de escalamiento es un parámetro y/o variable de proceso (variable independiente) que permite discernir el intervalo de valores en los que se produce el resultado deseado de la variable respuesta (variable dependiente). En el biorreactor que se pretende escalar (BCB), el resultado deseado o variable respuesta a maximizar se refiere a la producción del consorcio microbiano biodegradador de petróleo.

Algunas de los parámetros y variables de proceso usados con mayor frecuencia como criterios de escalamiento son: consumo de potencia por unidad de volumen, el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno de la fase gaseosa a la líquida ($k_L a$), el coeficiente de dispersión axial, el esfuerzo cortante máximo y el tiempo de mezclado. Estos, han sido utilizados con éxito en muchos trabajos de escalamiento (Godia y Lopez, 1998; Chen y col., 2001; Rocha-Valadez, 2006). En estos trabajos, al menos uno de estos parámetros o

variables se ha mantenido constante en el escalamiento (además de la similitud geométrica) (Godia y Lopez, 1998). Los criterios de escalamiento en BCB han sido abordados en numerosos estudios (Chen y col., 2001) y se han enfocado fundamentalmente al entendimiento de su comportamiento hidrodinámico basado en la caracterización experimental y correlación adimensional de transporte en pequeña escala. Un criterio de escalamiento es seleccionado en base al análisis de la propiedad más crítica para la ejecución del proceso (Rocha-Valadez, 2006), que en el caso de los BCB, puede ser referido a dos fenómenos fundamentales:

a) Transferencia de masa: estudios recientes en BCB (Mehrnia y col., 2005) permiten destacar el papel del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno de la fase gaseosa a la líquida (kla) como criterio de escalamiento. El kla es una medida de la capacidad del BCB basada en su diseño para la transferencia de oxígeno.

b) Agitación para el mezclado: el mezclado es un proceso que consume energía, y en el caso de BCB esta es provista por la agitación que proporciona la aireación (Villadsen y col., 2003). En general, a medida que la magnitud del número de Reynolds (Re) aumenta (es decir va de régimen laminar a turbulento), mayor será la fuerza y energía utilizadas en mover al fluido, y con esto el nivel de turbulencia provocado también será mayor, conduciendo a su vez a un mejor mezclado. Trabajos en BCB (Quijano-Govantes, 2006) destacan el papel del número de Reynolds (Re), que reduce el diámetro de gota del HXD que para ese proceso representaba la fuente de carbono.

El kla y el Re , a su vez están fuertemente correlacionados. Esta correlación, es debida al efecto directo que tiene el Re sobre el espesor de capa límite en sistemas con mezclado. Así, un incremento en el Re conlleva a disminución de la capa límite lo cual a su vez disminuye la resistencia al transporte en interfases, reflejándose esto en un incremento de los coeficientes volumétricos de transporte (kla). Tanto el Re y el kla , pueden expresarse mediante correlaciones empíricas que relacionan ambos parámetros entre sí.

1.3.2. Correlaciones empíricas para los criterios de escalamiento de transferencia de masa y agitación.

Una correlación empírica expresa la intensidad de la relación entre dos variables. Cuando se realiza un ejercicio experimental puede incluso predecir resultados de la variable de respuesta.

Una correlación empírica es la particularización de una correlación matemática de parámetros fijos. Para el caso de los BCB se han propuesto correlaciones matemáticas para kla en función de la velocidad superficial de la fase gaseosa (U_g) y del coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g), de la forma $kla = bU_g^n$ y $kla = b\epsilon_g^n$ respectivamente (Shah y col., 1982). La particularización de estas correlaciones, para diferentes fases líquidas produce los diferentes valores de b y n , como se muestran en la Tabla 1. La U_g está definida como el cociente del gasto de aire que se introduce en la columna (Q) y el área transversal del BCB, mientras que el coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g) está definido como la fracción de aire en el volumen de operación del BCB.

Por otro lado, el Re es un número adimensional que determina la relación de las fuerzas inerciales a las viscosas, para definirlo se requiere saber cuál elemento aporta cada una de estas fuerzas. En las correlaciones mostradas en la Tabla 1, se aprecia que las fuerzas inerciales pueden ser aportadas por la fase gaseosa, ya sea mediante la U_g , o la velocidad de ascenso de las burbujas (U_b), mientras que la resistencia al movimiento o fuerzas viscosas son aportadas por el fluido utilizado (Darby, 1996). Cuando se utiliza U_g , la longitud característica para Re es el diámetro de la columna, pero, cuando se utiliza U_b , la longitud característica es el diámetro de la burbuja en ascenso. En este último caso, este diámetro de burbuja es expresado por el diámetro promedio Sauter (SMD). En el presente trabajo, se utilizará una correlación del Re que considera el diámetro de burbuja en ascenso, ya que dicho diámetro produce el área superficial específica, implicada a su vez en el coeficiente volumétrico de transporte kla .

Tabla 1. Correlaciones empíricas para kla y Re .

Correlación	Fase líquida	Referencia bibliográfica
$kla = 0.33Ug^{0.7}$	Agua	Bailey y Ollis, 1986
$kla = 0.24\epsilon g^{0.9}$	Agua	Sada y Kumazawa, 1986
$kla = 0.235Ug^{0.75}$	Microemulsiones de agua en keroseno y diesel	Mehrnia y col., 2005
$kla = 1.32\epsilon g^{0.81}$	Microemulsiones de agua en keroseno y diesel	Mehrnia y col., 2005
$Re = UgD/\nu_1$	Agua	Bisio y Kabel, 1985
$Re = U_b SMD/\nu_1$	Microemulsion de parafinas en agua.	Behkish y col., 2002
$Re = UgD/\nu_g$	Agua	Kantarci y col., 2005

1.3.3. Dependencia de los criterios de transferencia de masa y agitación del diámetro promedio Sauter.

El diámetro de burbuja ha sido determinado mediante varias técnicas. La más actualizada es la fotográfica (Ribeiro y Lage, 2004) y consiste en evaluar las distribuciones de los tamaños de burbujas. El diámetro promedio Sauter (SMD) es una medida ponderada del diámetro de las burbujas (Ecuación 1).

$$SMD = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \dots \dots \dots (1)$$

En donde n_i representa las clases para los diámetros de las burbujas y d_i es el diámetro de esa clase en particular.

Cuando en un BCB se producen SMD grandes el kla se ve afectado negativamente pues disminuye el área específica, definida como el cociente entre el área superficial y el volumen de la burbuja. Todo lo contrario pasa con el Re , pues a mayores SMD, se producen mayores Re y por consiguiente se aumenta la energía de agitación para el mezclado en la fase líquida. En el proceso de escalamiento se toman en cuenta los criterios más relevantes en la operación del BCB, se consideran los fenómenos de transferencia de masa, y los de agitación; los primeros aseguran que no haya limitación por sustratos y los segundos aportan la energía para el mezclado en el BCB. En esta sección se describió brevemente la dependencia que tienen el kla y el Re del SMD. Esta dependencia, a su vez conduce a examinar los factores de los que depende el SMD.

1.3.4. Factores que influyen en el diámetro promedio Sauter.

El diámetro promedio Sauter (SMD) depende de factores relacionados con las variables operativas, propiedades de la fase líquida y dimensiones de la columna. Se ha reportado que incrementos en las variables temperatura y presión en BCB tienen como resultado una disminución en el SMD de las burbujas (Luo y col., 1999), en tanto que el efecto del flujo de aire que se inyecta a la columna a través del distribuidor es un elemento que ha sido considerado en varios estudios en BCB (Li y Prakash, 2000; Prakash y col., 2001). En estos trabajos se ha encontrado que el SMD se incrementa de forma directamente proporcional con la U_g , alcanzando un tamaño de burbuja máximo a un cierto valor de U_g . Por otro lado, se sabe que las propiedades de la fase líquida también tienen un efecto sobre el SMD: el aumento en la viscosidad de la fase líquida y la tensión superficial incrementa el SMD (Mehrnia y col., 2005). Relacionado con lo anterior, se ha encontrado que el aumento en la concentración de sólidos, aumenta el SMD debido a un aparente aumento en la viscosidad (Prakash y col., 2001), en contraste se ha reportado que el SMD disminuye cuando se adicionan agentes tensoactivos (Kantarci y col., 2005). En otras investigaciones acerca del efecto de las dimensiones de la columna sobre el SMD, se ha encontrado que al mismo valor de U_g , el SMD fue ligeramente más grande en columnas pequeñas que en columnas grandes, lo que implica un efecto de la pared sobre el SMD. El SMD se manifiesta macroscópicamente en el BCB, dicha manifestación macroscópica es el ϵ_g (Behkish y col., 2002).

1.3.5. El coeficiente de retención de la fase gaseosa como manifestación macroscópica del diámetro promedio Sauter.

En la Ecuación 2, el ε_g se define como la fracción de volumen que las burbujas de gas ocupan en el volumen de operación de un BCB (Prakash y col., 2001):

$$\varepsilon_g = \frac{(H_t - H_s)}{H_t} \dots\dots\dots(2).$$

En donde H_s es la altura del líquido sin airear y H_t es la altura del líquido aireado.

El diámetro de las burbujas es el fundamento de lo que el ε_g refleja: las burbujas grandes adquieren mayor velocidad de ascenso que las pequeñas, y muestran menor tiempo de residencia en la columna, tardando menos en alcanzar el equilibrio entre la fase gaseosa entrante y saliente del BCB. El hecho de que las burbujas grandes tarden menos tiempo en alcanzar el equilibrio mencionado tiene como consecuencia que generen un menor ε_g en el BCB (Behkish y col., 2002), El ε_g esta relacionado inversamente con el SMD (Kantarci y col., 2005) y como consecuencia de que el SMD dependa de varios factores ocurre que también el ε_g depende de una serie de variables en el BCB.

1.4. El coeficiente de retención de la fase gaseosa como criterio de escalamiento.

La mayoría de los estudios en BCB examinan el ε_g porque, al estar relacionado a una multiplicidad de variables, juega un importante papel en el diseño y análisis de los BCB (Kantarci y col., 2005). El comportamiento del ε_g ha sido atribuido a varios factores, incluyendo las dimensiones del BCB, diseño del distribuidor de gas, las propiedades físicas de las fases gaseosa/liquida/biológica y las variables operativas, tales como, presión, temperatura y U_g (Fan y col., 1999).

Estudios de escalamiento de BCB (Vandu y Krishna, 2000) con diámetros de 0.1, 0.15 y 0.38 m y agua como fase liquida encontraron relaciones inversas entre el diámetro del BCB y el ε_g , estas relaciones inversas se pueden explicar debido al efecto de la pared, el cual provoca un disminución en el ε_g para columnas grandes (Daly y col., 1992). Análisis

posteriores examinaron la influencia de la escala sobre la hidrodinámica de los BCB haciendo estudios experimentales con diámetros del BCB de 0.1, 0.19 y 0.38 m y aceite de parafinas como fase líquida (Krishna y col., 2001) y de 0.1, 0.4 y 1m y agua como fase líquida (Forret y col., 2003), encontrando en contraposición con los autores anteriores que el efecto del tamaño del BCB sobre el ε_g es despreciable. La explicación a estas diferencias se puede encontrar en el hecho de que el primer trabajo mostró un incremento en la recirculación del líquido (el cual retenía pequeñas burbujas de aire durante una fracción de tiempo extra) cuando se incrementó la escala. En cuanto al diseño del distribuidor de gas, es pertinente mencionar, que diámetros de orificio grandes provocan ε_g pequeños. Para valores de U_g por debajo de 6 cm s^{-1} , el ε_g depende del número y diámetro de los orificios del distribuidor de gas (Kantarci y col., 2005). En cuanto a las propiedades físicas de las diferentes fases, de la fase gaseosa se puede decir que el ε_g se incrementa cuando se incrementa la presión de operación (Lin y col., 1998), la fase líquida cobra relevancia porque el ε_g decrece cuando se incrementan la viscosidad de la fase líquida y la concentración de sólidos suspendidos (Mehrnia y col., 2005), la fase biológica puede producir biosurfactantes (Quijano-Govantes, 2006) y se sabe que si se adiciona un agente tensoactivo se incrementa el ε_g (Mouza y col., 2005). Finalmente, las variables operacionales inciden en tanto que ε_g se incrementa cuando se incrementan la U_g (Prakash y col., 2001), la temperatura y la presión de operación (Lin y col., 1998).

El ε_g es un criterio asociado a variables relacionadas estrechamente con el kla y Re (Vandu y Krishna, 2000; Krishna y col., 2001; Forret y col., 2003), y debido a la falta de reportes en su uso para el cambio de escala de BCB en procesos biológicos como el estudiado en este trabajo, se hace pertinente su evaluación como criterio de escalamiento para BCB que producen consorcios microbianos biodegradadores de petróleo.

2. Planteamiento del problema.

La sociedad reconoce ampliamente la problemática ambiental local, regional y global debida a la utilización del petróleo. Se requiere entonces generar tecnologías competitivas para la producción, a nivel industrial, de consorcios microbianos inoculantes capaces de biodegradar petróleo para remediar los suelos contaminados.

El escalamiento de BCB ha ganado considerable atención en los años recientes como una opción biotecnológica para la producción de inoculantes en gran escala. Todo proceso de escalamiento requiere de al menos un criterio de ingeniería para llevarse a cabo exitosamente.

La importancia del coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g), relacionado con los fenómenos de transferencia de masa y agitación esta bien documentada en la bibliografía, sin embargo hay pocos reportes de su utilización en procesos de cambio de escala en BCB. Por estas razones el presente trabajo se centra en la evaluación del ϵ_g como un posible criterio de escalamiento.

3. Hipótesis y Objetivos.

Hipótesis

El coeficiente de retención de la fase gaseosa (ε_g) es un criterio relevante para el escalamiento de un biorreactor de columna de burbujas que produce consorcios microbianos biodegradadores de petróleo.

Objetivo general

Validar el coeficiente de retención de la fase gaseosa (ε_g) como criterio de escalamiento de biorreactores de columna de burbujas para la producción de consorcios microbianos biodegradadores de petróleo.

Objetivos particulares.

Diseñar y evaluar el sistema abiótico: Determinar algunos parámetros hidrodinámicos como el diámetro promedio Sauter (SMD), la velocidad de ascenso de las burbujas (U_b), el número de Reynolds (Re) y el coeficiente de retención de la fase gaseosa (ε_g) para la selección del mejor distribuidor de gas.

Diseñar y evaluar en el sistema biótico la producción de un consorcio microbiano biodegradador de petróleo.

Evaluar el efecto del ε_g en la producción del consorcio microbiano biodegradador de petróleo.

Validar experimentalmente en diferentes escalas con idéntica geometría (escalamiento descendente y escalamiento ascendente) el coeficiente de retención de la fase gaseosa (ε_g) como criterio de escalamiento para la producción de consorcios microbianos biodegradadores de petróleo.

4. Estrategia de trabajo experimental.

En la Figura 1 se muestra la estrategia experimental. Esta es desarrollada en tres grandes etapas. La primera es el estudio en una escala de 1.5 L de un BCB, en la que se diseña y evalúa el sistema abiótico, determinando los parámetros hidrodinámicos SMD, U_b , Re y ε_g , haciendo la comparación de tres diferentes distribuidores de aire y su efecto sobre dichos parámetros, para al final seleccionar uno de ellos. La segunda, evalúa el sistema biótico en la producción de un consorcio microbiano biodegradador de petróleo utilizado como inóculo en los estudios donde se evalúa el efecto de la variación de ε_g sobre el rendimiento específico de los sólidos suspendidos (SS, que incluyen a los consorcios microbianos). En estos estudios se selecciona el valor de ε_g que presente el mayor rendimiento específico de SS. La tercera etapa, es utilizar el valor de ε_g que genere el mayor rendimiento específico de SS, para validarlo como criterio en el escalamiento de BCB a escalas de 0.5 y 10.5 L. Es importante mencionar que para trabajar en el sistema biótico, la variación del criterio y su aplicación en el escalamiento, se hacen dos supuestos. El primero considera que el consorcio microbiano biodegradador de petróleo no cambia en proporción dentro de los SS, y, el segundo considera que el consorcio microbiano al ser cultivado solo con HXD, conserva su capacidad de biodegradar petróleo.

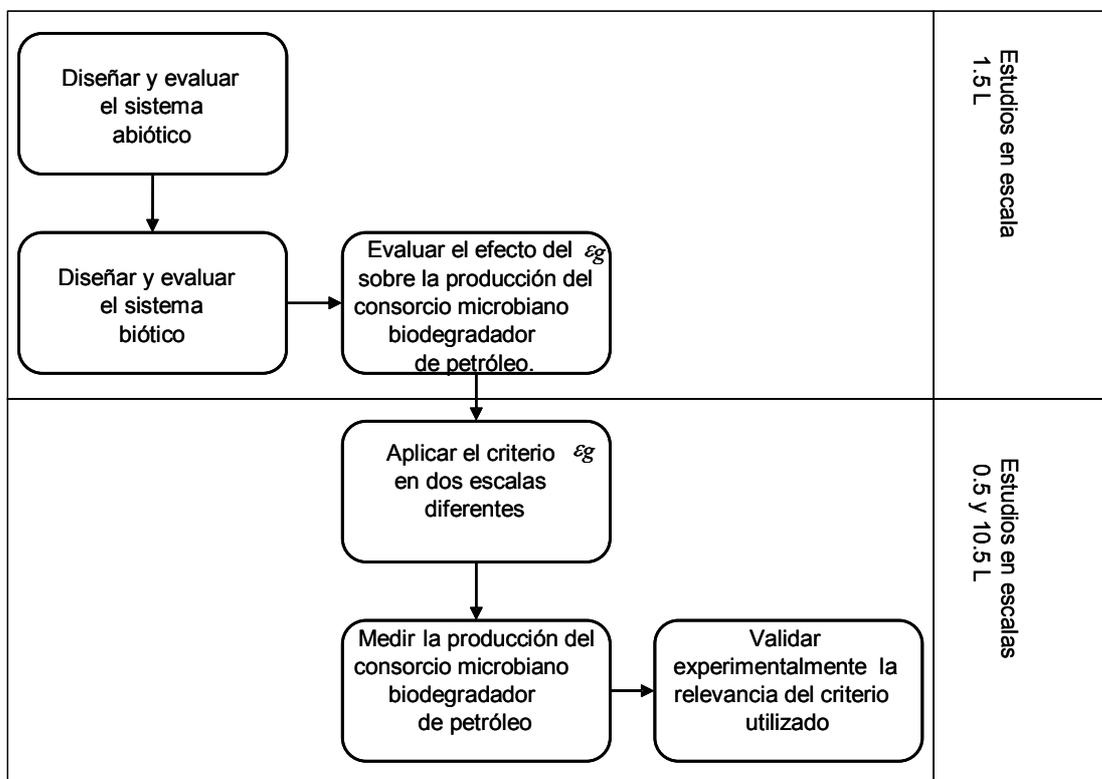


Figura 1. Estrategia de trabajo experimental.

5. Materiales y métodos.

5.1. Materiales y métodos.

5.1.1. Biorreactores y operación.

En la Figura 2 se muestran los tres diferentes tamaños de BCB utilizados en este trabajo.

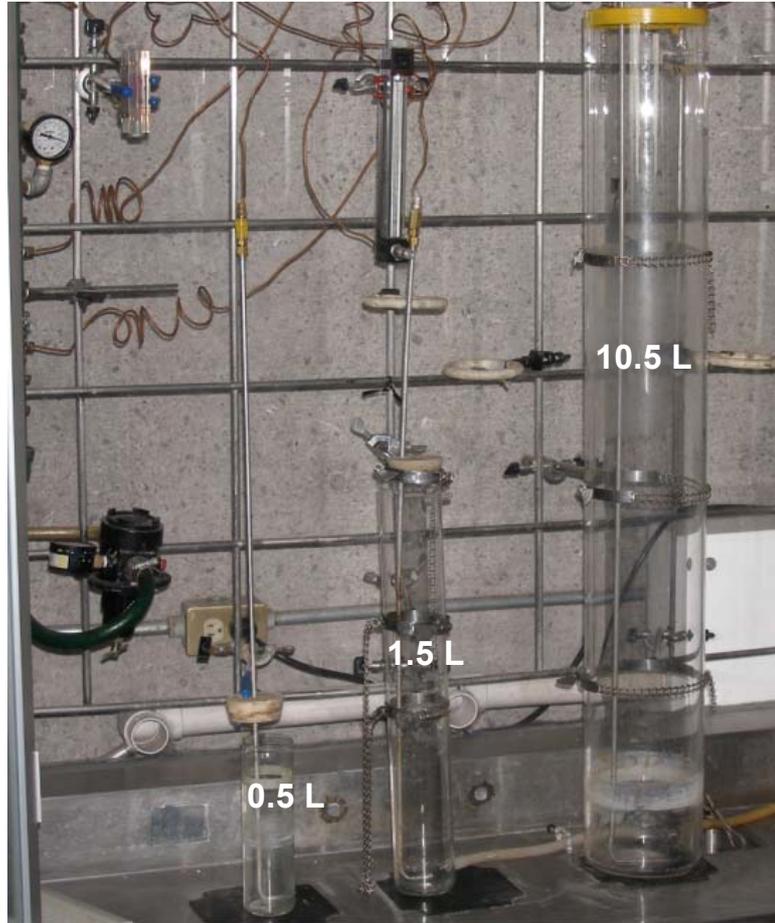


Figura 2. Biorreactores de columna de burbujas de 0.5, 1.5 y 10.5 L de volumen de operación.

Para la sección de evaluación de ε_g y su efecto sobre la producción del consorcio microbiano biodegradador de petróleo se utilizaron dos BCB de vidrio de 2 L de volumen nominal con un diámetro interno (D) de 7.84 cm y una altura de 40.76 cm, el volumen de operación fue 1.5 L, es decir, las columnas se llenaron hasta una altura de operación (H) de 31.36 cm. Uno de los BCB sirvió como productor de inóculo operando en lotes secuenciales de 14 días, se mantuvo a una temperatura de 28 °C y fue operado a una velocidad superficial del gas (U_g) de 1 cm s⁻¹ (Medina-Moreno y col., 2005), el segundo BCB se operó a la misma temperatura, en lotes de 14 días y la U_g fue variable. Al inicio de

cada ciclo, este último BCB recibió inóculo de la misma edad fisiológica y en este se estudió el efecto de la variación del ε_g en la producción de SS.

Para la sección de validación en diferentes escalas del valor seleccionado de ε_g , se utilizaron dos BCB: a) un BCB de 0.65 L de volumen nominal con un D de 5.4 cm y una altura de 28.08 cm, el volumen de operación fue de 0.5 L, es decir la columna se llenó hasta una H de 21.6 cm; b) un BCB de 13.6 L de volumen nominal con un D de 14.95 cm y una altura de 77.74 cm, el volumen de operación de este BCB fue de 10.5 L, es decir la columna se llenó hasta una H de 59.8 cm, todos los BCB fueron geoméricamente similares, relación H/D = 4. Cada BCB fue muestreado a lo largo del tiempo, los días: 0, 3, 4, 6, 7, 10, 14 (se retiraron 10 mL en cada muestra) y cada experimento se realizó por triplicado en lotes independientes. Después de la toma de muestra el BCB se aforaba con agua destilada hasta la H determinada originalmente.

5.1.2. Distribuidores.

Al BCB se le inyectó aire controlando el gasto con un rotámetro calibrado (Lab-Crest, USA), se utilizaron tres distribuidores (Figura 3), uno de ellos en forma “L” (en adelante distribuidor A), otro en forma de “aro” (en adelante distribuidor B) ambos construidos en acero inoxidable con un diámetro interno de 1/4 de pulgada. Ambos distribuidores están provistos de 7 orificios de 1 mm de diámetro que expulsan aire hacia abajo. Finalmente, se ensayó con un distribuidor de vidrio sinterizado (en adelante distribuidor C).



Figura 3. Distribuidores ensayados: A y B construidos en tubo de acero inoxidable en forma de “L” y de “aro” respectivamente, y C distribuidor construido en vidrio sinterizado.

5.1.3. Consorcio microbiano biodegradador de petróleo y medio de cultivo.

El consorcio microbiano degradador esta constituido por cinco cepas bacterianas: *Achromobacter (Alcaligenes) xylosoxidans*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium luteum* y *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (Díaz-Ramírez y col., 2003).

El medio de cultivo contuvo hidrocarburos y sales minerales. Se utilizó un medio mineral (Medina-Moreno y col., 2005) con la siguiente composición (g L^{-1}): 6.75 NaNO_3 (Aldrich, 99.9%), 2.15 $\text{K}_2 \text{HPO}_4$ (J. T. Baker 99.3%), 1.13 KCl (J. T. Baker 99.9%) y 0.54 MgSO_4 . (J. T. Baker 100.1%) El pH fue ajustado a 6.5 con HCl IN. Cada BCB contuvo 1500 mL de medio mineral, e hidrocarburos, utilizando HXD y petróleo crudo maya (Instituto Mexicano del Petróleo), en una relación 1:1, p/p, para el BCB productor de inculo y solo HXD para los BCB utilizados en las pruebas de evaluación del εg , para ambos casos a una concentración de 13,000 mg L^{-1} .

5.1.4 Propiedades de la fase líquida.

La determinación de la tensión superficial de la fase líquida del medio biótico (σ) se determinó utilizando un tensiometro (*Fisher Manual Surface Tensiometer Model 20*, Fisher Scientific International, Wisconsin, USA), y la viscosidad (μ) mediante un viscosímetro (viscosímetro *Physica MCR 300*, Stuttgart, Alemania), resultando 50.5 dinas cm^{-1} y 3.05 cP, respectivamente. Para la determinación abiótica de parámetros hidrodinámicos se utilizaron dos fases líquidas distintas, agua destilada y medio modelo. El medio modelo fue diseñado igualando sus propiedades físicas con las del medio biótico, para lograr lo anterior se adicionó 1.4 mL de Tween 20 (Aldrich Co. Ltd) por litro de fase líquida para el igualar σ y medio mineral en las proporciones descritas en 5.1.3. para igualar μ .

5.1.5. Determinación de parámetros hidrodinámicos.

El SMD y εg se midieron mediante la metodología fotográfica (Ribeiro y Lage, 2004) se utilizó una cámara fotográfica digital (Pentax modelo *Optio 50* de 5 MP, USA). Se tomaron una serie de fotografías del BCB sin aireación, utilizando un sólido de referencia

de dimensiones conocidas en diferentes partes del BCB. Se determinó una longitud característica del cuerpo de referencia (L1) (ver Figura 4) con el software analizador de imágenes *Image-pro plus 4.1* (Media Cybernetics, USA) y se generó un factor de corrección para evitar los errores de medición debidos a la curvatura del BCB. Realizada la calibración del método de análisis se inyectó aire y se tomaron fotografías por triplicado a diferentes valores de U_g y se determinó el diámetro de las burbujas (Figura 4). Para determinar el SMD se midió el diámetro de una serie de burbujas (comparando la medición con L1) y se aplicó la ecuación 1. Para determinar el ε_g , (Figura 5) se utilizó el método de lecho expandido (Prakash y col., 2001) que mide la diferencia de altura entre el líquido sin airear y el líquido aireado (comparando la medición con L1) y con esos datos se aplicó la ecuación 2. Para este experimento, se utilizó un cuerpo de referencia colocado a lo largo del nivel del líquido sin airear, el cual sirvió para determinar el valor de L1. Todas las determinaciones se llevaron a cabo utilizando dos fases líquidas diferentes: agua y medio modelo (ε_g se determinó además en el medio biótico). Para determinar U_b y Re se utilizaron las ecuaciones 3, 4 y 5.

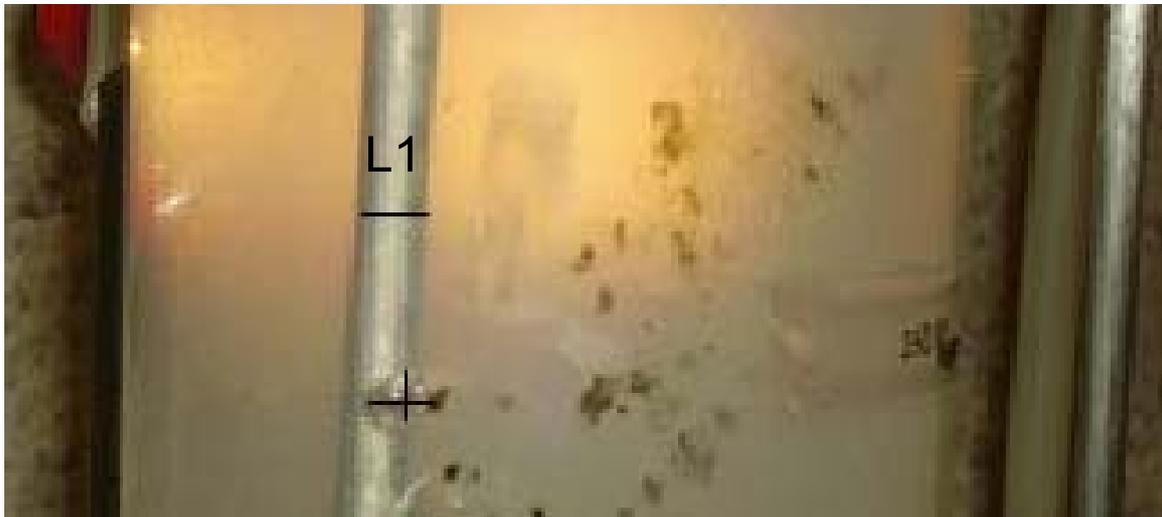


Figura 4. Determinación fotográfica de diámetro de burbuja para obtener el SMD en medio modelo.

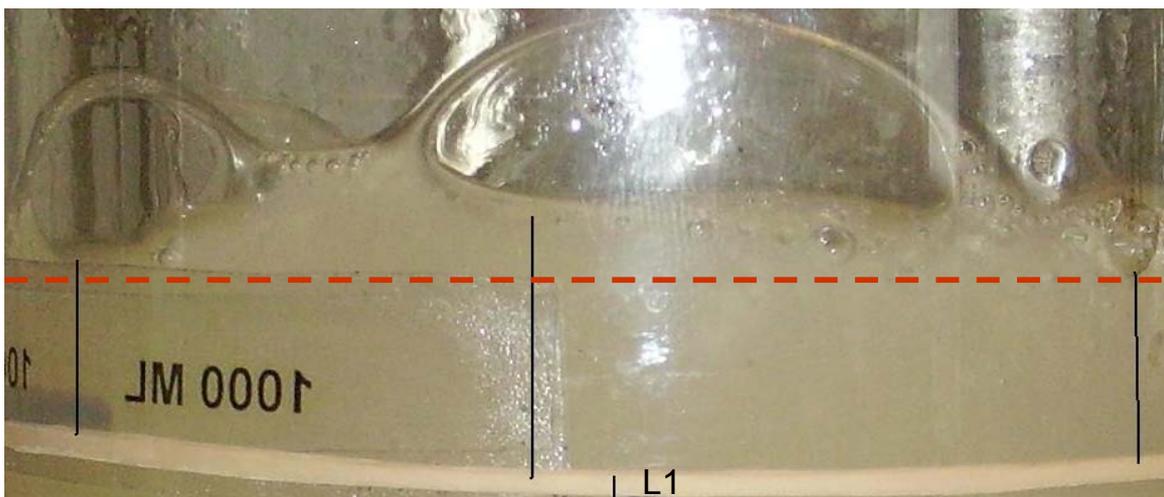


Figura 5. Determinación fotográfica del coeficiente de retención de la fase gaseosa en medio modelo.

5.1.6. Sólidos suspendidos y carbono orgánico soluble.

Las muestras obtenidas de los BCB fueron centrifugadas (Solbat J-600, Solbat Equipment Co.) a 4000 g en tubos corex durante 30 min. Se formaron 3 fases: una orgánica, una acuosa y la otra sólida. El carbono orgánico soluble (COS) se determinó a partir de la fase acuosa mediante un analizador de carbono orgánico total, previo filtrado y dilución de las muestras. En cada análisis, el equipo acidificó y aireó cada muestra (Total Organic Carbon Analyzer TOC 5000-A, Shimadzu). Los sólidos suspendidos (SS) (que incluyen además del consorcio microbiano biodegradador de petróleo a los metabolitos no solubles) se determinaron en la fase sólida y en la fracción remanente atrapada en la fase orgánica, la cual fue recuperada mediante tres extracciones líquido-líquido, (1:5 v/v) con hexano y solución isotónica (1:3 v/v), las fases orgánicas fueron colectadas y todos los sólidos suspendidos fueron re-centrifugados tres veces con acetona – solución isotónica 1:20 v/v. Los sólidos suspendidos se determinaron por gravimetría.

5.1.7. Hidrocarburos totales residuales y hexadecano.

Las muestras de la fase orgánica obtenidas en base a la metodología descrita en el apartado anterior, fueron divididas en dos muestras, una de ellas se utilizó para la determinación de los hidrocarburos totales residuales (HTR) (técnica de peso seco, 60 ° C durante 48 horas,

horno Duo Vac , Lab-line Instruments Inc, Melrose Park, Illinois, USA) y la otra para la determinación de hexadecano (HXD), el cual fue extraído de la fase acuosa con (hexano y solución isotónica (1:3 v/v) y la eficiencia fue del 95%. La determinación del HXD se realizó por CGS previa correlación con una curva estándar. El cromatógrafo de gases utilizado fue un Varian 3900 con detector FID (300 °C) y una columna capilar 30 m x 0.25 mm (Palo Alto, USA). Se empleo helio como gas acarreador y la tasa de temperatura fue de 5 °C min⁻¹ (desde 50 °C hasta 300 °C).

6. Resultados y Discusión.

6.1. Diseño y evaluación del sistema abiótico.

En esta sección se discute y analiza la determinación abiótica de los parámetros hidrodinámicos SMD, U_{bc} , y Re en el BCB. Se comparan tres distribuidores de aire, eligiéndose el mejor en base a los parámetros hidrodinámicos. En esta etapa del trabajo, se utilizó como fase líquida el medio modelo que se diseñó con las propiedades de viscosidad y tensión superficial igual que las del medio biótico (ver 5.1.4). La mayoría de los trabajos precedentes utilizan agua como fase líquida (medio coalescente), por lo tanto se consideró conveniente también realizar pruebas con agua ($\mu = 1.0$ cP, $\sigma = 76$ dinas cm^{-1}) con el propósito de comparar los resultados con el medio modelo (medio no coalescente) y así evaluar con mayor precisión el sistema biótico. En esta sección, experimentalmente se trabajó solo con el BCB de 1.5 L. Cabe mencionar, que en todas las figuras que se muestran a continuación, las barras de error corresponden a la desviación estándar producida por la medición experimental por triplicado.

6.1.1. Diámetro promedio Sauter.

Con el objetivo de estimar algunos parámetros hidrodinámicos en el BCB, el SMD se determinó como una función de U_g , tanto para el caso del agua y el medio modelo, como para los tres distribuidores ensayados (Figuras 6, 7 y 8). En el intervalo de U_g que se experimentó (0.2 a 1.2 cm s^{-1}) los valores de SMD son mayores en agua que en el medio modelo. Esto puede explicarse por las características del agua como medio coalescente, al tener una mayor tensión superficial ($\sigma = 76$ dinas cm^{-1}) que el medio modelo (50.5 dinas cm^{-1}). Lo anterior es consistente con trabajos previos, donde se ha encontrado que el SMD se incrementa cuando se incrementa la tensión superficial. En lo referente a la viscosidad de la fase líquida, trabajos anteriores han mostrado que el SMD se incrementa con la viscosidad (Li y Prakash, 1997). En nuestro trabajo, el medio modelo a pesar de tener mayor viscosidad que el agua, presenta los SMD menores, probablemente debido a que la disminución de la tensión superficial fue predominante sobre el efecto de la viscosidad.

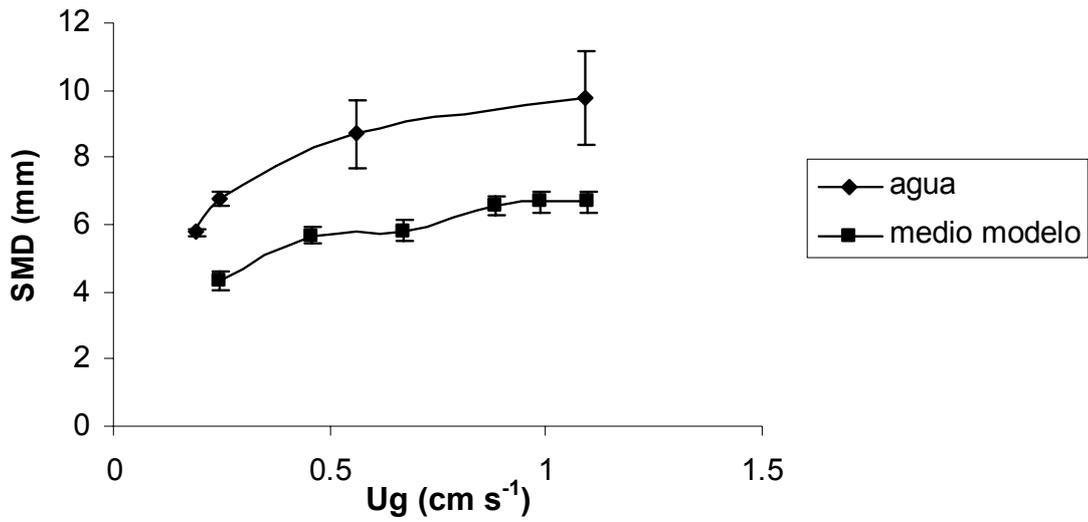


Figura 6. Diámetro promedio Sauter (SMD) para diferentes valores de Ug. Distribuidor A.

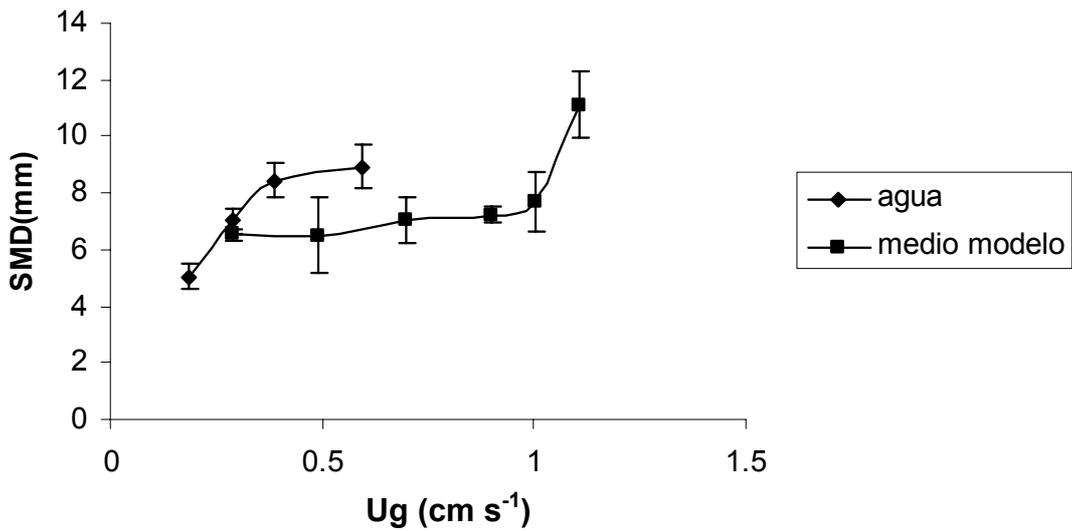


Figura 7. Diámetro promedio Sauter (SMD) para diferentes valores de Ug. Distribuidor B.

Al parecer en el distribuidor B se establecen fenómenos de coalescencia para Ug mayor que 1 cm s⁻¹.

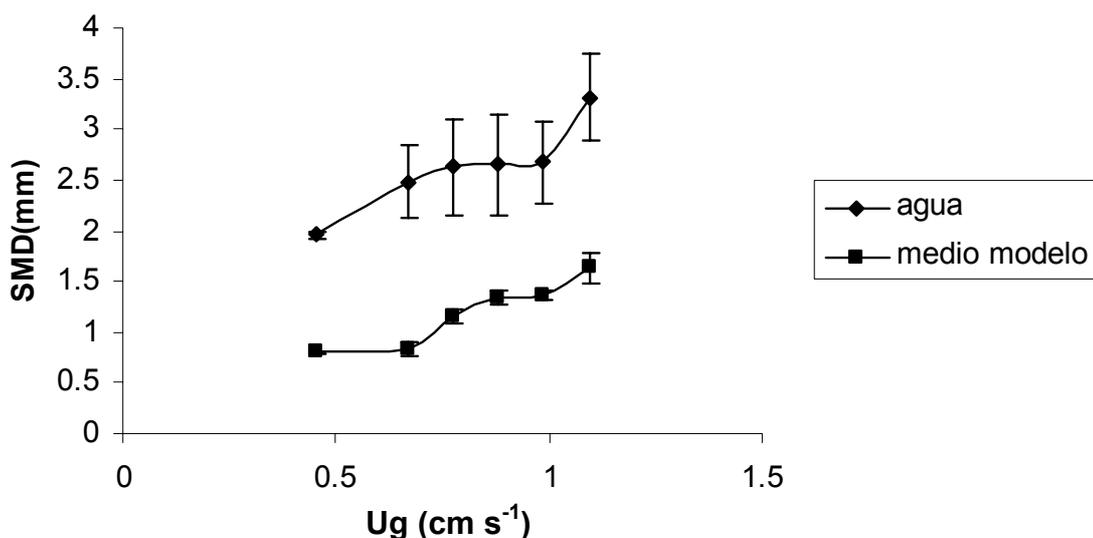


Figura 8. Diámetro promedio Sauter (SMD) para diferentes valores de Ug. Distribuidor C.

En las Figuras 6, 7 y 8, se observa que el distribuidor C (vidrio sinterizado), tiene una clara tendencia a diámetros de burbuja hasta siete veces más pequeños que los otros dos distribuidores. En concordancia, trabajos precedentes (Kantarci y col., 2005) reportaron que los distribuidores con orificios pequeños (acero sinterizado) generan burbujas entre cinco y veinte veces más pequeñas que los tubos perforados. De manera similar, estudios realizados con una columna burbujeada a una Ug de 2.2 cm s⁻¹ (Ribeiro y col., 2004) obtuvieron SMD más pequeños (4.1 mm) para un distribuidor de acero poroso (con orificios de entre 40 y 100 μm) que para uno de plato perforado (con orificios de 0.5 mm de diámetro). En nuestro trabajo, el vidrio sinterizado tiene diámetros de orificio del orden de micras, mientras que en el tubo perforado, cercanos a 1 mm. Teniendo en cuenta que el área específica de una burbuja, esférica, se incrementa conforme disminuye el diámetro, los resultados indican que el distribuidor C (vidrio sinterizado) favorecería los procesos de transferencia de oxígeno dentro del biorreactor, de manera más clara que los otros distribuidores.

En los distribuidores A y B, no se aprecia una diferencia notable en el SMD (entre 6 y 10 mm para el medio modelo). Sin embargo, aplicando un análisis estadístico (prueba t-student) para la media de los errores estándar de la determinación del SMD en función de la Ug (con $\alpha = 0.05$) se aceptó la hipótesis alternativa de que la media del error estándar del

distribuidor A es menor que la media del error estándar del distribuidor B, es decir, el distribuidor A es más predecible con respecto al SMD que el distribuidor B. El diámetro de las burbujas tiene también la siguiente consecuencia: las burbujas pequeñas tienen menor U_b que las grandes y por consecuencia menores Re .

6.1.2. Velocidad de ascenso de las burbujas.

En la Figura 9 se muestra la variación de la velocidad de ascenso de la burbuja (U_b) con respecto al SMD para los distribuidores A, B y C. Trabajos previos (Behkish y col., 2002) encontraron que la ecuación de Fukuma (Ecuación 3) correlaciona adecuadamente el SMD con la U_b para burbujas grandes (como las que se generan en distribuidores de tubos perforados). Por otra parte, la ecuación de Stokes (Ecuación 4) describe con precisión la U_b para burbujas pequeñas (como las que se generan con distribuidores de materiales sinterizados). En el caso de los distribuidores A y B la U_b se calculó mediante la Ecuación de Fukuma, (Behkish y col., 2002).

$$U_b = 1.3\sqrt{gSMD} \dots\dots\dots (3)$$

En donde g es el valor de la constante de aceleración gravitacional (980 cm s^{-2}).

En el caso del distribuidor C la U_b se calculó considerando la ecuación de Stokes, (Behkish y col., 2002).

$$U_b = \frac{SMD^2 g(\rho_l - \rho_g)}{18\mu_l} \dots\dots\dots (4)$$

En donde ρ_l , ρ_g son las densidades de la fase líquida y gaseosa respectivamente. μ_l es la viscosidad de la fase líquida.

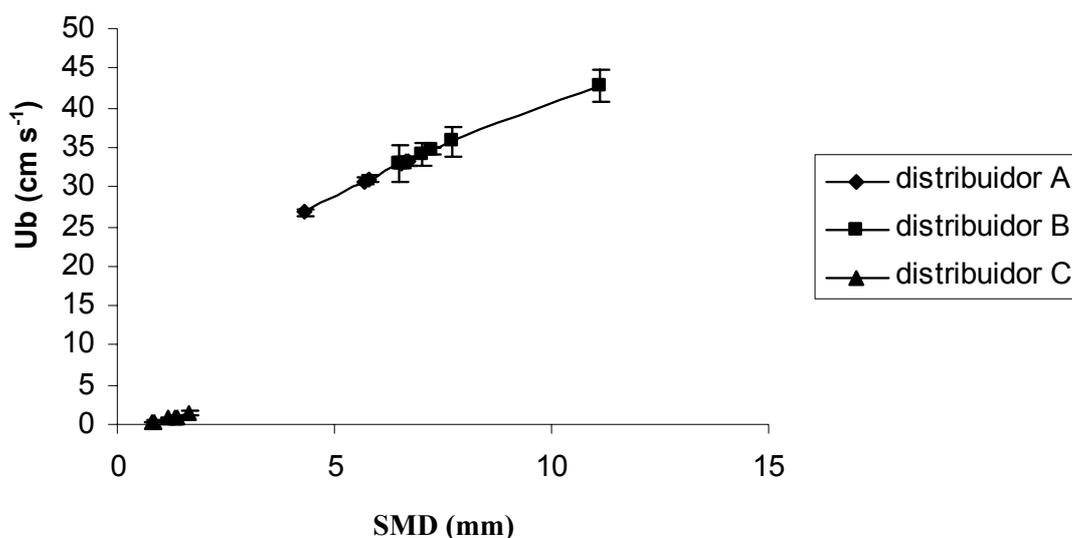


Figura 9. Velocidad de ascenso de las burbujas (U_b) para diferentes valores de SMD en el medio abiótico modelo.

Se observa que al incrementarse el tamaño de la burbuja su velocidad lineal también se incrementa. Los resultados son consistentes con los valores del SMD presentados en la sección 6.1.1, en donde el distribuidor de vidrio sinterizado muestra las menores U_b . Estudios realizados con platos perforados de 0.5 mm de diámetro (Chen y col., 2003) y una U_g de 3.3 cm s^{-1} determinaron una U_b de alrededor de 25 cm s^{-1} . Los valores reportados en nuestro trabajo son mayores (entre 25 y 45 cm s^{-1} para los tubos perforados) porque el diámetro de los orificios fue mayor (1 mm). Las burbujas grandes tienen mayor velocidad de ascenso que las pequeñas y consecuentemente deben generar menor ε_g , debido a su menor tiempo de residencia en el BCB, estos resultados se presentan a continuación.

6.1.3. Coeficiente de retención de la fase gaseosa.

6.1.3.1. Sensibilidad de la técnica fotográfica.

La sensibilidad de la técnica fotográfica en la medición de ε_g se determinó buscando la media de los errores estándar (MSE). Este error indica los límites dentro de los cuales no se puede discernir entre dos ε_g , por ejemplo si la MSE es de 0.001 (unidades de ε_g) sería impreciso decir que se han medido dos ε_g diferentes, de por ejemplo 0.031 y 0.032, ya

que están a menos de 0.002 unidades de εg de distancia (dos veces la MSE, pues se considera el error tanto por exceso como por defecto). En la determinación de la MSE para el εg se utilizaron los errores estándar obtenidos al medir εg para cada valor de U_g experimentado en el medio biótico (Tabla 2), debido a las características de turbiedad de este medio, se tiene mayor dificultad para determinar εg , asumiéndose que para los demás medios (agua y modelo), la sensibilidad será al menos igual.

Tabla 2. Errores estándar en la determinación de εg para distintos valores de U_g en medio biótico.

U_g (cm s^{-1})	εg (Medido)	Error estándar
0.24	0.015	0.001
0.45	0.021	0.002
0.62	0.021	0.001
0.88	0.023	0.001
0.93	0.028	0.001
0.96	0.031	0.001
0.98	0.036	0.001
1	0.040	0.001
1.1	0.041	0.002
1.32	0.052	0.002
1.67	0.058	0.001

Se aplicó la prueba t-student para determinar la MSE, utilizando el software *NCSS 2000*. Se propusieron una serie de hipótesis para determinar la confianza de la técnica para la determinación del εg . En las siguientes líneas se presenta la hipótesis que mostró cual es la sensibilidad de la técnica:

Se propuso como hipótesis nula (H_0) que la MSE es mayor que 0.0017 (unidades de εg) y como hipótesis alternativa (H_a) que la MSE es igual o menor que 0.0017 (unidades de εg).

Entonces el conjunto de hipótesis fue:

Ho: $MSE > 0.0017$

Ha: $MSE \leq 0.0017$

Para probar las hipótesis se buscó el estadístico definido (t_0):

$$t_0 = \frac{\sqrt{n}}{S}(\bar{X} - MSE)$$

$$t_0 = -1.44$$

En donde n es el tamaño de la muestra de una población de errores estándar con media MSE y desviación estándar desconocida. \bar{X} y S son la media y la desviación estándar de la muestra respectivamente.

Con 10 grados de libertad y un nivel de significancia del 10% ($\alpha = 0.1$) el valor crítico ($t_{\alpha, n-1}$) es $t_{0.1, 10} = -1.37$, el estadístico t_0 cae en la región de rechazo, se rechazó entonces la hipótesis nula, la evidencia experimental señala que el MSE es menor a 0.0017 (unidades de εg). Entonces el análisis de sensibilidad de la técnica propuesta mostró que los εg para ser discernibles deben estar al menos a $2 \times 0.0017 = 0.0034$ (unidades de εg) de distancia, esto quiere decir que en el BCB de 1.5 L de volumen de operación (y una altura H de 30 cm), la separación entre dos εg para que sean discernibles debe ser de al menos 0.0102 cm ($0.0034 \times 30\text{cm}$).

6.1.3.2. Comparación entre medios.

El coeficiente de retención de la fase gaseosa (εg) es un criterio global, que refleja el comportamiento hidrodinámico del BCB, por lo tanto es necesario establecer su relación con los parámetros que lo afectan. El εg se midió experimentalmente tal y como se explicó en la sección 5.1.5. (el análisis de sensibilidad de la técnica fotográfica empleada para medir εg , también mostró que la técnica permite medir diferencias de hasta 0.0034 unidades de εg , lo que en la columna de 1.5 L equivale a 0.102 mm).

En la Figura 10 se muestran las variaciones, en agua y medio modelo, del ε_g con respecto a la velocidad superficial del gas (U_g) para el distribuidor A. Se puede apreciar que hasta un valor de U_g de 0.7 cm s^{-1} prácticamente no hay diferencia entre los medios ensayados. Para valores mayores el medio modelo presenta valores más grandes para el ε_g . Esto puede explicarse, por que a partir del valor de $U_g = 0.7 \text{ cm s}^{-1}$ se establecen fenómenos de coalescencia más pronunciados en el caso del agua, mientras que en el medio modelo no, lo que condujo a la formación de burbujas pequeñas.

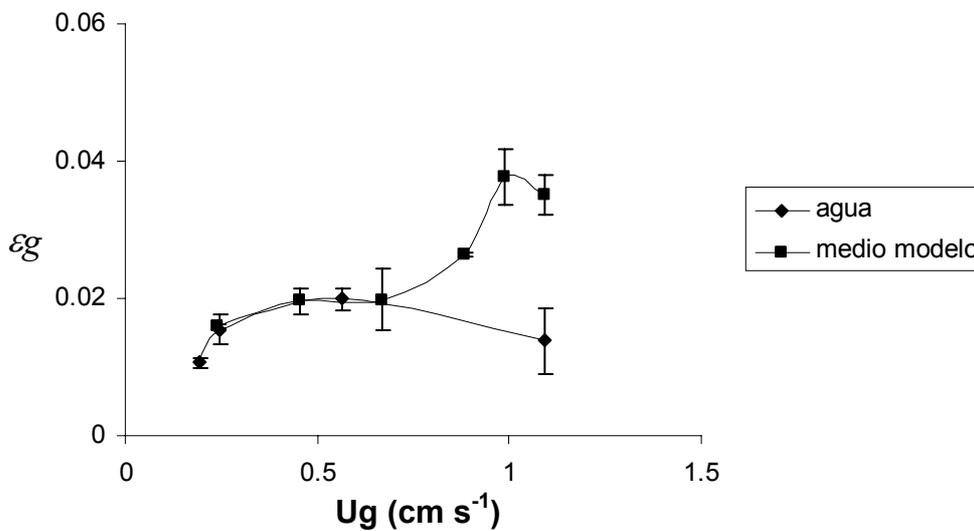


Figura 10. Coeficiente de retención de la fase gaseosa (ε_g) para diferentes valores de U_g . Distribuidor A.

En las Figuras 11 y 12, se presentan los resultados para los distribuidores B y C, respectivamente. Como se observa, de manera general en el intervalo operado de U_g y para ambos distribuidores, en el agua se alcanzan valores menores de ε_g que en el medio modelo. Esto se explica porque en el agua las burbujas son más grandes y por lo tanto más rápidas, con lo que sus tiempos de residencia son menores reflejándose esto en una disminución de ε_g . Diversos estudios (Prakash y col., 2001; Mehrnia y col., 2005; Mouza y col., 2005) han encontrado un comportamiento similar, en donde el agua muestra los valores de ε_g mas bajos cuando se compara con medios de menor tensión superficial. Se observa que conforme se incrementa la U_g la diferencia entre los ε_g del agua y el medio modelo también se incrementa.

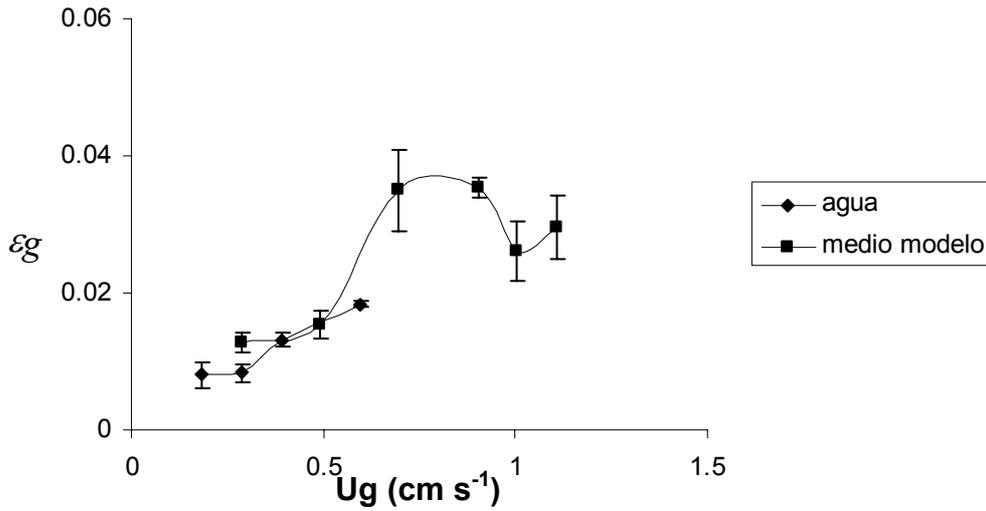


Figura 11. Coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g) para diferentes valores de U_g . Distribuidor B.

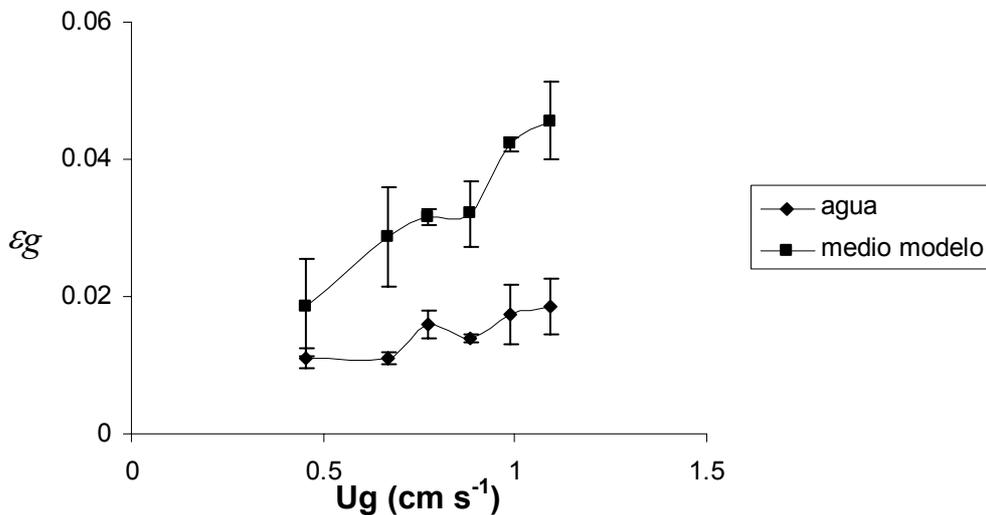


Figura 12. Coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g) para diferentes valores de U_g . Distribuidor C.

6.1.3.2.1. Coeficiente de retención de la fase gaseosa en el agua.

Los valores de ϵ_g para el agua no son significativamente diferentes entre los tres distribuidores, oscilando entre 0.01 y 0.02 para el intervalo de velocidades superficiales de gas ensayadas (entre 0.18-1.1 cm s^{-1}). Nuestros resultados son consistentes con otros publicados antes (Shimizu y col., 2000). Estos al utilizar un anillo de tubo perforado como distribuidor de aire (diámetros de orificio 1 mm) obtuvieron valores de ϵ_g de aproximadamente 0.02 para una U_g de 1 cm s^{-1} . Otros estudios (Mouza y col., 2005)

trabajando con un distribuidor de aire de disco poroso (diámetro de orificio entre 20 y 40 micras) muestran que a una U_g de 0.8 cm s^{-1} el ε_g es de 0.02. Se puede concluir que en general el agua presenta pequeños valores de ε_g .

6.1.3.2.2. Coeficiente de retención de la fase gaseosa en el medio modelo.

Los resultados presentados para el medio modelo en la sección de SMD parecerían mostrar que el distribuidor C (vidrio sinterizado), al tener los diámetros más pequeños, debería generar los mayores valores de ε_g . Sin embargo, como se observa en las Figuras 10, 11 y 12, esto no es así (los ε_g para el medio modelo se encuentran en el intervalo de 0.01 a 0.04, para el intervalo de U_g ensayadas en los tres distribuidores). La explicación a esto tiene que ver con la generación de una gran cantidad de espuma con este distribuidor (Figura 13). Mucho del líquido que teóricamente aumentaría el valor de ε_g , se encuentra contenido en la espuma, en términos prácticos vale decir que el BCB en esta condición se desborda, lo que implica serios problemas de operación. Otros estudios (Degaleesan y col., 2001) comparando distribuidores de plato perforado con diferentes diámetros (entre 0.33 y 1 mm) no han encontrado gran variación de ε_g entre distribuidores en un intervalo de U_g de 1 a 15 cm s^{-1} (resultado similar al nuestro considerando solamente los distribuidores de tubo perforado).



Figura 13. Problemas de operación con el distribuidor C.

No hay reportes en la bibliografía para el caso del medio modelo (HXD y medio mineral), sin embargo (Mehrnia y col., 2005) obtuvieron valores de ε_g cercanos a 0.02 para fases líquidas de microemulsiones de agua en keroseno y diesel, ensayados a una U_g de 1 cm s^{-1} . Nuestro sistema, presenta a la misma U_g , valores de ε_g de 0.035 y 0.029 para los distribuidor A y B respectivamente. Mehrnia y col. (2005), manejaron tensiones

superficiales 25 por ciento menores a las utilizadas en el presente trabajo, por lo que se esperaría, que sus valores de εg fueran mayores. La explicación a esta divergencia, se debe probablemente al efecto del diseño del distribuidor de aire, ya que, aunque en ambos trabajos el diámetro de orificio del distribuidor fue el mismo (1 mm), en el diseño utilizado en el presente trabajo el distribuidor tuvo orificios más espaciados (3 mm contra 1 mm) lo que probablemente condujo a fenómenos de coalescencia menos pronunciados. Trabajos previos (Choi y col., 1996) utilizando una columna burbujeada con un distribuidor de plato perforado (con diámetro de orificio de 2 mm), con una Ug de 1 cm s^{-1} obtuvieron un valor de εg de 0.038 similar al caso del distribuidor A.

6.1.4. Correlaciones empíricas.

En el desarrollo del trabajo experimental, los datos del SMD y del εg en función de Ug (Figuras 6-8 y 10-12) permitieron desarrollar correlaciones del tipo de regresiones exponenciales, expresadas en forma de funciones de potencia, tal como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Correlaciones empíricas para SMD y εg en función de Ug

Tipo de Medio	Distribuidor	Correlación	R^2
Agua	A	$SMD = 9.86Ug^{0.29}$	0.95
Agua	B	$SMD = 12.41Ug^{0.49}$	0.90
Agua	C	$SMD = 2.93Ug^{0.53}$	0.87
Modelo	A	$SMD = 6.68Ug^{0.28}$ $\varepsilon g = 0.05Ug^{0.73}$	0.95 0.85
Modelo	B	$SMD = 8.36Ug^{0.26}$ $\varepsilon g = 0.03Ug^{0.71}$	0.47 0.71
Modelo	C	$SMD = 1.41Ug^{0.84}$ $\varepsilon g = 0.04Ug^{1.005}$	0.87 0.96

Se presentan coeficientes de determinación mayores de 0.85 para todos los casos excepto para el distribuidor B en el medio modelo. Las correlaciones empíricas mostradas en la Tabla 3 son una de las aportaciones del presente trabajo, en concordancia con correlaciones de este tipo que son presentadas en la literatura para otros medios (Shah y col., 1982; Bailey y Ollis, 1986; Deckwer, 1992; Reza y col., 2005). En la sección 6.5.1. se evaluará la capacidad que las correlaciones presentadas en la Tabla 3 tienen para predecir SMD y ε_g en función de U_g en las diferentes escalas (esto se hará para el distribuidor seleccionado para utilizarse en las pruebas bióticas). Las correlaciones empíricas para el distribuidor A, presentan en promedio los coeficientes de determinación más grandes. Estas correlaciones empíricas indican que el distribuidor A es en general el más predecible. Sin embargo, el distribuidor C muestra un alto coeficiente de determinación para el ε_g en función de U_g , por lo tanto es pertinente revisar el criterio de agitación (Re) en el BCB para hacer mas clara la comparación entre los distribuidores.

6.1.5. Numero de *Reynolds* de las burbujas.

El Re para la burbuja de gas (burbuja que proporciona las fuerzas inerciales que agitan el BCB) se expresa conforme a la Ecuación 5 (Behkish y col., 2002):

$$Re = \frac{U_b SMD}{\nu_l} \dots\dots\dots (5)$$

En donde U_b (cm s^{-1}) es la velocidad de ascenso de la burbuja, SMD (cm) el diámetro promedio Sauter y ν_l es la viscosidad cinemática ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$).

En la Figura 14 se presentan los resultados de la variación del Re en el medio modelo para los diferentes valores de U_g con los tres tipos de distribuidores ensayados. El distribuidor C, al presentar los valores de SMD significativamente menores que los distribuidores A y B, también tuvo los menores valores de U_b . Esto, se manifestó en que para el distribuidor C se obtuviera un intervalo de valores para el Reynolds de $0.9 < Re < 7.8$, siendo estos al menos dos órdenes de magnitud menores que los de los distribuidores de acero inoxidable A ($386 < Re < 741$) y B ($717 < Re < 1585$). De esta manera, los distribuidores A y B proporcionan mayor energía para la agitación y mezclado. Lo anterior se debe a que es la burbuja ascendiendo en la columna, la que aporta las fuerzas inerciales al seno del fluido

del BCB. A su vez, el fluido presenta resistencia al movimiento debido a las fuerzas viscosas (burbujas más grandes provocan Re más grandes) (Bird, 1992). Los resultados obtenidos muestran que los distribuidores A y B proveen de agitación competente al BCB, sin embargo es pertinente recordar que el distribuidor A es más predecible que el B (sección 6.1.4.).

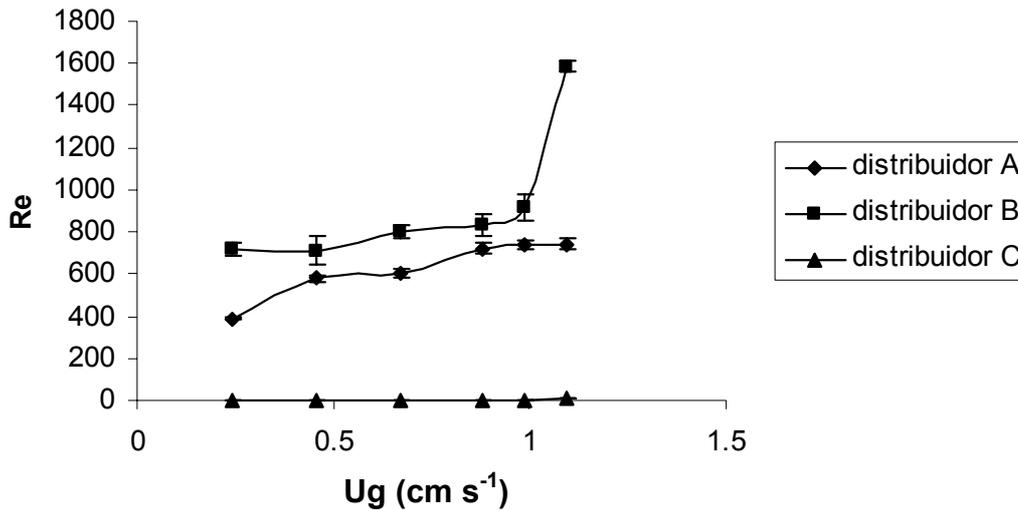


Figura 14. Re en función de U_g para los tres distribuidores en medio modelo.

En esta sección, se ha determinado que el diseño del distribuidor tiene una influencia directa sobre el SMD, y consecuentemente los procesos de transferencia de masa (recordar que el SMD está relacionado inversamente al área específica de transferencia de oxígeno en la burbuja), y los procesos de agitación-mezclado (el Re es una medida de la agitación en el BCB), con lo que se posee de los criterios que permitan seleccionar el distribuidor de gas más idóneo para el BCB.

6.1.6. Selección del distribuidor de gas.

En la sección 6.1.4. se estableció que el distribuidor A era en general más predecible que B y C, sin embargo el distribuidor C presentó un alto coeficiente de determinación para los valores de ε_g en función de U_g y menores coeficientes de determinación para los de SMD en función de U_g . En la sección 6.1.5. se descartó el distribuidor C pues no proporciona una agitación competente (los fenómenos de transferencia de masa de la fase orgánica a la acuosa se podrían ver afectados negativamente), ya que produce valores de Re al menos

dos órdenes de magnitud más bajos que A y B, aunado al hecho de que provoca problemas de operación (Figura 13). Al descartarse C y puesto que A es mas predecible que B, el distribuidor A se seleccionó para utilizarse en los experimentos en el sistema biótico.

6.2. Pérdidas de hidrocarburos residuales totales por volatilización.

Las pérdidas de hidrocarburos residuales totales (HRT) por volatilización se obtuvieron corriendo experimentos en el medio modelo abiótico en las mismas condiciones que en las que opera un ciclo del medio biótico. Los HRT son aquella fracción de hidrocarburos que se encuentra presente en el medio después de un cierto tiempo. Cada ciclo del BCB comenzó con $13,000 \text{ mg L}^{-1}$ de hidrocarburos y se consideró pertinente evaluar las pérdidas por volatilización para no sobrestimar el consumo de hidrocarburos por biodegradación. En la Figura 15, se muestra que las pérdidas por volatilización fueron menores al 2 %.

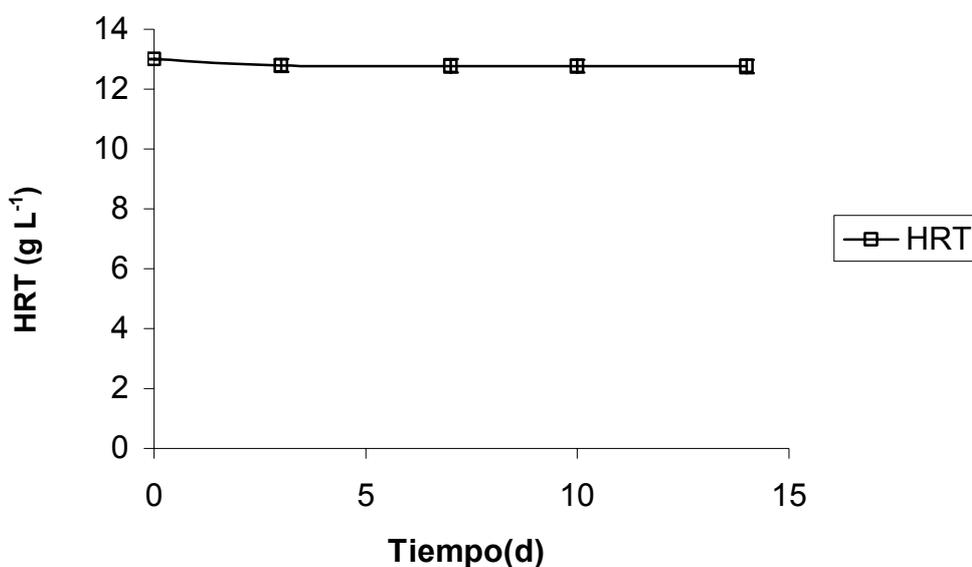


Figura 15. Evolución de las pérdidas de HRT por volatilización con respecto al tiempo

6.3. Diseño y evaluación del sistema biótico.

El objetivo de esta sección experimental fue diseñar y evaluar el sistema biótico en el BCB durante la biodegradación de una mezcla de crudo maya y hexadecano (1:1 p/p), con un

inóculo constituido por un consorcio microbiano con edad fisiológica y actividad constantes, el cuál, se cultivó en el medio mineral descrito en 5.1.3 y a una concentración total de la mezcla de hidrocarburos de $13,000 \text{ mg L}^{-1}$ y en lotes secuenciados (ciclos) de 14 días.

En la Figura 16, se muestran las concentraciones de los sólidos suspendidos (SS), los hidrocarburos totales residuales (HRT), el hexadecano (HXD) y el carbono orgánico soluble (COS) en función del tiempo.

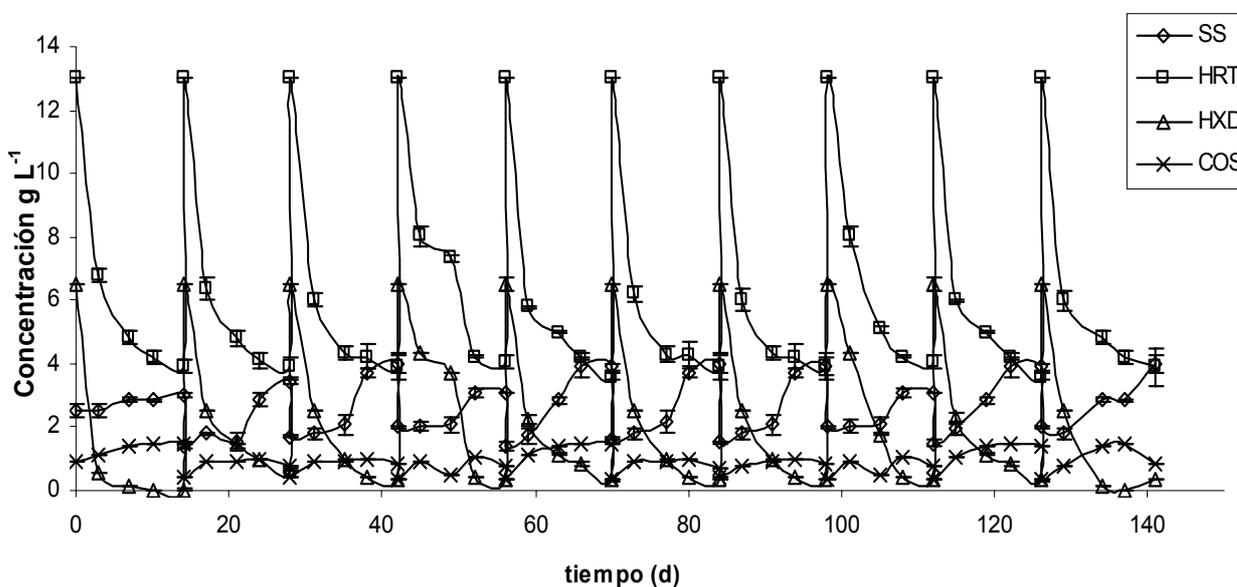


Figura 16. Producción de SS y COS, y biodegradación de HRT y HXD durante 10 ciclos de 14 días para el BCB de lote secuencial utilizado como productor de inóculo.

Se observa un comportamiento periódico en donde cada inicio de ciclo se corresponde con el valor más alto de HRT y HXD, y los más bajos de SS y COS. Conforme transcurre el ciclo, los HRT y el HXD disminuyen mientras que SS y COS aumentan. Los resultados de la Figura 16 indican que se biodegradaron alrededor de 9 g L^{-1} de HRT (de los 13 g L^{-1} adicionados originalmente que se constituyen de 6.5 g L^{-1} de petróleo y 6.5 g L^{-1} de HXD), para cada ciclo. Al mismo tiempo, se consumió todo el HXD lo que significa que de los 6.5 g L^{-1} de petróleo crudo maya que fueron adicionados originalmente, el consorcio microbiano consumió alrededor de 2.5 g L^{-1} durante un ciclo de 14 d. En los primeros días en cada ciclo, la concentración de HRT disminuyó rápidamente, la concentración de SS

mostró una fase de crecimiento lento y se produjo un aumento del COS, que después se mantiene prácticamente constante, esto permite concluir que en los primeros días de cada ciclo la fuente de carbono no se utiliza para el crecimiento del consorcio microbiano, sino para la producción de COS. En trabajos realizados con el mismo consorcio microbiano (Quijano-Govantes, 2006) se encontró que en los primeros días del ciclo la tensión superficial disminuye drásticamente, esto sugiere que los metabolitos que constituyen el COS probablemente tienen propiedades surfactantes. El rendimiento en gramos de sólidos suspendidos por gramo de hidrocarburos consumidos (como promedio del final de los diez ciclos de 14 días, mostrados en la Figura 16) fue de 0.26 ± 0.03 , el error estándar sugiere que la eficiencia biodegradadora de los microorganismos que se cultivan se puede considerar constante. La biodegradación de hidrocarburos fue de 69.20 ± 0.04 %. Estudios previos (Palittapongarnpim y col., 1998) trabajando con la biodegradación de petróleo crudo ligero tapis mediante consorcios microbianos obtuvieron una biodegradación del 66 %, en cinéticas más prolongadas (30 d, aunque encontraron una levadura dentro del consorcio microbiano que era capaz de biodegradar el 83.7 % del petróleo en 7 d). En nuestro trabajo la tasa de biodegradación de HRT fue de 642.82 ± 5.19 mg L⁻¹d⁻¹ y la tasa de formación de COS asociado con la biomasa de 49 ± 3.1 mg L⁻¹d⁻¹. Investigaciones anteriores (Medina-Moreno y col., 2005), estudiando la biodegradación de una mezcla de petróleo crudo maya con parafinas (de entre 10 y 28 carbonos) por un consorcio microbiano, reportan para las mismas variables, valores de 460 mg L⁻¹d⁻¹ y 198 mg L⁻¹d⁻¹ respectivamente. La tasa de formación de COS es menor en nuestro trabajo, esto se puede explicar considerando que la mezcla de hidrocarburos reportada en su trabajo es más compleja, desconociéndose la proporción de las parafinas involucradas, además estos investigadores reconocen que su sistema estaba limitado por oxígeno, lo que produjo una alta transformación de hidrocarburos a formas más solubles, afirmando que el COS puede estar relacionado con hidrocarburos oxidados tales como ácidos orgánicos alifáticos, diácidos y cetonas aromáticas. Trabajos realizados estudiando la biodegradación de HXD por *Pseudomona aeruginosa* (Sekelensky y Shreve, 1999) obtuvieron una tasa de biodegradación del hidrocarburo de 768 mg L⁻¹d⁻¹, que es mayor a la nuestra probablemente por que la nuestra es una mezcla más compleja

Al final de cada ciclo, se drenó la mitad del BCB, el caldo de cultivo remanente fue usado como inóculo en el siguiente ciclo y se restauraron las condiciones de operación originales del BCB.

En esta etapa del trabajo experimental se generó un cultivo del cual se obtuvo un inóculo para llevar a cabo los estudios de variación de ε_g y su efecto en la producción de un consorcio microbiano biodegradador de petróleo. Es pertinente aclarar, que se tomaron inóculos del BCB descrito en esta sección, y que para cada inoculación en las pruebas que a continuación se describen se cultivó con HXD como única fuente de carbono, asumiendo que el consorcio microbiano no pierde su capacidad biodegradadora de petróleo.

6.4. Evaluación del efecto del coeficiente de retención de la fase gaseosa en la producción de consorcios microbianos biodegradadores de petróleo.

6.4.1 Coeficiente de retención de la fase gaseosa y tensión superficial.

El objetivo de esta sección es mostrar que el ε_g se mantiene prácticamente constante a lo largo de las cinéticas ensayadas (en tanto que la tensión superficial (σ) se modifica en el transcurso del tiempo). La Figura 17, muestra el comportamiento del ε_g como una función de la U_g , para tres diferentes valores de σ : el agua ($\sigma = 76 \text{ dinas cm}^{-1}$), el sistema biótico al inicio de cada cinética ($\sigma = 64 \text{ dinas cm}^{-1}$), y el sistema biótico al final de la cinética ($\sigma = 51 \text{ dinas cm}^{-1}$). En el agua se observa que a partir de una U_g de 0.7 cm s^{-1} , ε_g presenta valores menores en comparación con el medio biótico (consistente con 6.1.3.). También se observa que el ε_g en el medio biótico al inicio y final de la cinética se mantiene constante. Se desarrolló una correlación, con un coeficiente de determinación de 0.85, tomando los datos para los experimentos bióticos de la Figura 17 (Ecuación 6).

$$\varepsilon_g = 0.05U_g^{0.73} \dots\dots\dots (6)$$

Reportes en la literatura han encontrado valores del exponente de estas funciones que van de 0.7 a 1.2 para el régimen homogéneo, y de 0.4 a 0.7 para el heterogéneo (Behkish y col., 2002).

Aunque el valor de 0.73 del exponente sugiere que se trata de régimen homogéneo (burbujas pequeñas ascendiendo sin coalescer), es necesario no perder de vista que cada experimento en BCB presenta diferencias en la determinación de intervalos para definir la naturaleza del régimen, es decir no se puede afirmar que en el caso del presente estudio el valor del exponente entre 0.7 y 1.2 defina necesariamente un régimen homogéneo.

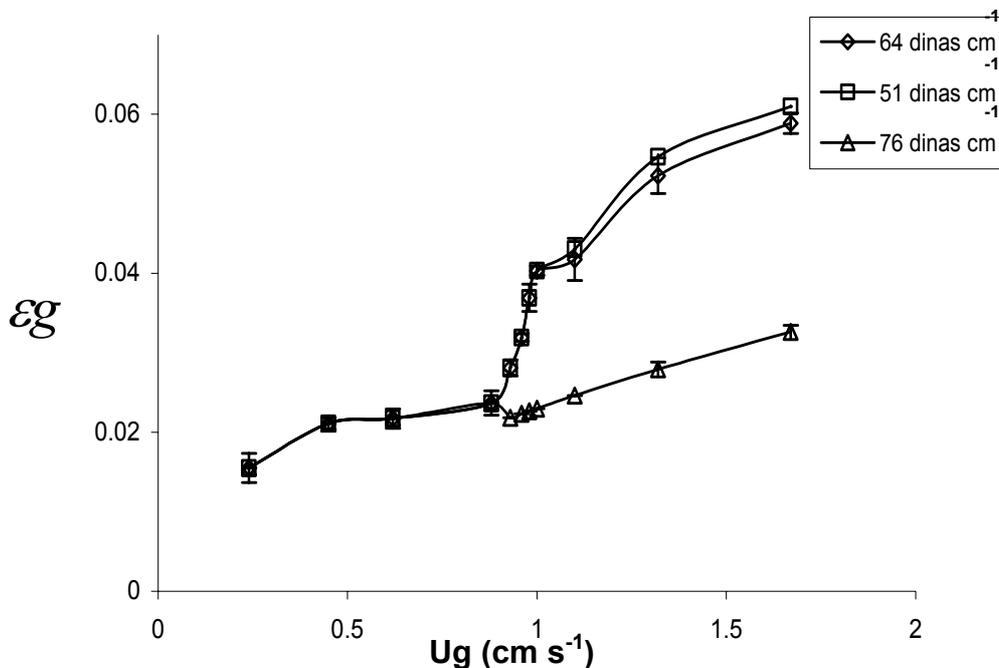


Figura 17. Coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g) en función de U_g a distintos valores de tensión superficial.

En el presente trabajo es más conveniente un régimen heterogéneo pues al presentar burbujas mas grandes la agitación mejora, las burbujas mas grandes implican un menor coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno de la fase gas a la fase líquida, sin embargo trabajos previos (Quijano-Govantes, 2006) demostraron que la tasa de transferencia de HXD es el paso limitante. Mejor agitación implica reducción en el diámetro de gota del HXD y por lo tanto un aumento en la tasa de transferencia de HXD.

La Ecuación 6 es la misma que se obtuvo trabajando con el medio modelo (tabla 3, distribuidor A en medio modelo), es decir la ecuación que se obtuvo en el medio modelo fue capaz de predecir los resultados en el medio biótico, más aun, los experimentos en el medio biótico manejan un rango de U_g mas amplio (0.2-1.7 cm s⁻¹) que los empleados en el medio modelo (0.1-1.1 cm s⁻¹) y aun así la ecuación siguió prediciendo valores acertadamente. La Ecuación 6, puede utilizarse para predecir valores de ϵ_g en los

subsecuentes ensayos. En la Figura 17 se mostró que en el medio biótico el ε_g en función de U_g mantiene un comportamiento similar a valores de tensión superficial extremos (al inicio y al final de la cinética). Para reforzar lo anterior, la Figura 18 muestra el comportamiento de ε_g a lo largo de dos cinéticas y para dos valores diferentes de ε_g . A pesar de la variación en la tensión superficial después del primer día, el valor de ε_g es prácticamente el mismo a lo largo de todo el tiempo de la cinética. Este comportamiento se puede explicar debido a que la disminución en el tamaño de las burbujas de gas al disminuir la tensión superficial no impacta en variaciones de ε_g en los que la técnica de medición sea sensible. A partir de estos resultados se puede concluir que el ε_g es constante.

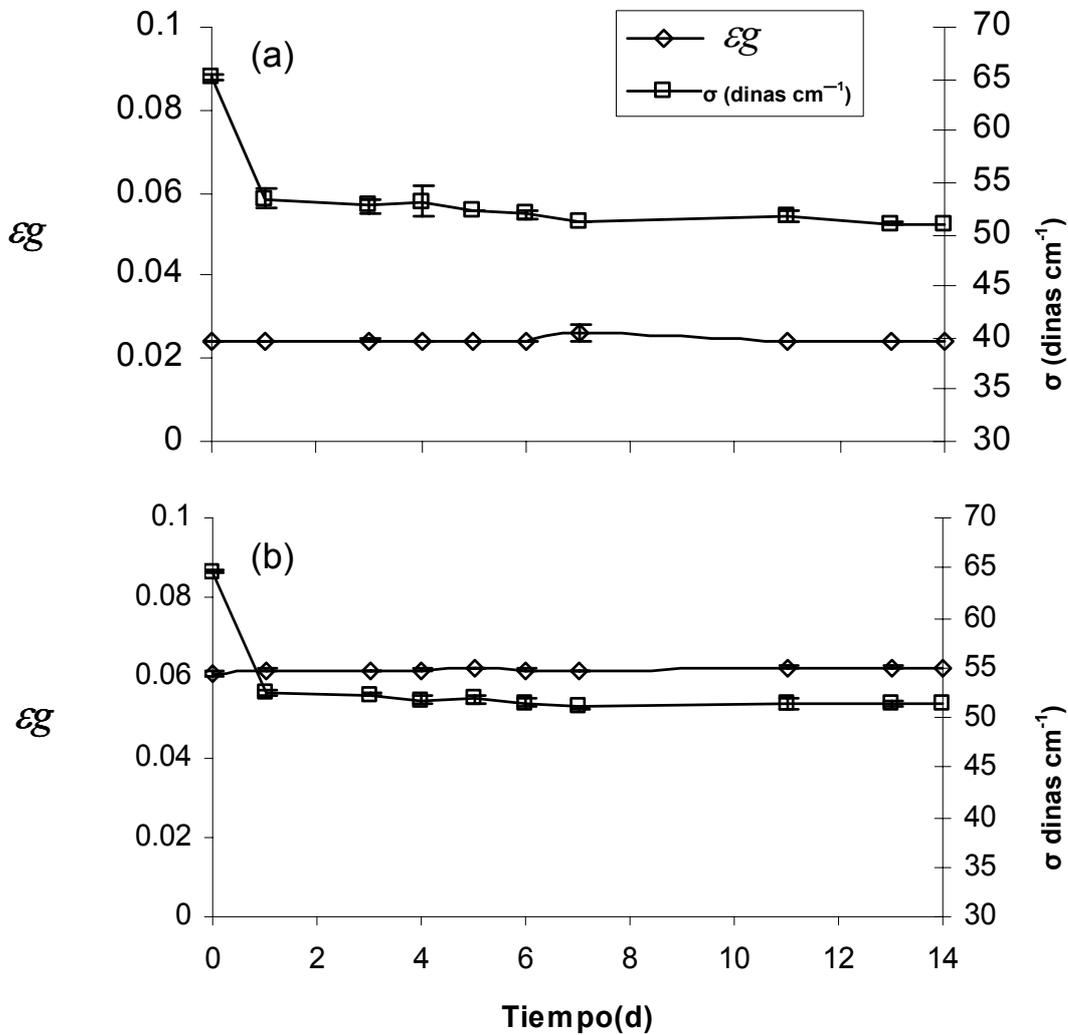


Figura 18. Evolución de ε_g (\diamond) y tensión superficial (\square) con respecto al tiempo, con ε_g inicial de 0.02(a) y de 0.06 (b).

6.4.2. Formación de sólidos suspendidos y biodegradación de hexadecano.

El objetivo en este punto del trabajo, fue determinar el efecto de la variación de εg sobre la producción de SS capaces de biodegradar HXD. Los BCB fueron operados en lotes de 14 días. Para cada BCB se utilizaron inóculos con características constantes provenientes del BCB descrito en la sección 6.3. El nivel de inóculo fue de 0.4 gSS L^{-1} . En la Figura 19 se muestran los resultados para la concentración máxima de SS que se produjeron a distintos tiempos y para diferentes valores de εg (medidos experimentalmente mediante la técnica fotográfica, pero que corresponden a las predicciones de la ecuación 6 y, como se demuestra en la sección 6.4.1., permanecen prácticamente constantes). La Figura 19 indica que para cualquier valor de εg entre 0.02 y 0.06 el resultado en la concentración máxima de SS es prácticamente el mismo, lo que sugiere que los fenómenos de transferencia de masa (kla) y agitación y mezclado (Re) son muy similares en este intervalo de variación de εg . De manera particular, este intervalo es el recomendado en utilizar para el cambio de escala.

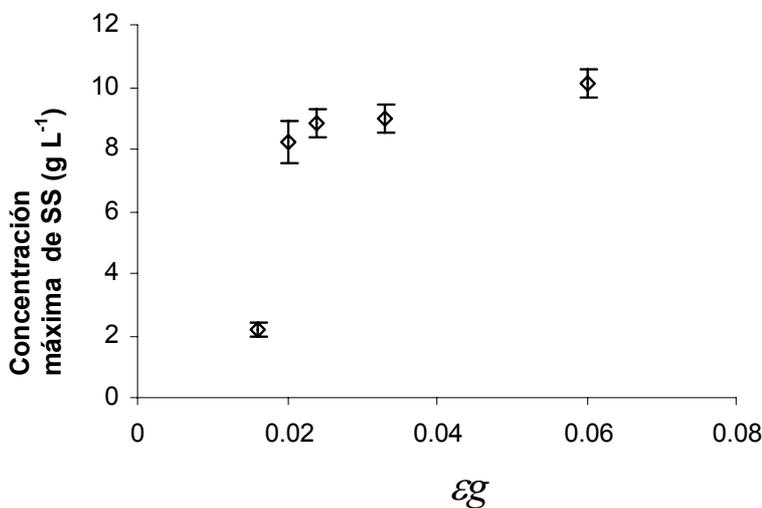


Figura 19. Concentración máxima de SS para diferentes valores εg .

Lo anterior implica que a pesar de que los valores mas grandes de εg suponen una mayor fracción de aire en la columna, no se percibe en este intervalo (0.02-0.06) una limitación por oxígeno en los valores mas bajos. En la Figura 20 (a) se muestra la evolución de la

concentración de SS (que incluye a los consorcios microbianos capaces de biodegradar petróleo) respecto al tiempo. A medida que aumenta ε_g la máxima concentración de SS también aumenta, particularmente a partir de 0.02. Se observa un comportamiento similar para los valores de ε_g entre 0.02 y 0.033, es decir una primera fase de adaptación. Alrededor del tercer día, comienza la fase de crecimiento exponencial para, finalmente alrededor del séptimo día entrar en fase estacionaria. En el caso del ε_g más bajo, aparentemente no se supera la fase de adaptación, debido probablemente a dos factores, la baja aireación y la casi nula agitación al interior del BCB. El comportamiento correspondiente al valor de ε_g más alto, muestra una fase de adaptación menor que los otros casos, y una fase de disminución en la concentración de SS, a la cual los otros cultivos no llegan. Esto probablemente se deba a que niveles mayores de ε_g favorecen la transferencia de masa y de agitación-mezclado, conduciendo a una mayor biodisponibilidad de los sustratos (se generan menores tamaños de gota de HXD y de burbujas de aire). En la Figura 20 (b) se muestran los resultados para la biodegradación de HXD en los diferentes niveles de ε_g . Los resultados para este experimento son congruentes con los de la Figura 20 (a) ya que muestran que al incrementarse los valores de ε_g el sustrato se agota más rápidamente, presentándose para un ε_g de 0.016 la más baja biodegradación. No se observan diferencias significativas entre ε_g de 0.02 y 0.024. La biodegradación es total luego de 14 días para ε_g de 0.033 y 0.06. Trabajos anteriores (Sugiura y col., 1997), estudiando la biodegradación de una mezcla de petróleo crudo por un consorcio microbiano, reportan un valor de 60.0% de biodegradación, el cual se corresponde con un valor de ε_g de 0.016 en nuestros experimentos.

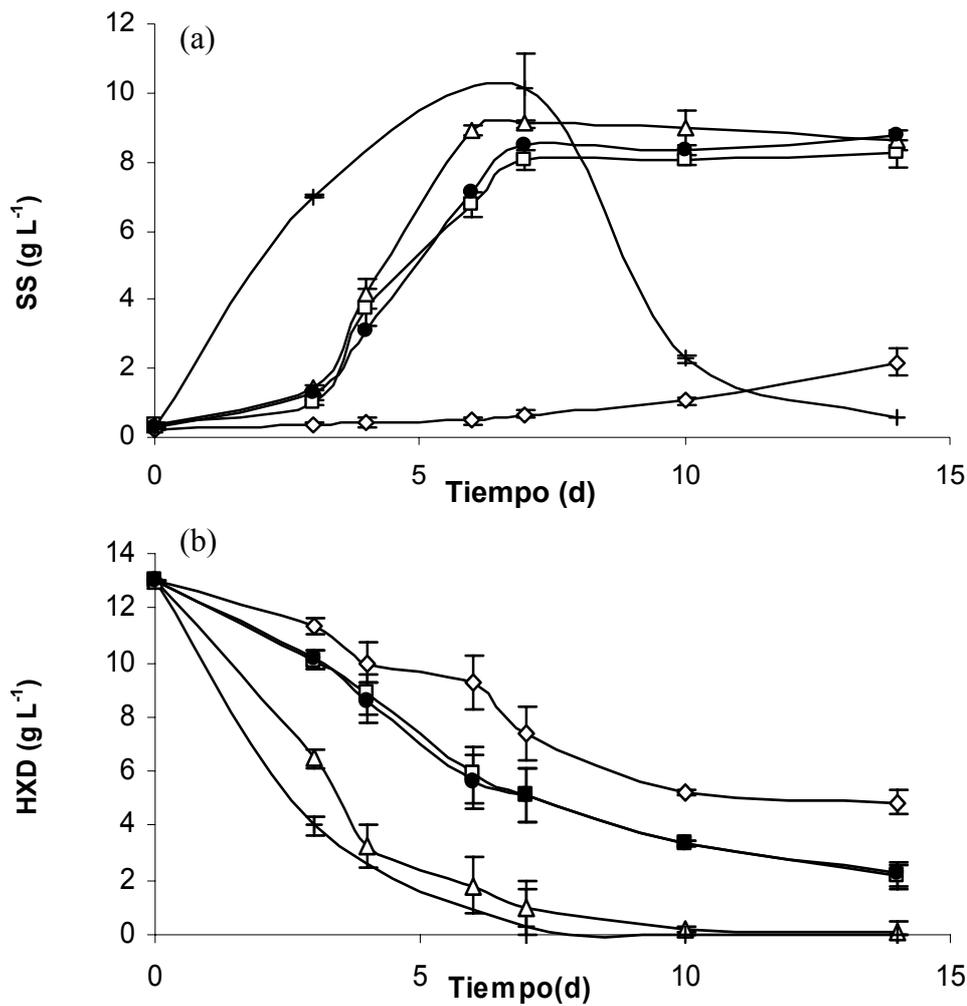


Figura 20. Evolución de la formación de SS (a) y biodegradación de HXD (g L⁻¹) (b) con respecto al tiempo para los valores del ε_g ensayados: (◊) $\varepsilon_g = 0.016$, (◻) $\varepsilon_g = 0.02$, (●) $\varepsilon_g = 0.024$, (Δ) $\varepsilon_g = 0.033$, y (+) $\varepsilon_g = 0.06$

6.4.3. Tasas de formación de sólidos suspendidos y biodegradación de hexadecano.

En la Figura 21 se muestran las tasas de biodegradación de hexadecano (HXD) para los diferentes niveles de ε_g . Las tasas experimentales de biodegradación de HXD se obtuvieron a partir de las pendientes entre cada uno de los puntos de toma de muestra de la Figura 20 (b), es decir se realizó un cociente entre el cambio en la concentración de HXD y el tiempo transcurrido entre cada toma de muestra. La mayor tasa de biodegradación (alrededor de 4 g L⁻¹d⁻¹) se obtiene para el valor de ε_g de 0.033 (día 4), seguido del caso

para ε_g de 0.06, alrededor de $3 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ (día 3), para los valores de ε_g menores la tasa disminuye notablemente. Para todos los valores de ε_g la tasa tiende a cero hacia el final de la cinética Estudios precedentes (Díaz-Ramírez y col., 2003), encontraron tasas de $2.4 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$. Esto se explica no sólo por la diferencia de sustratos utilizados entre ambos trabajos (una mezcla de hidrocarburos alifáticos y aromáticos empleados por Díaz-Ramírez y col., y HXD en el presente trabajo), sino también por el tipo de sistema de agitación y aireación utilizado. En el trabajo de Díaz-Ramírez y col, fueron empleadas botellas serológicas agitadas a 150 RPM, con los consecuentes problemas de transferencia de masa y limitación de oxígeno. Estudios recientes trabajando con BCB (Quijano-Govantes, 2006) obtuvieron una tasa global de $1.2 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ para una cinética de 10 días. Sin embargo, debido que en el cálculo de esta tasa global (Quijano-Govantes, 2006), solo fueron considerados el valor inicial y final de los hidrocarburos, y como se alcanzó una fase estacionaria a partir del 5 día, la tasa de biodegradación de hidrocarburos estimadas fue menor a la que se hubiera determinado tan solo en la fase exponencial de crecimiento.

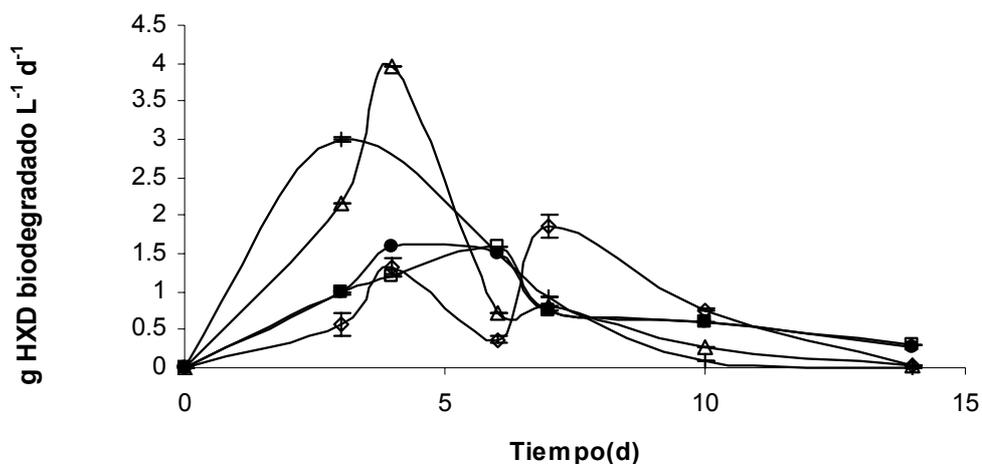


Figura 21. Evolución de la tasa de biodegradación de HXD con respecto al tiempo para los valores del ε_g ensayados: (◇) $\varepsilon_g = 0.016$, (□) $\varepsilon_g = 0.02$, (●) $\varepsilon_g = 0.024$, (Δ) $\varepsilon_g = 0.033$, y (+) $\varepsilon_g = 0.06$.

En la Figura 22, se muestra la tasa de formación de los SS relacionados con la biomasa en función del tiempo. Se observa que el valor más alto en la tasa de formación de SS corresponde para valores de ε_g de 0.02 y 0.033 (aproximadamente $2.7 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$, día 4), aunque para el ε_g de 0.024 la tasa se puede considerar del mismo nivel que las dos anteriores, puesto que en la Figura 20 (a), entre los días 3 y 4, las barras de error no permiten identificar pendientes (y por lo tanto tasas) diferentes para los ε_g entre 0.02 y

0.033. La Figura 22 muestra la caída de esta tasa conforme transcurre la cinética debido al agotamiento del sustrato. La Figura 22 también muestra que la tasa máxima de formación de SS se alcanzó en el día 14 con un valor de ϵg de 0.016, y en los días 6 y 4 para valores de ϵg entre 0.02 y 0.033. Finalmente, la tasa máxima para el valor más alto de ϵg (0.06) se alcanzó al día 3 (es importante mencionar que el valor de la tasa probablemente sea mayor, ya que el intervalo del día 0 al 3 en la toma de muestra, no pudo determinarse el momento de término de la fase de adaptación y el comienzo de la fase de crecimiento exponencial en la cinética). En este nivel de ϵg , día 7, se observó una disminución en los SS, lo que condujo a una tasa negativa. Debe hacerse notar, que para cada cinética se presentó un valor máximo en las tasas de biodegradación o de formación de SS. Estos máximos, se comparan a continuación con los obtenidos mediante el modelo de crecimiento bacteriano de Gompertz (Zwietering y col., 1990).

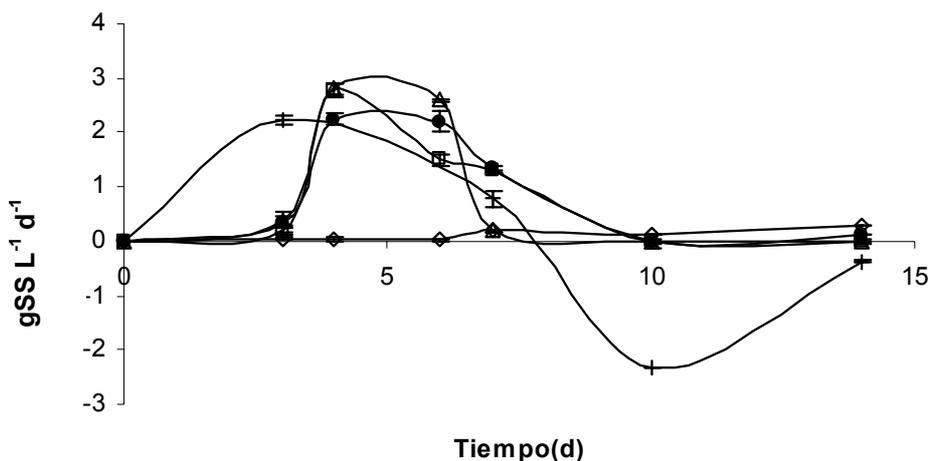


Figura 22. Evolución de la tasa de formación de SS con respecto al tiempo para los valores del ϵg ensayados: (◇) $\epsilon g = 0.016$, (□) $\epsilon g = 0.02$, (●) $\epsilon g = 0.024$, (Δ) $\epsilon g = 0.033$, y (+) $\epsilon g = 0.06$.

En la Figura 23 se comparan las tasas máximas de formación de SS y de biodegradación de HXD (tasas experimentales) con las obtenidas mediante el modelo de crecimiento bacteriano de Gompertz ajustado a los datos experimentales (tasas analíticas) (ver Anexo A). Este modelo arroja una diferencia en la tasa máxima de formación de SS, que según la Figura 22 se alcanzó para ϵg de 0.02 y 0.033 (día 4), mientras que según el modelo de Gompertz la mayor tasa de formación de SS (apenas ligeramente mayor que las del

intervalo 0.02 - 0.033, según el mismo modelo) se alcanzó para el ϵ_g de 0.06. La explicación a esta divergencia se puede deber, a que en el análisis de la Figura 22 se desconocía el tiempo que duró la fase de adaptación, la que de acuerdo a el modelo de Gompertz fue de 0.45 d.

Las ecuaciones lineales que describen las correlaciones mostradas en la Figura 23 para HXD y SS presentan valores para las pendientes de 0.9377 y 1.1851 respectivamente, y para las ordenadas al origen de 0.0133 y 0.1342 (en términos prácticos son rectas de 45° que pasan por el origen). El coeficiente de determinación fue de 0.80 para la biodegradación de HXD y 0.94 para la formación de SS.

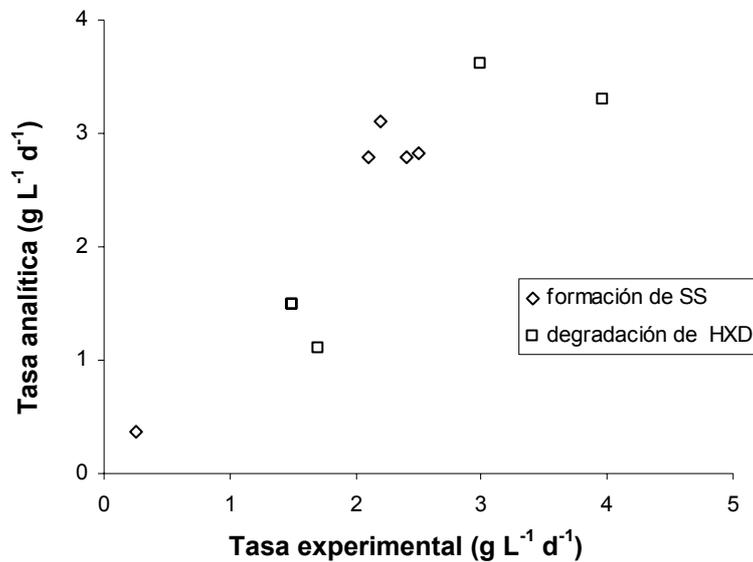


Figura 23. Comparación entre las tasas máximas experimentales y las tasas analíticas, estas últimas obtenidas por el modelo de Gompertz (Zwietering y col., 1990)

Los resultados obtenidos a partir del manejo de los modelos de Gompertz para las tasas máximas de formación de SS y biodegradación de HXD tienen valores similares a los experimentales, por lo que se puede decir que bajo las condiciones y en los intervalos de ϵ_g ensayados, el modelo de Gompertz es una buena herramienta para predecir los valores de las tasas máximas de formación de SS y de biodegradación de HXD (mas adelante, con este modelo se obtendrán las tasas máximas en los experimentos en las diferentes escalas).

En conclusión, si el objetivo es obtener una tasa alta de producción de SS, lo idóneo es operar el BCB con un ε_g entre 0.02 y 0.033 (si se atiende a la predicción del modelo de Gompertz se puede incluir el ε_g de 0.06). Sin embargo, es pertinente discutir el comportamiento de los rendimientos de SS y COS con respecto al HXD consumido.

6.4.4. Rendimiento de carbono orgánico soluble y sólidos suspendidos.

En la Figura 24, se muestran los resultados para el COS en los distintos niveles del ε_g con respecto al tiempo. Se observa que el mayor rendimiento de COS se obtiene para los valores más bajos de ε_g . En consistencia con esta observación, Medina-Moreno y col. (2005) al operar un BCB con un consorcio microbiano degradador de hidrocarburos con una fuente de carbono de petróleo crudo maya y parafinas (1:1 p/p), mostraron que la limitación de oxígeno conduce a una alta biotransformación de los hidrocarburos a formas parcialmente oxidadas mucho más solubles en fase acuosa. Trabajos recientes (Quijano-Govantes, 2006), estudiando la biodegradación de hexadecano con un consorcio similar al del presente trabajo, encontraron que dicho consorcio es un buen productor de surfactantes, cuyo efecto es reducir el diámetro de gota del HXD facilitando su biodegradación. En tanto que los resultados obtenidos indican que con los ε_g mas bajos (agitación deficiente y gotas de HXD grandes) se presentaron los valores de producción de COS mas altos, se puede entonces sugerir que los compuestos químicos que se miden en este trabajo como COS, pueden tener propiedades surfactantes que al disminuir la tensión superficial también disminuyen el diámetro de burbuja de aire, aumentando el ε_g (aunque este aumento es marginal, según lo discutido en la sección 6.4.1.).

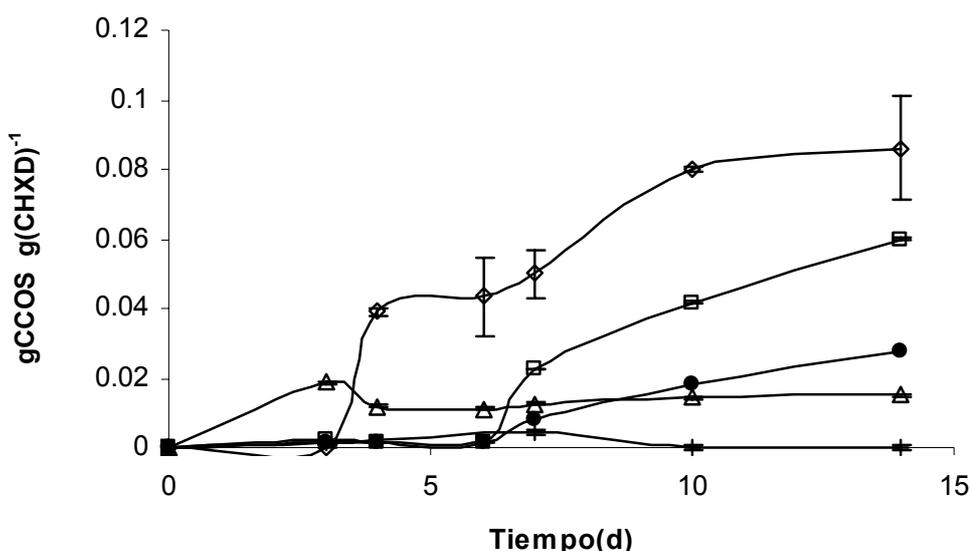


Figura 24. Evolución del rendimiento de gramos de COS por gramo de carbono de HXD con respecto al tiempo para los valores del ϵ_g ensayados: (◇) $\epsilon_g = 0.016$, (□) $\epsilon_g = 0.02$, (●) $\epsilon_g = 0.024$, (Δ) $\epsilon_g = 0.033$, y (+) $\epsilon_g = 0.06$.

En secciones anteriores fueron discutidos de manera independiente los resultados concernientes a la formación de SS y a la biodegradación de HXD. Sin embargo, estas dos variables pueden relacionarse mediante el rendimiento SS/HXD (rendimiento que representa un cociente de las tasas correspondientes). La Figura 25 muestra los valores de este rendimiento expresado en gramos de SS generado por gramo de HXD biodegradado para diferentes días del cultivo. Los valores más altos (aproximadamente de 2.8 gSS (gHXD)⁻¹, día 6) se presentan para el caso de ϵ_g de 0.033 y alrededor de 2.2 gSS (gHXD)⁻¹ para los ϵ_g de 0.016 (día 14), 0.02 y 0.024 (día 7). Para el valor de ϵ_g de 0.06 el rendimiento disminuyó notablemente. Consistentemente con nuestros resultados, estudios realizados para la biodegradación de octadecano por *Nocardia sp* (Raymond, 1999) en un reactor mecánicamente agitado de 2 L obtuvo valores de rendimiento de 0.8 g de biomasa (g hidrocarburo)⁻¹. En otros estudios enfocados en la biodegradación de hidrocarburos poliaromáticos como naftaleno y fenantreno, se obtuvo un rendimiento máximo de 0.73 g de biomasa (g hidrocarburo)⁻¹ (Daugulis y Janikowski, 2002). Los rendimientos de nuestro estudio consideran que los SS están integrados tanto por la biomasa como por los metabolitos no solubles adheridos, lo que implica que se obtengan rendimientos mas altos que aquellos que solo consideran la biomasa.

La actividad del consorcio microbiano probablemente fue afectada por la limitación de oxígeno (debido a la dependencia de la aireación de εg), puesto que para el valor de εg más bajo (0.016) el rendimiento de SS/HXD también se mantuvo en valores bajos en casi toda la cinética. Sin embargo, al final de la cinética el rendimiento aumentó de manera notable debido probablemente a la acumulación de surfactantes. Por otra parte, el rendimiento SS/HXD disminuyó marcadamente para el valor más alto de εg , sin observarse un incremento en el rendimiento del COS/HXD (Figura 24). Esto podría sugerir un incremento en el rendimiento de CO_2/HXD . El hecho de que se incremente el rendimiento de CO_2/HXD sin que lo haga el de SS/HXD, puede interpretarse en que la energía en forma de ATP asociada a la producción CO_2 se emplea como energía de mantenimiento, ocasionado esto por un estrés metabólico del consorcio debido a su vez al valor de εg con que se opero el BCB. Antecedentes directos (Medina-Moreno y col., 2005) encontraron rendimientos de $0.45 \text{ gSS (gHRT)}^{-1}$, sin embargo la diferencia se explica porque en su trabajo los hidrocarburos utilizados fueron una mezcla de petróleo crudo maya y parafinas (de entre 10 y 28 carbonos), y en los nuestros solo HXD, el cual es más fácil de biodegradar.

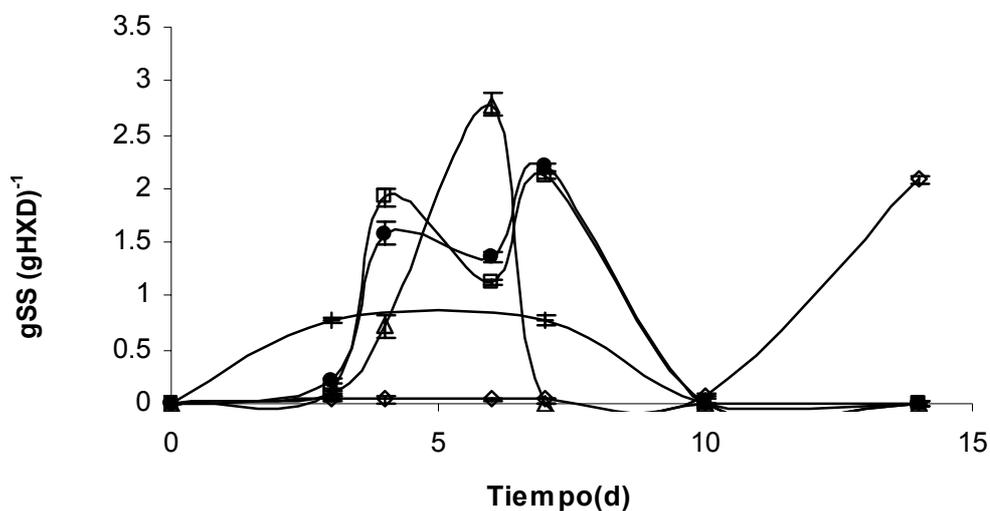


Figura 25. Evolución del rendimiento en gramos de SS por gramo de HXD biodegradado con respecto al tiempo para los valores del εg ensayados: (◇) $\varepsilon g = 0.016$, (□) $\varepsilon g = 0.02$, (●) $\varepsilon g = 0.024$, (Δ) $\varepsilon g = 0.033$, y (+) $\varepsilon g = 0.06$.

El rendimiento (gramos de SS por gramo de HXD biodegradado) es una variable fundamental para la selección del ϵ_g al que se trabaje en las diferentes escalas para la producción del consorcio. El mejor rendimiento se alcanza para ϵ_g de 0.033, sin embargo los ϵ_g de 0.016, 0.02 y 0.024 presentan valores cercanos. El ϵ_g de 0.016 no alcanza una concentración final de SS competente (ver 6.4.2.) y por lo tanto es descartado como valor del criterio para el escalamiento. Para el ϵ_g de 0.33 el rendimiento máximo se alcanza en un solo punto (día 6), mientras que los ϵ_g de 0.02 y 0.024 exhiben rangos de tiempo más amplios, por lo que también se descarta ϵ_g de 0.033. Los valores de ϵ_g de 0.02 y 0.024 son al parecer y después del análisis discutido, los más convenientes como valores para el criterio de escalamiento del BCB. En base a lo anterior, se seleccionó el valor de ϵ_g de 0.024 como el valor del criterio de escalamiento en el que se experimentó a las diferentes escalas del proceso de producción del consorcio biodegradador de hidrocarburos en el BCB.

6.5. Validación experimental del coeficiente de retención de la fase gaseosa como criterio de escalamiento.

El volumen del BCB utilizado hasta este momento previo a los estudios de escalamiento fue de 1.5 L. Concibiendo el escalamiento como la serie de etapas y/o procesos que ayudan a predecir las condiciones de operación a las que debe operar el BCB en una escala diferente a partir de la información que se recoge en una escala experimental disponible, es pertinente formularse las dos siguientes preguntas: i) ¿Cuál es el factor de escala? y, ii) ¿De qué variables depende el criterio de escalamiento en estudio?

El factor de escala (FE) se define como el cociente de dividir el volumen del BCB en la escala proyectada sobre el volumen de operación del BCB en la escala disponible. En el presente trabajo se realizó un escalamiento descendente (0.5 L, FE = 1/3) y uno ascendente (10.5 L, FE= 7). El adjetivo descendente se refiere a que el BCB proyectado tiene menor volumen que el BCB en la escala disponible, en forma análoga, el adjetivo ascendente se refiere a que el BCB proyectado tiene mayor volumen que el de la escala disponible.

El criterio de escalamiento seleccionado es el εg (ver 1.4). Como se ha discutido anteriormente el εg depende de la Ug (ver 6.1.3.). Diversos investigadores han encontrado correlaciones de la forma: $\varepsilon g = bf(Ug)^n$ en donde b depende de la geometría y n de las propiedades del líquido (Behkish y col, 2002; Mehrnia y col., 2005; Kantarci y col., 2005). En el proceso de escalamiento llevado a cabo en el presente trabajo, se mantuvo la similitud geométrica ($H/D = 4$) (misma constante b) y las propiedades del líquido fueron las mismas en las diferentes escalas (misma exponente n). A continuación, se muestra un tratamiento matemático para el uso de εg (en función de Ug) como criterio de escalamiento:

Primero: Se mantiene el mismo valor de εg en ambas escalas $\varepsilon g_1 = \varepsilon g_2$; esto implica:

$$bf(Ug_1)^n = bf(Ug_2)^n$$

En donde el subíndice 1 corresponde a la escala disponible y el subíndice 2 a la escala proyectada.

Segundo: Considerando que Ug se define como el cociente entre el gasto de aire (Q) que se inyecta y el área transversal del BCB (πD^2), y que b y n son las mismas para ambas escalas se tiene que:

$$Q_2 = Q_1 \left(\frac{D_2}{D_1} \right)^2$$

Tercero: Sustituyendo la relación geométrica $H = 4D$ en la definición de Factor de escala (FE):

$$FE = \left(\frac{D_2}{D_1} \right)^3$$

y por lo tanto, el gasto de aire necesario en el BCB proyectado será:

$$Q_2 = FE^{2/3} Q_1 \dots\dots\dots (7)$$

En la Figura 26 se muestra el resultado de utilizar la correlación de la Ecuación 7 para predecir el gasto de aire (Q_2) en los BCB de 0.5 y 10.5 L. El Q_2 de la predicción se obtuvo analíticamente con la correlación de la Ecuación 7, alimentada con los datos experimentales de Q_1 (1.5 L) para diferentes valores de εg . El Q_2 experimental se obtuvo inyectando aire en el BCB hasta alcanzar el εg fijado ($\varepsilon g_1 = \varepsilon g_2$). Las ecuaciones lineales que describen las correlaciones mostradas en la Figura 26 presentan los valores para la pendiente de 1.1656 y 1.1881 (rectas con pendiente cercana a 45°), y para la ordenada al

origen de 0.00004 y 0.0098 (en términos prácticos son rectas que pasan por el origen) para 0.5 L y 10.5 L respectivamente. Los coeficientes de determinación son de 0.98 para la escala de 0.5 L y 0.95 para la escala 10.5 L. Los resultados obtenidos a partir de la aplicación de la Ecuación 7 para predecir Q_2 (Q_2 analíticos) son similares a los de los Q_2 experimentales, por lo que se puede decir que bajo las condiciones y en los intervalos de Q ensayados, la Ecuación 7 es un eficaz herramienta para predecir Q_2 .

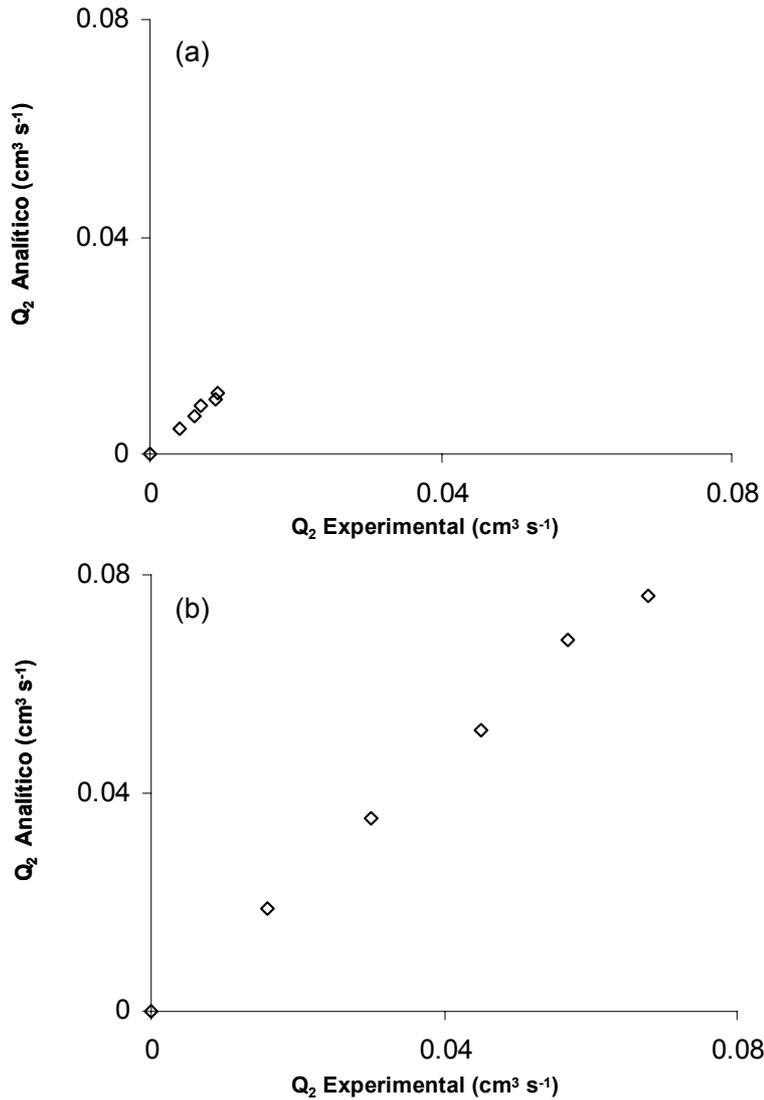


Figura 26. Comparación entre los gastos de aire (Q_2) experimentales y analíticos en a) 0.5 L (FE = 1/3) y, b) 10.5 L (FE = 7).

Con el propósito de generalizar las correlaciones empíricas obtenidas en la escala de 1.5 L (Tabla 3), en las escalas de 0.5 (escalamiento descendente) y 10.5 L (escalamiento ascendente) se desarrolló la siguiente sección.

6.5.1. Parámetros hidrodinámicos en diferentes escalas.

El objetivo de esta sección es comparar algunos parámetros hidrodinámicos obtenidos de manera experimental en los BCB de diferentes escalas (0.5 y 10.5 L) con las predicciones basadas en las correlaciones empíricas obtenidas para la escala de 1.5 L (Tabla 3, distribuidor A), y así evaluar el poder predictivo de dichas correlaciones. En las figuras 27, 28, 29 y 30 la línea continua es la predicción de la correlación empírica.

En la Figura 27 se muestra la relación del SMD en función de U_g para agua en las escalas ensayadas. No se observaron diferencias significativas en el comportamiento del SMD en función de U_g en las diferentes escalas, de tal manera que la correlación empírica obtenida para la escala de 1.5 L (Tabla 3, distribuidor A, SMD en función de U_g para agua) fue capaz de predecir con un coeficiente de determinación de 0.91 el comportamiento del SMD en función de U_g para las tres escalas ensayadas. El hecho de que la Figura 27 muestre que en general a las mismas U_g se obtienen los mismos SMD, sin importar la escala, tiene una implicación notable: conforme crece la escala las burbujas van siendo relativamente mas pequeñas (ya que el cociente que resulta de dividir el SMD entre el diámetro del BCB es menor conforme crece la escala) lo que favorecería a un mayor ϵ_g en la escala ascendente (10.5 L) para la misma U_g .

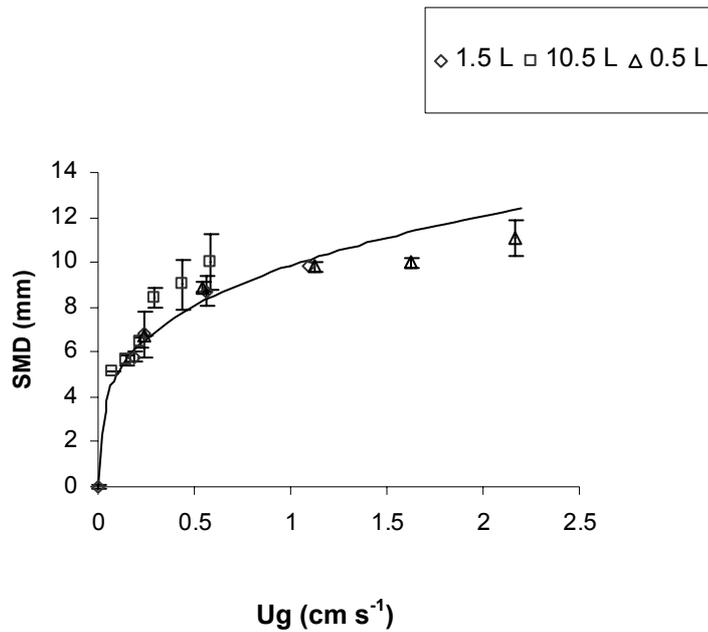


Figura 27. Diámetro promedio Sauter (SMD) para diferentes valores de U_g en las tres escalas ensayadas en agua.

La Figura 28 muestra que el ε_g en función U_g , con agua como fase líquida, no presenta diferencias significativas (para las mismas U_g) en las tres escalas investigadas (con excepción del ε_g para la escala de 1.5 L y U_g de 1.1 cm s^{-1}). Si se observa, al incrementarse la escala del BCB, las burbujas van siendo relativamente mas pequeñas (en base a lo discutido para la Figura 27), con lo que el ε_g debería incrementarse para la escala mayor. Sin embargo, en la Figura 28 se observa que esto no ocurre. Esto puede explicarse debido al efecto de pared, el cual tiende a un decremento en el ε_g para columnas grandes (Daly y col., 1992). Entonces, por un lado burbujas relativamente mas pequeñas en la escala mayor conducirían a ε_g más altos sin embargo, el efecto de la pared compensa esto conduciendo ε_g menores en columnas grandes. De manera consistente con los resultados obtenidos, Krishna y col. (2001) han encontrado en sistemas aire-agua con BCB de 0.1, 0.19 y 0.38 m de diámetro, que el ε_g no cambia con la escala. La correlación empírica obtenida para las tres escalas ensayadas (en la escala de 1.5 L el valor de ε_g fue constate alrededor de 0.015, ver Figura 10) fue capaz de predecir con un coeficiente de determinación de 0.83 el comportamiento del ε_g en función de U_g .

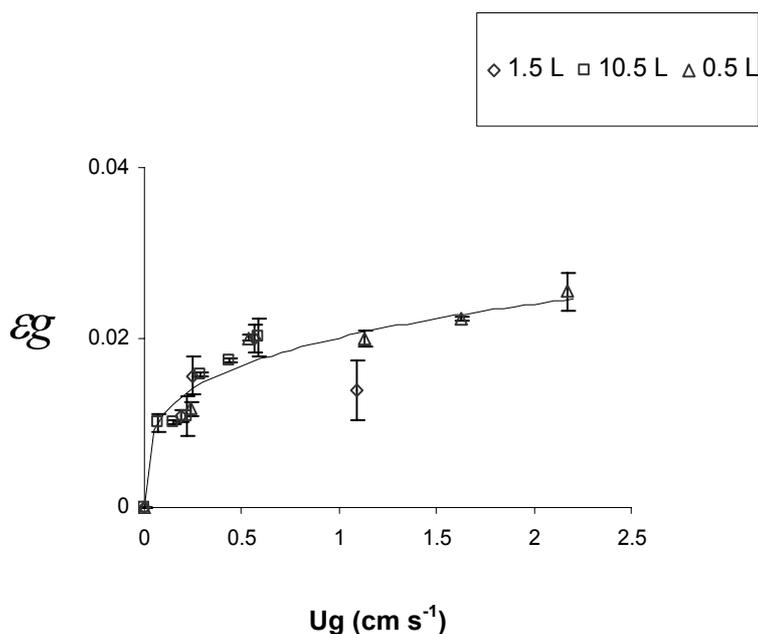


Figura 28. Coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g) para diferentes valores de U_g en las tres escalas ensayadas en agua.

En la Figura 29 se muestran los resultados, para el caso del medio modelo, del SMD en función de U_g , en las escalas ensayadas. No se observaron diferencias significativas en el comportamiento del SMD en las diferentes escalas, probablemente esto se deba a que los FE fueron muy cercanos. La correlación empírica obtenida para la escala de 1.5 L (Tabla 3, distribuidor A, SMD en función de U_g para medio modelo) fue capaz de predecir con un coeficiente de determinación de 0.93 el comportamiento del SMD en función de U_g para las tres escalas ensayadas. Es posible que en trabajos futuros (FE más grandes) se presenten problemas con la agitación debido al tamaño de las burbujas relativamente pequeño.

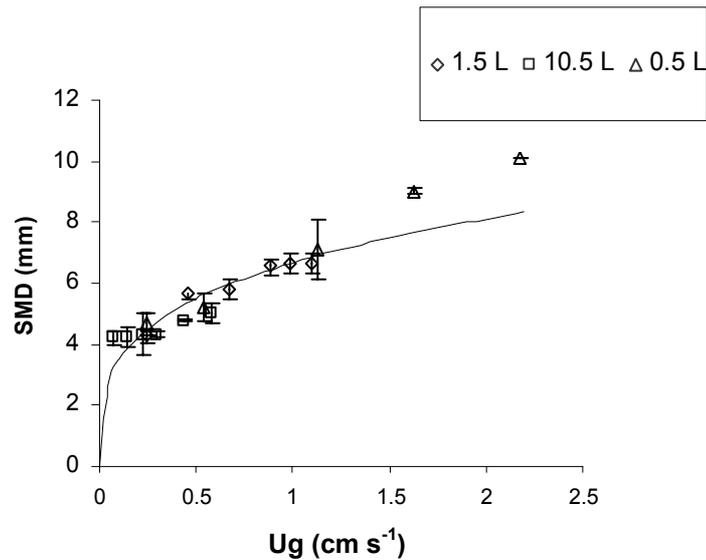


Figura 29. Diámetro promedio Sauter (SMD) para diferentes valores de U_g en las tres escalas ensayadas en medio modelo

En la Figura 30 se presentan los resultados para el ε_g en función U_g , en el medio modelo. La Figura referida muestra en el eje de las abscisas, la variable independiente es decir la U_g y, en el eje de las ordenadas la variable respuesta, es decir el ε_g . Se observa que los valores de ε_g para la escala mayor son ligeramente más grandes, trabajando a las mismas U_g , esto tendría una explicación lógica en el hecho de que las burbujas en esta escala son relativamente más pequeñas que en la escala menor (creció la escala pero no las burbujas) y que debido a las propiedades físicas del medio modelo el efecto de pared no fue tan pronunciado como en el caso del agua. Sin embargo la correlación empírica obtenida para la escala de 1.5 L (Tabla 3, distribuidor A, ε_g en función de U_g para medio modelo) fue capaz de predecir con un coeficiente de determinación de 0.89 (mejor aún que el de solo la escala de 1.5 L) el comportamiento del ε_g en función de U_g para las tres escalas ensayadas. Con estos resultados podemos concluir que la correlación empírica obtenida en la escala de 1.5 L para predecir el ε_g en función de U_g (en medio modelo y biótico) en diferentes escalas es eficaz, de modo que si consideramos que entre los BCB de 0.5 y 10.5 L el FE es de 21, entonces es posible predecir un escalamiento futuro tomando al BCB de 10.5 L como escala disponible y proyectar resultados a un FE de 21, es decir un BCB de 220.5 L.

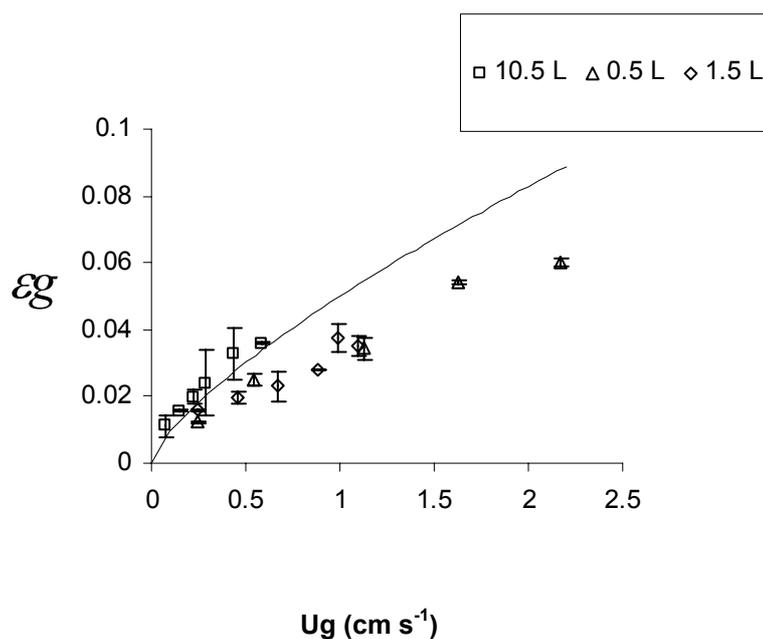


Figura 30. Coeficiente de retención de la fase gaseosa (ϵ_g) para diferentes valores de U_g en las tres escalas ensayadas en medio modelo.

Una vez determinado el efecto del cambio de escala sobre algunos parámetros hidrodinámicos del BCB y generalizado en las escalas de BCB de 0.5 y 10.5 L las correlaciones empíricas obtenidas en la escala de 1.5 L, continuaremos con los experimentos bióticos.

6.5.2. Producción de sólidos suspendidos y biodegradación de hexadecano en diferentes escalas.

Esta sección experimental tiene como objetivo de evaluar los cambios en el sistema biótico cuando se realiza un cambio de escala. En las figuras 31, 32 y 33 la línea continua es la predicción del modelo de Gompertz (basado en los datos de la escala de 1.5 L). En la Figura 31 se muestra la cinética de producción de SS para las diferentes escalas con un ϵ_g de 0.024. No hay variación apreciable con las escalas en cuanto a la producción de SS, similares resultados fueron encontrados (Daugulis y Janikowski, 2002) trabajando la degradación de dos hidrocarburos poliaromáticos (fenantreno y naftaleno) por *Sphingomonas aromactorans* en un escalamiento de 5 a 150 L encontrando que la producción de biomasa tenía el mismo comportamiento en ambas escalas.

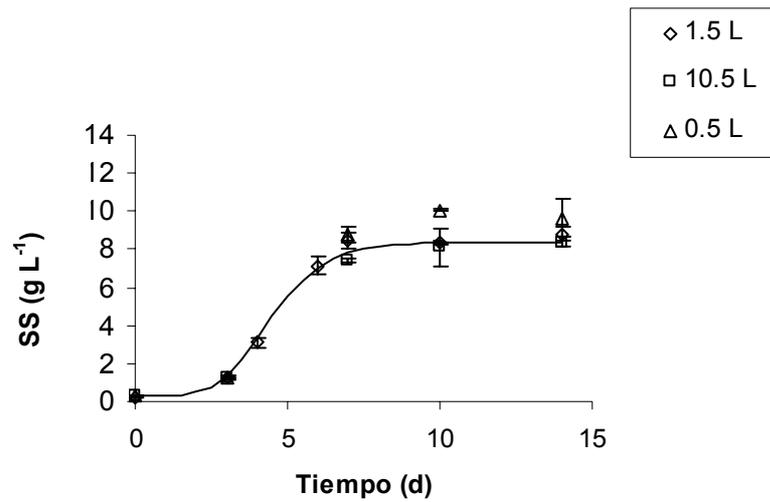


Figura 31. Evolución de la formación de SS con respecto al tiempo para las distintas escalas con ϵ_g de 0.024.

El objetivo de este trabajo es la producción de SS (dentro de los que se encuentran incluidos los consorcios microbianos capaces de biodegradar petróleo). Los resultados de esta sección nos permiten concluir que el ϵ_g es un criterio relevante en el escalamiento de BCB que producen consorcios microbianos capaces de biodegradar petróleo.

En la Figura 32 se muestra la cinética de biodegradación de HXD para las diferentes escalas con un ϵ_g de 0.024, se observa que para la escala mayor (10.5L) se presenta una ligera tendencia a una más rápida biodegradación del HXD.

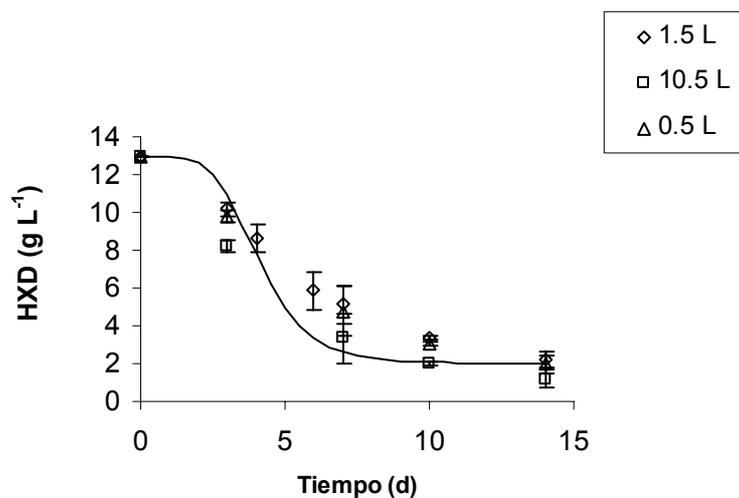


Figura 32. Evolución de la biodegradación de HXD con respecto al tiempo para las distintas escalas con ε_g de 0.024.

El modelo de Gompertz fue capaz de predecir con coeficientes de determinación de 0.84 y 0.90 la producción de SS y la biodegradación de HXD respectivamente, el hecho de que el modelo ajuste bien para el consumo de HXD implica que no solo se puede usar para crecimiento microbiano sino también para describir procesos de biodegradación.

Aplicando el modelo de Gompertz (que como se vio en 6.4.3. es una buena herramienta para predecir la tasas máximas de producción de SS y biodegradación de HXD) para la descripción de las cinéticas de crecimiento microbiano en las escalas 0.5, 1.5 y 10.5 L, se obtuvieron los diferentes parámetros cinéticos para la formación de SS (Tabla 4).

Tabla 4. Parámetros cinéticos obtenidos mediante el modelo de Gompertz para la formación de SS escalas 0.5, 1.5 y 10.5 L

Escala	μ_m (d ⁻¹)	λ (d)	dC/dt (g L ⁻¹ d ⁻¹)
0.5 L	1.19 ± 0.01	1.66 ± 0.11	2.22± 0.09
1.5 L	1.09 ± 0.02	1.66 ± 0.03	2.29± 0.32
10.5 L	1.09 ± 0.02	1.66 ± 0.09	2.24± 0.24

Aplicando el modelo de Gompertz para la biodegradación de HXD en las escalas 0.5, 1.5 y 10.5 L (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros cinéticos obtenidos mediante el modelo de Gompertz para la biodegradación de HXD escalas 0.5, 1.5 y 10.5 L

Escala	$\mu m (d^{-1})$	$\lambda (d)$	$dC/dt (g L^{-1}d^{-1})$
0.5 L	2.31 ± 0.01	0.55 ± 0.01	2.31 ± 0.04
1.5 L	2.32 ± 0.01	0.30 ± 0.01	2.31 ± 0.02
10.5 L	2.57 ± 0.01	0.20 ± 0.03	4.27 ± 0.15

En las Tablas 4 y 5 se muestra que las tasas máximas de formación de SS no varían con las escalas, sin embargo para la biodegradación de HXD se presenta un incremento significativo para la escala mayor. En vista de los resultados anteriores es conveniente analizar el comportamiento de la variable rendimiento en gramos de SS por gramo de HXD consumido. En la Figura 33 se muestra la variación del rendimiento (gramos de SS por gramo de HXD consumido) en función del tiempo, la escala mayor (10.5 L) muestra en general una tendencia a rendimientos más bajos (aunque en el día 14 las tres escalas tienden a un rendimiento nulo). El rendimiento a partir del modelo de Gompertz fue predicho con un coeficiente de determinación de 0.53, y el modelo no fue capaz de predecir los rendimientos nulos que se observan experimentalmente después del día 7. Aunque el modelo no predice rendimiento se puede obtener mediante el cociente de la formación de SS (Figura 31) y el consumo de HXD (Figura 32), también aquí se presenta una tendencia a rendimientos más bajos en la escala mayor (10.5 L) (en el día 7 el rendimiento obtenido a partir del modelo de Gompertz es menor que el experimental para las tres escalas ensayadas pues la pendiente entre el día 4 y 7 para la biodegradación de HXD (Figura 32) es mayor en el modelo de Gompertz que las obtenidas experimentalmente en las escalas ensayadas.) Congruentemente con lo anterior investigaciones previas (Villadsen y col., 2003) encontraron que el rendimiento de biomasa puede decrecer con el escalamiento de los biorreactores, por lo tanto es necesario determinar cual es la razón de la disminución en el rendimiento en gramos de SS por gramo de HXD consumido cuando el biorreactor es llevado a una escala mayor.

¿Se forman gradientes de concentración en este biorreactor?

¿Cambian las poblaciones microbianas con las escalas?

El objetivo de este trabajo es la producción de inoculantes (SS) que satisfagan el mercado de la biorremediación de suelos contaminados con petróleo, en términos económicos no es conveniente que el reactor de la escala mayor consuma más sustrato (HXD), como ocurre en este trabajo, para producir la misma cantidad de SS, es decir que el rendimiento (gramos de SS por gramo de HXD consumido) disminuya.

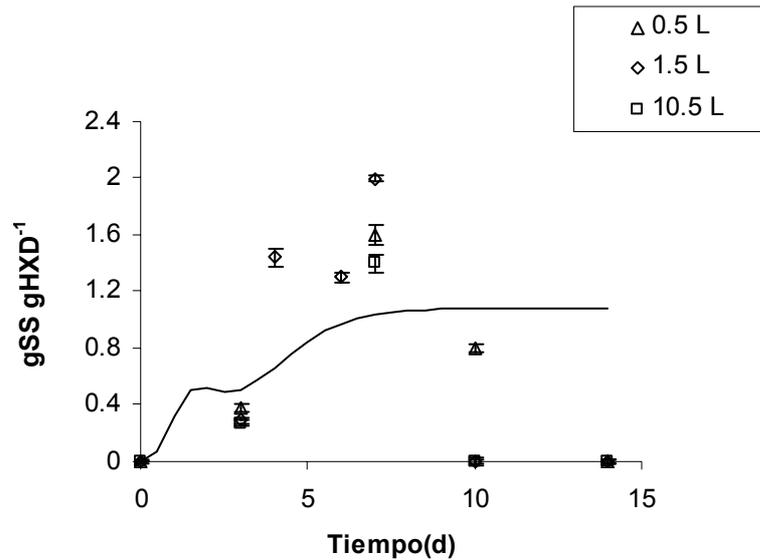


Figura 33. Evolución del rendimiento en gSS gHXD⁻¹ con respecto al tiempo para las distintas escalas con ϵ_g de 0.024

7. Conclusiones.

El distribuidor A (en forma de L, tubo perforado de $\frac{1}{4}$ de pulgada, con 7 orificios de 1 mm de diámetro que expulsan aire hacia abajo) al ser el más predecible y presentar Re altos se seleccionó para los experimentos bióticos.

Las determinaciones experimentales de ϵ_g son confiables, la técnica fotográfica propuesta mostró que los ϵ_g para ser discernibles deben estar al menos a 0.0034 (unidades de ϵ_g) de distancia, en el presente trabajo no se determinaron ϵ_g que estuvieran a menos de 0.0034 (unidades de ϵ_g).

El sistema biótico en el que se ensayaron los diferentes niveles para la variable ϵ_g , y su efecto sobre la producción de SS y la degradación de HXD, estuvo constituido por un inóculo con características constantes (edad fisiológica y actividad).

La mayor concentración final de SS se obtiene para valores de ϵ_g entre 0.02 y 0.06. El modelo de Gompertz es una buena herramienta para predecir los valores de las tasas máximas de formación de SS y de biodegradación de HXD.

El ϵ_g de 0.024 mostró valores de rendimiento (gramos de SS por gramo de HXD consumido) competentes y se seleccionó como aquel en que se experimentó en las escalas diferentes.

La correlación empírica que asocia el ϵ_g en función de la Ug que se obtuvo en la escala de 1.5 L fue capaz de predecir los resultados en las otras escalas, de modo que si consideramos que entre los BCB de 0.5 y 10.5 L el FE es de 21 es posible predecir un escalamiento futuro a 220.5 L, tomando al BCB de 10.5 L como escala disponible.

Experimentando en un nivel de ϵ_g de 0.024, la formación de SS, no varía con las escalas del BCB, de modo que el ϵ_g es un criterio relevante en el escalamiento de BCB que producen consorcios microbianos capaces de biodegradar petróleo en cuanto a sólidos suspendidos, sin embargo se observó una sensible disminución del rendimiento en gramos de SS por gramo de HXD consumido, en la escala mayor (10.5 L).

8. Recomendaciones para trabajos posteriores.

Realizar la determinación de parámetros hidrodinámicos del BCB en la escala mayor (10.5L) por zonas de comportamiento (zona del distribuidor, zona del cuerpo y zona de la cabeza del BCB).

Determinar parámetros de transferencia de masa (kla) en BCB de 10.5 L.

Determinar la variación en los gradientes de concentración a lo largo del BCB, para oxígeno y HXD, en las distintas escalas.

Evaluar cual de los componentes del criterio ϵg (patrón de flujo, relacionado con Re o kla , para oxígeno y HXD) cambia con la escala.

Determinar cual es la razón de la disminución en el rendimiento en gramos de SS por gramo de HXD consumido cuando el BCB se lleva a una escala mayor, ¿ocurren cambios en las poblaciones debido a la formación de gradientes de concentración de los sustratos (oxígeno y HXD)?

9. Referencias bibliográficas.

Bailey J. E. y D. Ollis. 1986. Biochemical Engineering fundamentals. McGraw-Hill. Singapur, pag 489.

Behkish A., Z. Men, J.R Inga y B.I.Morsi. 2002. Mass transfer characteristics in a large-scale slurry bubble column reactor with organic liquid mixtures. Chemical Engineering Science. **57**: 3307-3324.

Bird R.B., W.E. Stewart y E.N. Lightfoot. 1992. Transport Phenomena. John Wiley and Sons. E.U. pag 2-25.

Bisio A. y R.L. Kabel. 1985. Scale up of Chemical Process. Wiley Interscience. E.U. pag 226.

Chen W., A. Tsutsumi, K. Otawara y Y.Shigayaki. 2003. Local bubble dynamics and macroscopic flow structure in bubble columns with different scales. Canadian Journal of Chemical Engineering. **81**: 1139-1148.

Choi K.H., Chisti Y., Moo-Young M. 1996. Comparative evaluation of hydrodynamic and gas-liquid mass transfer characteristics in bubble column and slurry reactors. Chemical Engineering Journal. **62**: 223-229.

Daly J.G., J.G. Patel y D.B. Bukur. 1992. Measurement of gas holdups and Sauter mean bubble diameters in bubble column reactors by dynamic gas disengagement method. Chemical Engineering Science. **47**:3647-54.

Darby R. 1996. Chemical Engineering Fluid Mechanical. Marcel Dekker . E.U. pag 24.

Daugulis. A.J. y T. Janikowski. 2002. Scale up performance for the degradation of polyaromatic hydrocarbons by *Sphingomonas aromativorans*. Biotechnology letters. **24**: 591-594.

Degaleesan S., M. Dudukovic y Y. Pan. 2001. Experimental study of gas induced liquid-flow structures in bubble columns. American Institute of Chemical Engineers Journal. **47** (9): 1913-1931

Deckwer W. 1992. Bubble Column Reactor. John Wiley and Sons. Chichester. pag 126.

Díaz-Ramírez I.J., H. Ramírez-Saad, M. Gutiérrez-Rojas y E. Favela-Torres. 2003. Biodegradation of maya crude oil fractions by bacterial strains and a defined mixed culture isolated from *Cyperus laxus* rhizosphere soil in a contaminated site. Canadian Journal of Microbiology. **49**: 755-761.

Fan L.S., G.Q. Yang, D.J. Lee, K. Tsuchiya y X. Luo. 1999. Some aspects of high pressure phenomena of bubbles in liquid and solid-liquid suspensions. Chemical Engineering Science. **54**: 4681-4709.

Forret A., J.M. Schweitzer, T. Gauthier, R. Krishna y D. Scweich. 2003. Influence of scale on the hydrodynamics of bubble column reactors: an experimental study in columns of 0.1., 0.4 y 1 m diameters. Chemical Engineering Science. **58**: 719 –724.

Godia F. y J. Lopez. 1998. Ingeniería Bioquímica. Ed. Síntesis. España. Pag 308.

Gonzalez-Camacho G., G. Yañez-Rodríguez y M. Bahuer–Ephrussi. 2001. Medio ambiente. Capítulo 5. En: Prospectiva de la Investigación y Desarrollo Tecnológico del Sector Petrolero al año 2025. Instituto Mexicano del Petróleo. México, D. F. Pag 117-133.

Kantarci N., F. Borak y O. Klutlu. 2005. Bubble column reactors. Process Biochemistry. **40**: 2263-2283.

Krishna R., J.M. Van Baten, M.I. Ursenau y J. Ellenberg. 2001. Design and scale up of a bubble column slurry reactor for Fischer-Tropsch synthesis. Chemical Engineering Science. **56**: 537-545.

Lih Y. y W. Teng. 2002. A novel approach for scaling up a fermentation system. *Biochemical Engineering Journal*. **11**: 123-130.

Li H. y A. Prakash. 1997. Heat transfer and hydrodynamics in a three-phase slurry bubble column. *Industrial Engineering Chemical Research*. **36**: 4688-4694.

Li H. y A. Prakash. 2000. Influence of slurry concentrations on bubble population and their rise velocities in three phase slurry bubble column. *Powder Technology*. **113**:158-167.

Lin T.J., K. Tsuchiya y L.S. Fan. 1998. Bubble flow characteristics in bubble columns at elevated pressure and temperature. *American Institute of Chemical Engineers Journal*. **44**: 545-50.

Luo X., D.J. Lee, R. Lau, G. Yang y L.S. Fan. 1999. Maximum stable bubble size and gas hold up in high-pressure slurry bubble columns. *American Institute of Chemical Engineers Journal*. **45**:665-85.

Mashelkar R.A. 1970. Bubble columns. *British Chemical Engineering*. **15**: 1297-1304.

Medina-Moreno S.A., S. Huerta-Ochoa y M. Gutiérrez-Rojas. 2005. Hydrocarbon biodegradation in oxygen limited sequential batch reactors by consortium from weathered oil-contaminated soil. *Canadian Journal of Microbiology*. **51**(3): 231-239.

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

Mouza A. A., G.K Dalakoglu y S.V. Paras. 2005. Effect of liquid properties on the performance of bubble columns reactors with fine pores spargers. *Chemical Engineering Science*. **60**: 1465-1475.

Palittapongarnpim M., P. Pokethitiyook, E.S. Upatham y L. Tangbanlueka. 1998. Biodegradation of crude oil by soil microorganism in the tropic. *Biodegradation*. **9**: 83-90.

PEMEX. 2001. Informe de seguridad y medio ambiente. www.imp.gob.mx

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

Quijano-Govantes G. 2006. Evaluación de los coeficientes de transferencia de masa y de reacción en un biorreactor de tres fases para la degradación de hexadecano. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana.

Raymond R.L. 1999. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. **22**: 206-215.

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

Rocha-Valadez J.A., M. Estrada., E. Galindo y L. Serrano-Carreón. 2006. From shake flasks to stirred fermentors: scale up of an extractive fermentation process for 6-pentyl- α -pyrone production by *Trichoderma harzianum* using volumetric power input. *Process Biochemistry*. **41**:1347-1352.

Sada E. y H. Kumazawa. 1986. Gas hold up mass transfer characteristics in a three phase bubble column, *Industrial Engineering Chemical Process Development*. **25**(2): 472-476.

Sekelensky A.M. y G.S. Shreve. 1999. Kinetic model of biosurfactant-enhanced hexadecane biodegradation by *pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnology and Bioengineering*. **63**: 401-409.

Shimizu K.S, S. Takada, K.Minekawa y Y. Kawase. 2000. Phenomenological model for bubble column reactors: prediction of gas hold-ups and volumetric mass transfer. *Chemical Engineering Journal*. **78**: 21-28

Shah. Y. T., S. P. Godbole y W.D. Deckwer. 1982. Design parameters estimations for bubble columns reactors. *American Institute of Chemical Engineers Journal*. **28**(3): 353-79.

Sugiura K., M. Ishihara, T. Shimauchi y S. Harayama. 1997. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. *Environmental Science and Technology*. **31**: 45-51

Vandu C.O. y R. Krishna. 2000. Influence of scale on the volumetric mass transfer coefficients in bubble column. *Chemical Engineering and Processing*. **43**: 575-579.

Villadsen J., J. Nielsen y G. Liden. 2003. *Bioreaction Engineering Principles*. Kluwer Academic. New York. pag. 477.

Zwietering M.H., I. Jonjenburguer, F.M. Rombouts y K. Van't Riet. 1990. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*. **56** (6): 1875-1881.

**Anexo A. Tasa máximas: aplicación del modelo de
Gompertz.**

En esta sección se obtienen las tasas máximas analíticas de formación de SS y biodegradación de HXD para los diferentes niveles de sg mediante la aplicación del modelo de crecimiento bacteriano de Gompertz (Zwietering y col., 1990) ajustado a los datos experimentales (Figuras 20 (a) y 20 (b)). Para entender la aplicación del modelo de Gompertz es necesario considerar que dado que las bacterias crecen exponencialmente es común describir su crecimiento utilizando el logaritmo del tamaño relativo de la población contra el tiempo (Y) presentada en la Ecuación 1, en donde n_0 y n son las concentraciones de los microbios inicial y a lo largo de la cinética respectivamente, en nuestro trabajo se consideraron como SS_0 y SS . La ecuación de Gompertz (Ecuación 2) describe Y en términos de parámetros matemáticos, (a, b y c) que se relacionan con parámetros biológicos como la tasa específica de crecimiento máxima (μ_m), y el tiempo de la fase de adaptación o fase lag (λ).

$$Y = \ln\left(\frac{n}{n_0}\right) \dots\dots\dots (1)$$

$$Y = ae^{-e^{(b-ct)}} \dots\dots\dots (2)$$

Para obtener el punto de inflexión (en el cual tasa es máxima) de la curva que representa la ecuación 2 se calcula la segunda derivada de Y con respecto al tiempo (Ecuación 3)

$$Y' = ace^{-e^{(b-ct)}} e^{(b-ct)}$$

$$Y'' = ac^2 e^{-e^{(b-ct)}} e^{(b-ct)} [e^{(b-ct)} - 1] \dots\dots\dots (3)$$

Aplicando el criterio de la segunda derivada:

$$\frac{d^2Y}{dt^2} = 0$$

Se obtiene que el tiempo de inflexión es b/c

Una expresión para la μ_m se puede obtener a partir de la primera derivada, evaluada en el punto de inflexión. Relacionando los parámetros matemáticos con los biológicos se obtiene:

$$\mu_m = \frac{ae}{c}$$

$$\lambda = \frac{(b-1)}{c}$$

En la tabla 1 se presentan los resultados de aplicar el modelo de Gompertz para obtener la tasa específica de crecimiento máxima (μm), tiempo de la fase lag (λ). En la tabla 1 también se muestran las tasa máxima de formación de SS, obtenidas del producto de multiplicar la μm por la concentración de SS en el tiempo de inflexión ($dC/dt = \mu m \cdot gSS L^{-1}$) para cada valor de εg (0.016, 0.02, 0.024, 0.033, 0.06), todas con coeficiente de determinación mayor a 0.99. dC/dt es la tasa máxima de formación de SS.

Tabla 1. Parámetros cinéticos obtenidos mediante el modelo de Gompertz para la formación de SS.

εg	$\mu m (d^{-1})$	$\lambda (d)$	$dC/dt (g L^{-1}d^{-1})$
0.016	0.24 ± 0.01	3.02 ± 0.02	0.36 ± 0.01
0.02	1.14 ± 0.01	2.07 ± 0.05	2.29 ± 0.02
0.024	1.09 ± 0.01	1.66 ± 0.03	2.29 ± 0.32
0.033	1.21 ± 0.01	2.01 ± 0.12	2.82 ± 0.30
0.06	1.41 ± 0.01	0.45 ± 0.01	3.11 ± 0.37

En la tabla 2 se presentan los resultados que se obtienen aplicando el criterio de la segunda derivada para encontrar la tasa máxima de biodegradación de HXD mediante el modelo de Gompertz obtenido con los datos experimentales, para todos los casos de εg (0.016, 0.02, 0.024, 0.033, 0.06). dC/dt es la tasa máxima de degradación de HXD. Se realizó un cambio de variable, considerando n como el HXD consumido ($n_0 = 0.01$) pues el modelo de Gompertz es de crecimiento.

Tabla 2. Parámetros cinéticos obtenidos mediante el modelo de Gompertz para la biodegradación de HXD.

εg	$\mu m (d^{-1})$	$\lambda (d)$	$dC/dt (g L^{-1}d^{-1})$
0.016	1.11 ± 0.01	0.02 ± 0.02	1.13 ± 0.07
0.02	1.48 ± 0.04	0.18 ± 0.01	1.53 ± 0.07
0.024	2.32 ± 0.01	0.30 ± 0.01	2.31 ± 0.02
0.033	2.90 ± 0.01	0.10 ± 0.01	3.29 ± 0.01
0.06	1.10 ± 0.03	0.03 ± 0.01	3.81 ± 0.08

Iztapalapa, D.F. a 22 de Marzo de 2007

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

**Evaluación del coeficiente de retención de la fase gaseosa como criterio para el
escalamiento de un biorreactor de columna de burbujas**

Que presentó

I.B.I. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez

Comité Tutorial:

Director: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas Universidad Autónoma Metropolitana.

Asesor: Dr. Gerardo Saucedo Castañeda Universidad Autónoma Metropolitana.

Asesor: Dr. Leobardo Serrano Carreón Universidad Nacional Autónoma de México.

Jurado:

Presidente: **Dr. Ernesto Favela Torres** _____

Secretario: **Dr. Gerardo Saucedo Castañeda** _____

Vocal: **Dr. Sergio Huerta Ochoa** _____

Vocal: **Dr. Alejandro Medina Moreno** _____

