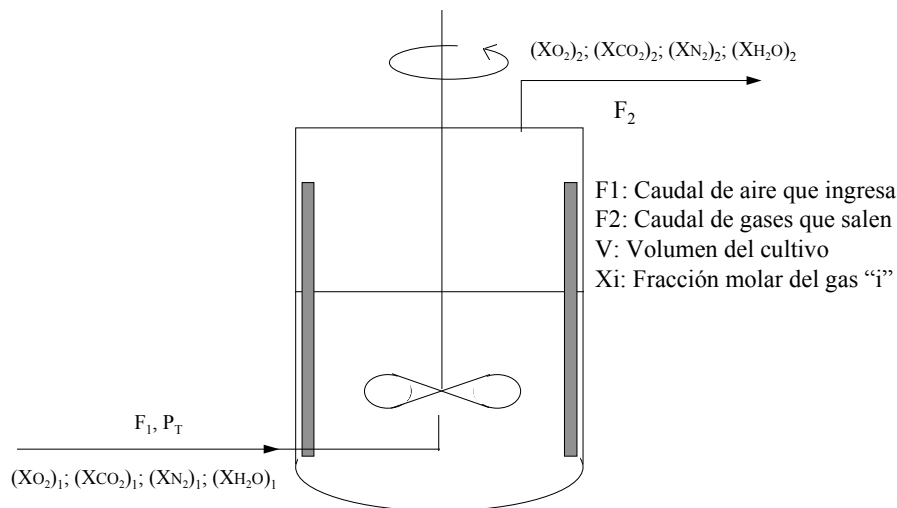


TRABAJO PRACTICO DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERENCIA DE OXÍGENO: K_LA .

En el metabolismo aeróbico el O_2 actúa como último aceptor de electrones, siendo este proceso clave para la generación de energía (ATP).

Debido a la baja solubilidad del O_2 en agua (7 mg/l a $35^\circ C$) y a que los microorganismos son capaces de utilizar solamente el O_2 disuelto, es evidente que éste deberá ser suministrado continuamente al medio de cultivo. Para lograrlo, es necesario transferir O_2 desde la fase gaseosa (normalmente aire) a la fase líquida (medio de cultivo) de modo permanente.

En el diseño de reactores destinados a cultivos aeróbicos es de fundamental importancia tener en cuenta el aspecto mencionado anteriormente. En la Figura 1 puede observarse un tipo de biorreactor (tanque agitado) empleado para la producción en gran escala. El chorro de aire ingresa al biorreactor por debajo del agitador y al ser golpeado por las paletas se transforma en miles de pequeñas burbujas. El primer efecto que se consigue con la agitación es aumentar enormemente el área interfacial gas-líquido facilitando la transferencia de O_2 desde la fase gaseosa a la líquida. La presencia de deflectores impide la formación de vórtice y hace que el sentido de circulación del líquido sea el indicado por las flechas en la figura. De este modo las burbujas no ascienden directamente hacia la superficie sino que quedan temporalmente retenidas por la circulación del líquido. El aumento del tiempo de retención de las burbujas implica un aumento en la transferencia de O_2



De acuerdo a la ley de Henry, la concentración máxima que puede alcanzar un gas en un líquido (su solubilidad) es proporcional a la presión parcial de dicho gas en contacto con el líquido. La expresión que representa a esta relación es

$$C^* = H \cdot P_{O_2}$$

donde C^* es la solubilidad del gas a una cierta temperatura, P_{O_2} es la presión parcial de dicho gas y H es la constante de Henry que, para un sistema gas/líquido dado, depende solamente de la temperatura.

Macroscópicamente, la transferencia de O₂ puede explicarse mediante la ecuación

$$\text{OTR} = K_{L}a (C^{*}-C_{L})$$

donde OTR es la velocidad de transferencia de O₂, K_La es el coeficiente volumétrico de transferencia de O₂, C* es el valor de la concentración de O₂ dado por la constante de Henry y C_L es el valor de la concentración de O₂ en el seno del líquido. La diferencia de estos dos últimos términos es la fuerza impulsora de la transferencia. El K_La es una constante de proporcionalidad que puede tomar diferentes formas dependiendo del modelo que se utilice para explicarla.

MODELO DE LA PELICULA

Este modelo propone que a ambos lados de la interfase entre dos fluidos (en este caso gas-líquido) se establece una película o film estanco, en el cual se concentra toda la resistencia a la transferencia. En dicha película el movimiento del soluto (en este caso el O₂) ocurre por difusión simple, de acuerdo a la ley de Fick que establece que:

$$N_i = -D \frac{dC}{dx}$$

donde N_i es el flujo del componente i en la dirección x (moles de i . área⁻¹ . t⁻¹), D es una constante de proporcionalidad (coeficiente de difusión)

En el caso particular del O₂, la resistencia del film gaseoso es despreciable y el flujo está controlado por la resistencia del film líquido. Un esquema se aprecia en la Figura 2. En este modelo un aumento en la agitación se visualiza como una disminución en el espesor de la película.

En la interfase gas-líquido la concentración de O₂ disuelto C* es la correspondiente al equilibrio con la presión parcial de O₂ en el seno de la fase gaseosa, tal como establece la ley de Henry.

Supongamos que en un momento dado la concentración de O₂ en el seno del líquido C_L es menor que C* y permanece constante en el tiempo (estado estacionario). Si en la película no hay reacción química el flujo de O₂ en estado estacionario será igual en todo punto de la película (desde x = 0 hasta x = L; ver Fig. 2, γ < 0.1). Esto es lo mismo que decir que:

$$\frac{dN_{O_2}}{dx} = 0 \quad (3)$$

y por la ecuación 2

$$-D_{O_2} \cdot \frac{\partial^2 C_{O_2}}{\partial x^2} = 0$$

Si se integra la ecuación entre x=0 y x=L se llega a la expresión:

$$N_{O_2} = D_{O_2} \frac{(C^{*}-C_{L})}{L} \quad 3$$

que da la expresión de la velocidad de transferencia de O_2 a través de la interfase gas-líquido en función del gradiente de concentración de O_2 en el film.

Como L es muy difícil de estimar, suele agruparse como $K_L = D_{O_2}/L$, siendo K_L el llamado coeficiente de transferencia de materia en medio líquido, de esta forma se puede escribir:

$$N_{O_2} = K_L \cdot (C^* - C_L) \quad 4$$

Si se define el área interfacial por unidad de volumen como:

$$a = \frac{A}{V} \quad 5$$

donde A es el área interfacial y V es el volumen de medio líquido, se puede escribir:

$$OTR = N_{O_2} \cdot a \quad (6)$$

combinando 4 y 6 se llega a:

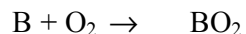
$$OTR = K_L a \cdot (C^* - C_L) \quad (7)$$

Con lo que $K_L a$ adquiere un significado físico según el modelo de la película.

A esta altura cabría una pregunta, ¿cómo es posible suponer que se está transfiriendo O_2 de la fase gaseosa a la líquida y la concentración de O_2 en esta (C_L) permanece constante? el sentido común indica que C_L debería aumentar hasta que finalmente $C_L = C^*$ y, por lo tanto, $OTR = 0$. De hecho esto es lo que sucede llegando finalmente a un estado de equilibrio en el que se cumple la ley de Fick para todo el seno del líquido.

Para que se establezca el estado estacionario es necesario que el O_2 transferido a la fase líquida sea simultáneamente consumido, ya sea por microorganismos o por cualquier reacción química. Sin embargo hay un aspecto que merece la mayor atención.

Supongamos que el líquido contiene una sustancia B que reacciona con el O_2 según



Las moléculas de B estarán uniformemente distribuidas en todo el seno del líquido y también en la película líquida, donde se encontrarán con las moléculas de O_2 que difunden y reaccionan para dar BO_2 . Se pueden dar dos casos extremos, que caracterizaremos mediante el parámetro γ , definido como

$$\gamma = \frac{\text{velocidad de reaccion}}{\text{velocidad de difusion}}$$

a) $\gamma < 0,1$.

En este caso la velocidad de difusión es muy superior a la de reacción y podemos suponer que en la película no hay reacción química, por lo que es válida la ecuación (3) y subsiguientes.

b) $\gamma \gg 0,1$.

Aquí se da el caso inverso, y las moléculas de O_2 reaccionan “muy cerca” de la interfase para dar BO_2 . Naturalmente esto provoca que el perfil de concentración de O_2 dentro de la película (y por lo tanto el gradiente) se modifique tal como se muestra en la Figura 2. En este caso el k'_L estará dado por $k'_L = D_{O_2} / L'$. Es evidente que existirán infinitos valores de k'_L dependiendo de cuán rápida sea la reacción, y en todos los casos se cumplirá que $k'_L > k_L$.

A los efectos de caracterizar el sistema, debemos ubicarnos en el primer caso, donde para un líquido dado y condiciones de aireación y agitación prefijadas existe un único valor de $k_L = D_{O_2} / L$.

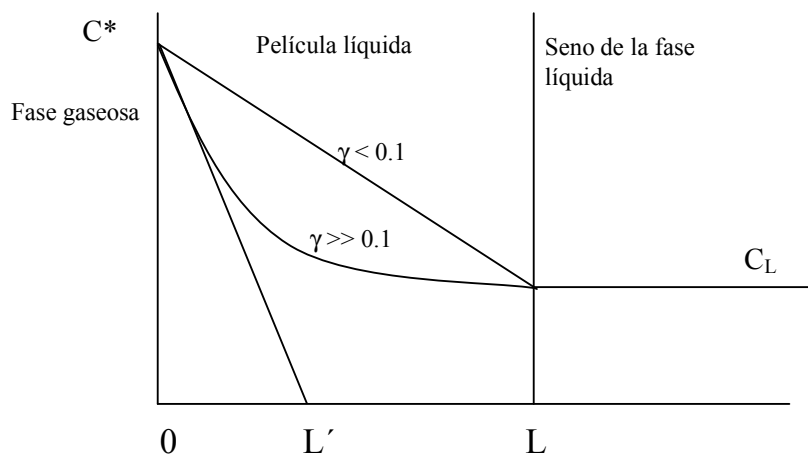


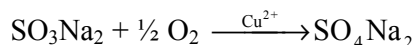
Figura 2.

El valor de k_{La} está directamente relacionado con la eficiencia de un biorreactor para transferir O_2 , ya que para una diferencia ($C^* - C_L$) dada, la velocidad de transferencia depende del valor de k_{La} . Es evidente que si deseamos saber qué tan bueno es un biorreactor para realizar un cultivo aeróbico, debemos medir qué valor de k_{La} lo caracteriza.

Tecnológicamente importa determinar el valor de K_{La} en su conjunto, para tal fin existen una diversidad de métodos. Entre ellos, el método del sulfito es de uso general, el mismo se basa en la reacción entre el sulfito de sodio con el O_2 en medio ligeramente alcalino y en presencia de iones Cu^{+2} o Co^{+2} .

METODO DEL SULFITO

Se basa en que el SO_3Na_2 en presencia de iones Cu^{2+} o Co^{2+} , reacciona rápidamente con el O_2 según la reacción:



Cuando la concentración de Cu^{2+} está en el orden de $0,5 - 2 \times 10^{-3} M$, y el pH se mantiene neutro o ligeramente alcalino, esta reacción es suficientemente rápida como para que en todo momento el valor de C_L sea prácticamente nulo (aunque para que esto se cumpla se requiere además otra condición, que se discutirá más adelante), pero no tan rápida como para que afecte el espesor de la película.

Además se debe cumplir que:

- La velocidad de la reacción no depende de la concentración de SO_3^- (reacción de orden cero). Para ello, ésta debe ser mayor que 0.015 M.

- El volumen ocupado por la película líquida debe ser muy pequeño en relación al volumen total de la fase líquida. Esto hace que el O_2 , luego de difundir a través de la película, pueda reaccionar con un gran volumen de solución de SO_3Na_2 , garantizando así que $C_L = 0$.

En estas condiciones la reacción de oxidación ocurrirá totalmente en el seno del líquido, y la velocidad de la reacción (r) estará controlada por la velocidad máxima de difusión de O_2 , o sea $k_{L,a} \cdot C^*$:

$$r = k_{L,a} \cdot C^*$$

donde r es la velocidad de oxidación del sulfito en el seno del líquido.

Este método, si bien simple, presenta el inconveniente de que soluciones salinas concentradas provocan una disminución en la coalescencia de las burbujas, aumentando, por tanto, el área por unidad de volumen. De este modo el $k_{L,a}$ que se obtiene suele ser mayor que el que se tendrá con líquidos no coalescentes, como lo son, en general, los medios de cultivo.

Si conocemos C^* podemos estimar $k_{L,a}$ a partir de r . La velocidad de oxidación del sulfito puede estimarse de diversos modos. Entre ellos se destacan:

- determinación del sulfito residual en el reactor (por ejemplo, mediante iodometría)
- determinando la velocidad de consumo de oxígeno en la reacción por balance en fase gaseosa.

PARTE EXPERIMENTAL

a) Determinación de la velocidad de transferencia de O_2 en biorreactor por el método de balance gaseoso.

- 1.- Se preparan 3 litros de solución 0.5 N de SO_3Na_2 , se ajusta el pH a un valor alrededor de 8 y se colocan en el biorreactor.
 - 2.- Se agrega el catalizador (SO_4Cu , 1M), hasta alcanzar una concentración final de 10^{-3} M.
 - 3.- Se selecciona el caudal de aire $F = 60 \text{ l.h}^{-1}$, y se ajusta la agitación al valor previamente establecido.
 - 4.- Se aguarda hasta que la lectura del sensor de O_2 se estabilice (10-15 minutos) y registrar el valor leído.
 - 5.- Se modifica la agitación a un nuevo valor y se proceder como en el punto 4
- El procedimiento se repite con al menos tres condiciones de agitación distintas.

Luego de determinadas las tres velocidades de transferencia se agrega en el biorreactor un tensioactivo (detergente) y antiespumante para determinar cualitativamente el efecto de estas sustancias sobre la transferencia de O_2 .

Con los datos obtenidos se pueden determinar las velocidades de consumo de O_2 , realizando el balance de materia en fase gaseosa. Este conduce a la expresión:

$$\text{OTR} = r_{\text{O}_2} = -\frac{F}{V} \times 0.79 \times \frac{P_o}{T} \times \frac{60}{22.4} \times \left[\frac{p\text{O}_{2s}}{1-p\text{O}_{2s}} - \frac{0.21}{1-0.21} \right]$$

La deducción de esta ecuación se encuentra en la guía complementaria.

El valor de $k_L a$ se calcula a partir de la ecuación $k_L a = \frac{r_{O_2}}{C^*}$. Vale aclarar que el valor de 7.5 mg/L dado para C^* vale sólo cuando el gas que está en equilibrio con el líquido es aire (presión parcial de O_2 de 0.21 Atm). En el caso del TP la presión parcial de O_2 estará dada por la composición del gas de salida por lo que en el cálculo de $k_L a$ debe corregirse dicho valor. El valor corregido resulta ser $C^* = C^*_{(21)} \times \frac{\%O_2}{21}$.

Con estos datos se construye un gráfico de $\log k_L a$ vs $\log \text{rpm}$.

b) Determinación de la transferencia de O_2 en erlenmeyer. Método iodométrico.

1.- Se preparan 3 erlenmeyer (por duplicado) con las siguientes características:

- a) Erlenmeyer de 250 mL c/ Baffles con 75 mL de solución de Na_2SO_3 .
- a) Erlenmeyer de 250 mL s/ Baffles con 75 mL de solución de Na_2SO_3 .
- a) Erlenmeyer de 250 mL s/ Baffles con 150 mL de solución de Na_2SO_3 .

2.- Se colocan en el shaker previamente termostalizado a $30^\circ C$ y se agitan a 200 rpm.

3.- Se agrega el catalizador (SO_4Cu , 1M), hasta alcanzar una concentración final de 10^{-3} M. Este momento se toma como tiempo cero de la experiencia.

4.- A intervalos de 1/2 hora se extrae una muestra con pipeta midiendo exactamente 2 mL y se adicionan sobre 3 ml de solución de I_2 (aproximadamente 0,5 N). El exceso de I_2 se titula por retorno con $S_2O_3Na_2$ 0,06 N, con solución de almidón como indicador.

5.- Con los datos obtenidos se grafica el volumen de $S_2O_3Na_2$ gastado en función del tiempo y con la pendiente de dicha grafica se calcula el valor de $k_L a$ empleando la siguiente expresión:

$$k_L a = \frac{1}{C^*} \times \frac{m \times N}{4 \times V_m}$$

donde C^* : solubilidad del O_2

N : concentración del tiosulfato

V_m : volumen de la muestra de Na_2SO_3 .

m : Pendiente