

Determinación de coeficientes de transferencia de calor y masa en un agitador rotatorio para utilizarlo en procesos fermentativos

Determination of heat and mass transfer coefficients in a rotary shaker used in fermentation processes

Mario Arias Zabala¹, Isleny Andrea Vanegas C., y Francisco Vanegas P.

RESUMEN

En este trabajo se determinaron los coeficientes volumétrico de transferencia de oxígeno (k_La) y global de transferencia de calor (Ua) en matraces sometidos a la acción de un agitador rotatorio provisto de una cámara de temperatura controlada. Así mismo, se determinó el efecto que sobre dichos coeficientes producen parámetros como temperatura ambiente, velocidad de agitación, tipo de tapón, volumen de líquido, capacidad del matraz y existencia o no de baffles o deflectores en el matraz, para determinar las condiciones óptimas del agitador. El líquido utilizado fue agua destilada, aunque también se determinaron los coeficientes kLa y Ua en la fermentación alcohólica de glucosa con *Saccharomyces cerevisiae* para efectos de comparación.

Los valores máximo y mínimo de los coeficientes en agua y las condiciones en las cuales se obtuvieron fueron:

k_La de $6.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, a 25°C , 100 rpm, volumen de líquido de 50 ml, matraz de 500 ml, con deflectores y tapón de plástico.

k_La de $4.107 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, a 45°C , 60 rpm, volumen de líquido de 150 ml, matraz de 250 ml, sin deflectores y tapón de algodón.

Ua de $31.9963 \text{ J/min }^\circ\text{C}$, a 45°C , 150 rpm, volumen de líquido de 150 ml, matraz de 500 ml, con deflectores y tapón de algodón.

Ua de $6.0179 \text{ J/min }^\circ\text{C}$, a 35°C , 60 rpm, volumen de líquido de 50 ml, matraz de 250 ml, sin deflectores y tapón de plástico.

Los valores de k_La y Ua , así como las condiciones de operación para la fermentación alcohólica, fueron:

k_La de $2.6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ y Ua de $12.8907 \text{ J/min }^\circ\text{C}$, a 35°C , 150 rpm, volumen de líquido de 150 ml, matraz de 250 ml, con deflectores y tapón de algodón.

Palabras clave: Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, coeficiente global de transferencia de calor, matraz agitado, fermentación alcohólica.

ABSTRACT

In this paper the volumetric oxygen transfer (k_La) and overall heat transfer (Ua) coefficients were determined in flasks which were subjected to rotary shaker action, also provided with a temperature control chamber. Likewise, it was determined the effect over such coefficients of some parameters like surrounding temperature, shaking speed, closure type, liquid volume, capacity and baffles presence or absence in each flask, to determine the optimal work conditions in the rotary shaker. The used liquid in these experiments was distilled water. The k_La and Ua coefficients were also determined in the

1 I. Q., M. Sc. Profesor asociado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, a quien puede ser enviada la correspondencia. E-mail: mearias@perseus.unalmed.edu.co

alcoholic fermentation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae* yeast, in order to establish comparison standards.

The maximum and minimum values of referred coefficients to distilled water and the operation conditions were:

k_La of $6.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, working at 25 °C, 100 rpm, 50 ml of liquid volume, erlenmeyer of 500 ml with baffles and plastic closure.

k_La of $4.107 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, working at 45 °C, 60 rpm, 150 ml of liquid volume, erlenmeyer of 250 ml without baffles and cotton closure.

Ua of 31.9963 J/min °C, working at 45 °C, 150 rpm, 150 ml of liquid volume, erlenmeyer of 500 ml with baffles and cotton closure.

Ua of 6.0179 J/min °C, working at 35 °C, 60 rpm, 50 ml of liquid volume, erlenmeyer of 250 ml without baffles and plastic closure.

The k_La and Ua values in the alcoholic fermentation and the operation conditions were:

k_La of $2.6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ and Ua of 12.8907 J/min °C, working at 35 °C, 150 rpm, 150 ml of liquid volume, erlenmeyer of 250 ml, with baffles and cotton closure.

Key words: Volumetric oxygen transfer coefficient, overall heat transfer coefficient, shaken flask, alcoholic fermentation.

INTRODUCCIÓN

Los matraces agitados constituyen una importante técnica biotecnológica y microbiológica para el estudio de cultivos microbianos. En la actualidad, constituyen uno de los dispositivos más convencionales para el estudio de fermentaciones sumergidas en pequeña escala y para la producción sumergida de vitaminas, enzimas, ácidos orgánicos y antibióticos, a partir de gran variedad de microorganismos; además, está muy generalizada su utilización en las etapas iniciales de producción de inóculo de cultivos que requieren agitación^(1,2). Igualmente, tienen amplia aplicación en la evaluación de procesos de separación primaria, medios de fermentación, condiciones de crecimiento y selección de cepas⁽³⁾.

La información básica que normalmente se obtiene en dichos experimentos comprende la composición del medio, el nivel de aireación, los patrones de pH, así como la transferencia de calor y de masa, en relación con la obtención y rendimiento del producto deseado y con el crecimiento de los microorganismos involucrados en el proceso⁽⁴⁾.

Dada la amplia gama de aplicaciones de los matraces agitados en procesos biotecnológicos, es importante hacer una caracterización de los agitadores más comúnmente utilizados, desde el punto de vista de su capacidad para la transferencia de masa (principalmente oxígeno), de calor y de las principales variables que afectan dichas operaciones de transferencia, con miras a su aplicación en condiciones óptimas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizó el siguiente equipo:

- Agitador rotatorio con capacidad para 16 matraces de 250 o 500 ml, cinco velocidades de operación (60, 100, 150, 200 y 250 rpm) y excentricidad de 1.6 cm de diámetro.
- Cámara de temperatura controlada, con intervalo de operación entre 25 y 55 °C.
- Matraces de 250 y 500 ml de capacidad de dos tipos: convencionales y acondicionados con tres deflectores separados 120°.
- Tapones de algodón de 1 g cada uno y cubiertas de película plástica (vinilpel) de 10 x 10 cm.
- Sensor - medidor de oxígeno WTW EO-96.

La figura 1 representa los tipos de matraces utilizados, así como las áreas de transferencia de oxígeno y calor.

Métodos

Para la determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_La) en agua, se utilizó el mé-

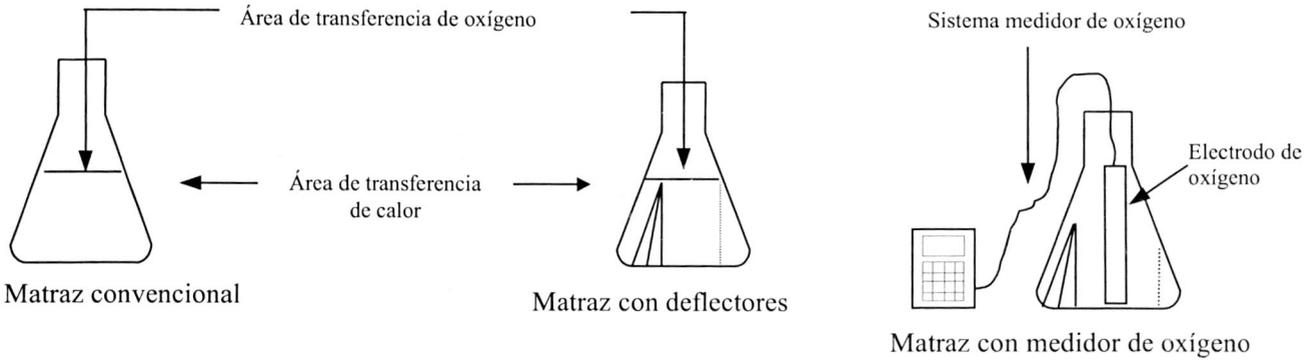


Figura 1. Representación esquemática de los matraces utilizados.

todo de sulfito⁽⁵⁾. El valor de $k_L a$ se puede calcular mediante la ecuación:

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (C^* - C_L) \quad (1)$$

En el caso de la fermentación alcohólica se empleó la técnica dinámica⁽⁵⁾. En este caso $k_L a$ está dado por:

$$k_L a = \frac{\left(\frac{C_{AL} - C_{L1}}{C_{AL} - C_{L2}} \right)}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

La determinación del coeficiente global de transferencia de calor (Ua) se realizó a partir de la medición de la variación de la temperatura del fluido con el tiempo, como se observa en la Figura 2, y de la aplicación de un balance de calor en el medio líquido dado por:

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{dQ_o}{dt} + \frac{dQ_c}{dt} \quad (3)$$

Ecuación que también puede ser expresada como:

Velocidad de transferencia de calor recibido el por líquido	=	Rata de calor generado por agitación	+	Rata de calor transferido desde el exterior
---	---	--------------------------------------	---	---

$$mCp \frac{dT_L}{dt} = \frac{dQ_o}{dt} + Ua(T_\infty - T_L) \quad (4)$$

A partir de la ecuación anterior, es posible obtener el valor de Ua de la pendiente de la recta correspondiente, como se observa en la figura 3.

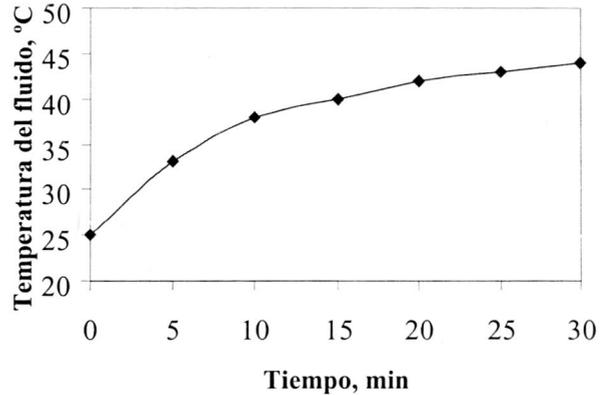


Figura 2. Variación de la temperatura con el tiempo para la determinación de Ua .

DISEÑO EXPERIMENTAL

De acuerdo con las características de los experimentos, su diseño se fundamentó en el modelo estadístico de parcelas divididas⁽⁶⁾, ya que éste permite el tratamiento conjunto de variables cualitativas y cuantitativas, además de ofrecer la posibilidad de establecer un número diferente de niveles para cada variable.

En la tabla 1 se presentan las variables o factores considerados, así como los niveles estudiados de cada uno de ellos.

Tabla 1. Diseño experimental.

Factor	Número de niveles	Especificación de los niveles
Temperatura (°C)	3	25 35 45
Velocidad de agitación (rpm)	3	60 100 150
Tipo de tapón	2	Tapón de algodón Tapón de película plástica
Volumen de líquido (ml)	2	50 150
Tamaño del matraz (ml)	2	250 500
Deflectores	2	Existencia Ausencia

consecuencia, las unidades principales presentan un arreglo factorial 3 x 3, para un total de nueve combinaciones; las subunidades presentan un arreglo factorial 2 x 2 x 2 x 2, que originan 16 combinaciones. Se estableció que al realizar tres repeticiones de cada condición, se logra un buen nivel de confianza y repetibilidad de los resultados.

La programación de los experimentos, en que se tomaron como base las nueve combinaciones de las unidades principales y las tres repeticiones para un total de 27 experimentos, fue completamente aleatoria, al igual que la distribución de las subunidades en el agitador para cada experimento; por tanto los puestos en el agitador son ocupados por matraces cuyas condiciones difieren entre uno y otro experimento.

Los puestos en el agitador son ocupados por matraces cuyas condiciones difieren entre uno y otro experimento.

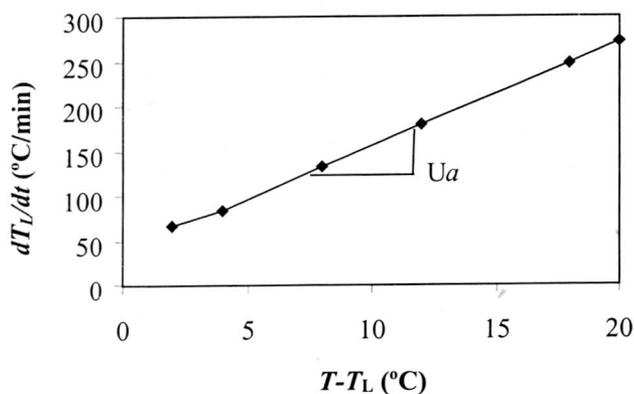


Figura 3. Determinación del valor del coeficiente global de transferencia de calor (U_a).

De acuerdo con la teoría de *parcelas divididas*, por ejemplo unidades o parcelas principales, se tomaron los factores: velocidad de agitación y temperatura, y como subunidades o subparcelas, los factores: tipo de tapón, volumen de líquido, tamaño del matraz y deflectores. En

RESULTADOS

Las tablas 2, 3, 4 y 5 muestran los resultados medios de la variación de los parámetros sobre los coeficientes de transferencia de calor, y de oxígeno para la experimentación con agua.

Las figuras 4 a 7 representan los anteriores resultados en forma gráfica.

En la figura 8, se presenta el resultado de la técnica dinámica aplicada a la fermentación alcohólica para la determinación del coeficiente de transferencia de oxígeno.

Se calculó un valor de $k_L a_{\text{media}}$ de 0.00026 s^{-1} .

En el caso del coeficiente de transferencia de calor, se calcula de igual forma que en la experimentación con agua. El valor determinado para este coeficiente en la fermentación fue $U_{a_{\text{media}}}$ de $12.8907 \text{ J/min } ^\circ\text{C}$.

Tabla 2 .Resultados para los coeficientes de transferencia de masa y calor sobre la velocidad de agitación.

Velocidad			60 rpm	100 rpm	150 rpm
Coeficiente					
U_a (J/min °C)	Sin baffles		12,9083	15,3618	17,8041
	Con baffles		13,5706	17,0328	19,7066
$K_{La} \times 10^3, s^{-1}$	Sin baffles		1,4694	2,1315	2,0022
	Con baffles		1,5070	2,1272	2,1564

Tabla 3. Resultados para los coeficientes de transferencia de masa y calor sobre la temperatura de operación.

Temperatura			25 °C	35 °C	45 °C
Coeficiente					
U_a (J/min °C)	Sin baffles		----	15,3957	15,3204
	Con baffles		----	15,7847	17,7553
$K_{La} \times 10^3, s^{-1}$	Sin baffles		2,8421	1,7446	1,0166
	Con baffles		2,9172	1,8215	1,0520

*Nota: No se realizaron los cálculos correspondientes al coeficiente de transferencia de calor para 25 °C, debido a que ésta es la temperatura media en el sitio de experimentación; por lo tanto no existe gradiente de temperatura entre el líquido y los alrededores, lo cual implica en últimas que no se presente transferencia de calor.

Tabla 4. Resultados para los coeficientes de transferencia de masa y calor sobre el volumen de líquido y el tipo de tapón.

Volumen líquido y tapón			50 ml	150 rpm	Algodón	Plástico
Coeficiente						
U_a (J/min °C)	Sin baffles		12,3318	18,3844	15,2880	15,4282
	Con baffles		13,1656	20,3744	17,8711	15,6689
$K_{La} \times 10^3, s^{-1}$	Sin baffles		2,7705	0,9649	1,8542	1,8812
	Con baffles		2,8825	0,9780	1,8728	1,9876

Tabla 5. Resultados para los coeficientes de transferencia de masa y calor sobre el volumen del matraz.

Volumen matraz		250 ml	500 rpm
Ua (J/min °C)	Sin baffles	14,1500	16,5662
	Con baffles	14,3474	18,7750
$K_{La} \times 10^3, s^{-1}$	Sin baffles	1,7698	1,9656
	Con baffles	1,6753	2,2176

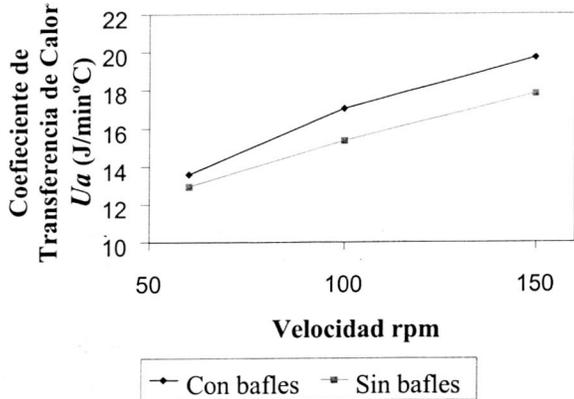


Figura 4. Velocidad de transferencia de calor en matraces agitados para diferentes velocidades de agitación.

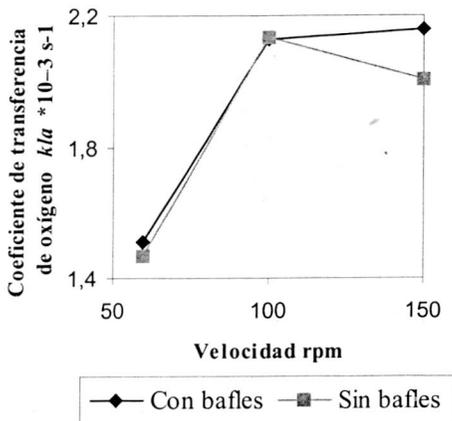


Figura 5. Velocidad de absorción de oxígeno en matraces agitados para diferentes velocidades de agitación.

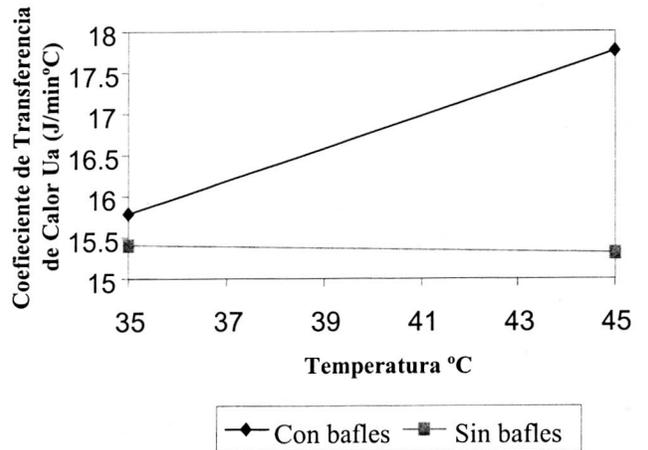


Figura 6. Velocidad de transferencia de calor en matraces agitados para diferentes Temperaturas.

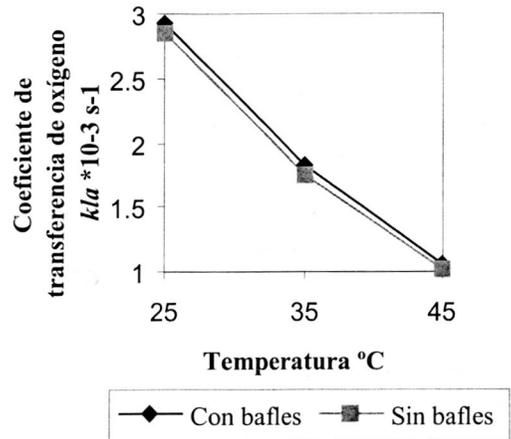


Figura 7. Velocidad de transferencia de oxígeno en matraces agitados para diferentes temperaturas.

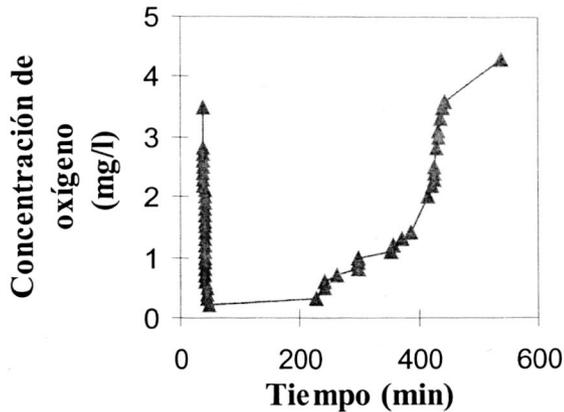


Figura 8. Resultado medio de la técnica dinámica aplicada a la fermentación.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para determinar si la variación de los coeficientes de transferencia, debida al cambio de nivel de los factores, es estadísticamente significativa, se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan a los resultados obtenidos con un nivel de significancia de $0.05^{(7)}$, y se halló que:

Los factores que presentaron influencia significativa sobre el coeficiente de transferencia de oxígeno fueron temperatura, velocidad de agitación, volumen de líquido y tamaño del matraz. Las variables temperatura, volumen de líquido y tamaño del matraz reportaron diferencias considerables en cada uno de los niveles ensayados.

El valor de k_La se favoreció con aumentos en la velocidad de agitación y el tamaño del matraz, con disminuciones en el volumen del líquido y en la temperatura de operación y con la utilización de tapón de plástico y matraces con deflectores.

La mayor influencia sobre el coeficiente de transferencia de oxígeno se presenta con la interacción entre las variables temperatura, velocidad de agitación, presencia de deflectores y tipo de tapón.

Los valores máximo y mínimo del coeficiente de transferencia de oxígeno en agua y las condiciones en las cuales se obtuvieron fueron:

k_La de $6.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, a 25°C , 100 rpm, volumen de líquido de 50 ml, matraz de 500 ml, con deflectores y tapón de plástico.

k_La de $4.107 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, a 45°C , 60 rpm, volumen de líquido de 150 ml, matraz de 250 ml, sin deflectores y tapón de algodón.

Los factores más influyentes sobre el coeficiente de transferencia de calor fueron temperatura, velocidad de agitación, volumen y tamaño del matraz. El valor de Ua aumentó al aumentar la temperatura, la velocidad de agitación, el volumen de líquido y el tamaño del matraz. Su valor fue mayor cuando se utilizaron deflectores y tapón de algodón.

Los valores máximo y mínimo del coeficiente de transferencia de calor en agua y las condiciones en las cuales se obtuvieron fueron:

Ua de $31.9963 \text{ J/min } ^\circ\text{C}$, a 45°C , 150 rpm, volumen de líquido de 150 ml, matraz de 500 ml, con deflectores y tapón de algodón.

Ua de $6.0179 \text{ J/min } ^\circ\text{C}$, a 35°C , 60 rpm, volumen de líquido de 50 ml, matraz de 250 ml, sin deflectores y tapón de plástico.

El valor del coeficiente de transferencia de oxígeno para la fermentación fue casi tres veces menor que el obtenido en estas mismas condiciones con agua ($k_{La_{\text{fermentación}}}$: $2.6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ y $k_{La_{\text{agua}}}$: $7.193 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$).

El valor del coeficiente de transferencia de calor para la fermentación fue del mismo orden de magnitud que el obtenido para estas mismas condiciones con agua ($Ua_{\text{fermentación}}$: $12.8907 \text{ J/min } ^\circ\text{C}$ y Ua_{agua} : $15.6326 \text{ J/min } ^\circ\text{C}$).

CONCLUSIONES

La disminución de la temperatura incrementa el valor de k_La , lo cual tiene como consecuencia directa el aumento en la absorción de oxígeno. Este comportamiento es explicable por la relación inversa que existe entre la solubilidad del oxígeno en el medio y la temperatura de éste.

La velocidad de absorción de oxígeno presentó una leve tendencia a aumentar al mismo tiempo que se iba aumentando la velocidad de agitación.

El volumen de líquido utilizado representó el parámetro cuya variación en sus niveles originó el cambio

más sobresaliente sobre el coeficiente de transferencia de oxígeno. Se presenta mayor transferencia al utilizar menos volumen. La disminución en el volumen aumenta la relación entre el área interfacial y el volumen de líquido, y favorece a su vez la transferencia de oxígeno. Este mismo efecto se puede apreciar al usar matraces de mayor capacidad. Además, para un mismo volumen de líquido, el volumen de aire contenido entre el líquido y el tapón es mayor en matraces de 500 ml. Esto se refleja en una mayor absorción de oxígeno.

La presencia de deflectores en los matraces dio resultados ligeramente mayores de $k_L a$, en comparación con los obtenidos en matraces sencillos. En términos generales, representa una alternativa adecuada cuando se desea evitar la formación de vórtices, un requerimiento muy común en procesos biotecnológicos.

Los tipos de tapón empleados condujeron a resultados prácticamente iguales de $k_L a$, a pesar de diferir tanto en el material como en su ubicación en la sección transversal del cuello de los matraces. Por lo tanto, la utilización de uno de estos tipos de tapón debe atender preferencialmente a suplir otras necesidades, como la facilidad para instalar medidores, dispersores u otra clase de instrumentos, o para tomar muestras para análisis.

Se presenta mayor velocidad de transferencia de calor debido a la existencia de mayor gradiente de temperatura, fuerza motriz en el fenómeno, y a la utilización de una velocidad de agitación más alta, la cual favorece la convección con el incremento en el régimen de flujo.

Para el coeficiente de transferencia de calor, tanto los valores para el volumen de líquido como para el tamaño del matraz reflejaron dependencia muy importante del área de transferencia; en este caso, a través de las paredes del matraz, puesto que fueron mayores cuando se presentó un aumento de dicha área.

El mayor valor del coeficiente de transferencia de calor en matraces provistos de deflectores permitió confirmar la ventaja de utilizarlos con el fin de promover la turbulencia del medio.

El tipo de tapón fue la única variable que individualmente considerada no proporcionó valores significativamente diferentes entre sus niveles, para el coeficiente de transferencia de calor. Este comportamiento se esperaba porque la existencia de tapones se considera una resistencia importante para la transferencia de oxígeno y su influencia es despreciable para la transferencia de calor.

Una comparación del valor del coeficiente de transferencia de oxígeno reportado en la literatura para la experimentación con la levadura utilizada ($k_L a$ de 0.0889 s^{-1})⁽⁸⁾, y el resultado medio obtenido en la fase experimental ($k_L a$ de $2.6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) indica que el sistema de agitación no proporciona por sí solo los niveles requeridos de oxígeno para este proceso en particular, por lo que es necesario implementar un sistema de aireación adicional.

Con respecto al coeficiente de transferencia de oxígeno hallado, se confirmó que el valor correspondiente al proceso fermentativo es inferior al obtenido en la experimentación con agua destilada debido a la presencia de solutos en un medio que, como los azúcares, sales y ácidos, reducen la solubilidad del oxígeno en agua⁽⁹⁾.

Una estimación de las velocidades de transferencia de oxígeno (dc_L/dt) que se podrían alcanzar en el equipo evaluado arrojaría niveles que oscilarían entre 15 y 28 mmol/lit.h (0.25-0.46 mmol/lit.min), calculados mediante la ecuación (1).

Comparando brevemente los anteriores valores con algunos de la literatura más frecuente, por ejemplo Wang y Cooney⁽¹⁰⁾, quienes relacionan la velocidad de transferencia de oxígeno con la velocidad de agitación, se puede observar que predicen valores (35-55 mmol/lit.min) cuyo orden de magnitud es aproximadamente el doble de los hallados en el presente, sin perder de vista las diferencias existentes entre las condiciones experimentales. Por ejemplo, una diferencia muy notoria es que ellos utilizaron un agitador cuya excentricidad es 2,54 cm (0,94 cm más que el evaluado para este trabajo)

En el coeficiente de transferencia de calor, se obtuvieron resultados muy similares en las dos fases experimentales referidas, y se presentó igual orden de magnitud de acuerdo con las predicciones teóricas. Estas indican que en condiciones experimentales semejantes, que involucran el área y el gradiente de temperatura, la velocidad de transferencia de calor es casi igual.

NOMENCLATURA Y DIMENSIONES

C_L : Concentración de oxígeno disuelto en fase líquida, mmol/l

C^* : Concentración de saturación de oxígeno disuelto, mmol/l
con $C^* = 0.2172 \text{ mmol/l}$ y $C_L = 0.140625 \text{ mmol/l}$.

C_{AL} : Concentración de oxígeno disuelto en el estado estacionario, mmol/l

C_{L1} : Concentración de oxígeno disuelto en el tiempo t_1 , mmol/l

C_{L2} : Concentración de oxígeno disuelto en el tiempo t_2 , mmol/l

$\frac{Dc_L}{dt}$: Velocidad de transferencia de oxígeno

t_1 : Tiempo cero
 t_2 : Tiempo t, min
m: Masa de líquido, g
 C_p : Capacidad calorífica del agua, J/gK
T: Temperatura absoluta, K
T: Tiempo, min
 Q_c : Calor transferido por convección, W
 Q_o : Calor generado por agitación, W
 T_∞ : Temperatura ambiente, K
 T_L : Temperatura del líquido

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calam, Christopher. 1986. Shake-Flask Fermentations. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Cap. 6,. American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 59-65.
2. Finn, R. K. 1954. *Agitation-Aeration in the Laboratory and Industry*. Vol. 18, pp. 254-274.
3. Van Suijdam, J. C., Kossen, N. W. F. and Joha, A. C. 1978. *Model for Oxygen Transfer in a Shake Flask*. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 20, pp. 1695-1709.
4. Solomons, G. L. 1969. The Design and Operation of Fermentation Equipment. *Materials and Methods in Fermentations*. Cap. 1, Academic Press, London and New York, pp. 1-9.
5. Sobotka, M.; Prokop, A.; Dunn I. J., and Einsele, A. 1982. Review of Methods for the Measurement of Oxygen Transfer in Microbial Systems. *Annual Reports on Fermentation Processes*, Vol. 5, pp. 127-210.
6. Steel, Robert, and Torrie, James H. 1985. *Bioestadística: principios y procedimientos*. McGraw-Hill. Bogotá.
7. Vanegas C., Isleny A. y Vanegas P., Francisco. 1998. *Caracterización de un agitador rotatorio con miras a su utilización en procesos fermentativos*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
8. Rehm, H. J. and Reed, G. 1985. *Biotechnology*. A Comprehensive Treatise in 8 Volumes. Vol. 2, VCH. Weinheim.
9. Doran, Pauline. 1995. *Bioprocess Engineering Principles*. Capítulos 8 y 9. Academic Press Limited, London.
- 10 Wang and Cooney. 1978. *Fermentation and Enzime Technology*. John Wiley and Sons, pp. 178-181.