

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA

DETERMINACIÓN DEL ÁREA INTERFACIAL ESPECÍFICA
EN UN BIORREACTOR DE COLUMNA DE BURBUJEO

INFORME TÉCNICO EN LA MODALIDAD DE PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN

PRESENTA: EMMA OLIVA FUENTES RAMÍREZ

DIRECTOR INTERNO: Dr. SERGIO GARCÍA SALAS

México, D.F. Junio 2009

CONTENIDO

RESUMEN	3
I. INTRODUCCIÓN	4
Transferencia de oxígeno en biorreactores	5
Fracción de gas retenido	11
Método de succión no isocinética para la determinación de la fracción de gas retenido	12
Diámetro de burbuja	13
Métodos electro-óptico en condiciones de succión no isocinéticas para la determinación del diámetro de burbuja	14
Biorreactores	15
II. JUSTIFICACIÓN	17
III. OBJETIVOS	17
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	18
Columna de burbujeo y condiciones de operación	18
Determinación de fracción local de gas retenido	19
Determinación del diámetro de burbuja	20
Determinación del área interfacial específica local	22
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
Comparación entre el promedio del parámetro de extracción E y el promedio de la fracción de gas retenido manométrica	23
Calibración del método electro-óptico	26
Distribución de la fracción de gas retenido, del diámetro de burbuja y del área interfacial específica en la columna de burbujeo	28
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	38
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

RESUMEN

En la industria biotecnológica la gran parte de las fermentaciones son aerobias, por lo que los biocatalizadores necesitan de oxígeno molecular disuelto para llevar a cabo su metabolismo. Para ello se necesita suministrar oxígeno al medio de cultivo y garantizar que se transfiera de la fase gaseosa a la fase líquida y que esté disponible para el biocatalizador. El parámetro que nos indica la capacidad de transferencia de oxígeno en un biorreactor es el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y se constituye del coeficiente de película líquida (k_L) y del área interfacial específica (a). El área interfacial específica se define como la superficie de todas las burbujas presentes en una unidad de volumen de dispersión gas-líquido y se constituye a su vez, de la fracción de gas retenido (ε) y del diámetro promedio de burbuja de Sauter (\bar{d}_{32}).

En el presente trabajo se determina el área interfacial específica local mediante la obtención de sus parámetros constitutivos, es decir, fracción de gas retenido y diámetro promedio de burbuja, bajo diferentes condiciones de operación y con líquidos de diferente composición. Lo cual puede ayudar a futuros trabajos en el diseño de biorreactores para una óptima transferencia de oxígeno y productividad.

Para la determinación de la fracción de gas retenido y el diámetro de burbuja se lleva a cabo un método de succión no isocinética y electro-óptico, que consiste en retirar un volumen de la muestra de la dispersión gas-líquido y posteriormente medir el volumen de gas y el volumen de líquido, al mismo tiempo un sensor infrarrojo detecta las burbujas que pasan a través del capilar lo que se transmite a un circuito contador que reporta el número de burbujas. El biorreactor con el cual se trabajó es de 14 L y se emplearon difusores de 2 y 12 cm, así como también se manejaron líquidos coalescentes y no coalescentes, y se varió la velocidad superficial de aireación de 0.2 a 3.42 cm/s.

El método de succión no isocinética y electro-óptico es sencillo, económico y práctico. Se mostró un error de 8% en la determinación del área interfacial específica, dicho error que resultó de la propagación de los errores de la determinación de la fracción de gas retenido y diámetro de burbuja, en los cuales se obtuvieron errores máximos de 4% para cada método. Además es importante mencionar que se obtuvieron valores locales del área interfacial específica, lo que nos muestra cómo es que se distribuye la transferencia de oxígeno a largo del biorreactor.

I. INTRODUCCIÓN

La ingeniería biotecnológica es la rama de la ingeniería en la cual se lleva a cabo la utilización de organismos vivos o biocatalizadores para producir bienes y servicios útiles para el ser humano. Estos biocatalizadores pueden ser células o partes de ellas, como las enzimas. Las células pueden provenir de organismos vegetales, animales o de microorganismos en general. Dentro de la ingeniería biotecnológica se desarrolla a su vez, la ingeniería de bioprocesos en la cual se diseñan, desarrollan y analizan procesos industriales en los que intervienen los biocatalizadores. Los bioprocesos constan de tres etapas, las cuales son: 1) preparación de materias primas, 2) biotransformación y 3) recuperación y purificación del producto. La biotransformación es la etapa central del bioproceso en la cual se transforma la materia prima a través del biocatalizador, por lo cual las etapas 1 y 2 están relacionadas en gran medida con esta etapa y dependen de ella.

La mayoría de las biotransformaciones de interés comercial se llevan a cabo bajo condiciones aerobias, es decir, los microorganismos necesitan de oxígeno molecular disuelto como aceptor final de electrones en su proceso respiratorio (Bailey y Ollis, 1977). Cuando hablamos de oxígeno molecular disuelto entendemos que el oxígeno está presente en la misma fase (líquida) que el microorganismo, por consiguiente, está disponible para que éste pueda consumirlo. Esto quiere decir que el oxígeno tiene que transportarse primeramente, de la fase gaseosa, en la que se encuentra al ser suministrado al biorreactor, a la fase líquida; fenómeno conocido como transferencia de masa gas-líquido.

Transferencia de oxígeno en biorreactores

El fenómeno de transferencia de masa más crítico en una biotransformación es el referente a la transferencia de oxígeno desde la fase gaseosa a la fase líquida, esto es debido a la baja solubilidad del oxígeno, ya que en condiciones de saturación a 20° C y 1 bar de presión, es de 7 mg/L (Lee, 1992); por consiguiente, al alcanzarse una adecuada transferencia de oxígeno se garantiza una adecuada transferencia de masa de aquellos compuestos con mayor solubilidad, esta es la razón por la cual el término de *transferencia de masa* está referido generalmente a la *transferencia de oxígeno* y viceversa.

En la gran mayoría de los biorreactores, la transferencia de masa gas-líquido se realiza principalmente debido a las burbujas formadas mediante la aireación del medio de cultivo. La transferencia de oxígeno desde una burbuja hacia el seno del líquido, puede describirse de acuerdo con la teoría de la doble película, desarrollada por Lewis y Whitman en 1923 (Treybal, 1980).

La teoría de la doble película se basa en las siguientes consideraciones:

- 1) Se forma una película en cada lado de la interfase gas-líquido (una película de gas en el lado del gas y una película del líquido en el lado del líquido),
- 2) La velocidad de transferencia de masa es controlada por las velocidades de difusión del oxígeno a través de las películas de gas y líquido,
- 3) La resistencia que presenta la interfase gas-líquido a la transferencia de oxígeno es despreciable, comparada con las resistencias de las películas de gas y de líquido

Para la transferencia de oxígeno desde la fase gaseosa a la fase líquida se asume que no hay resistencia interfacial, y P_i y C_i son concentraciones en la interfase, que están en equilibrio y están dadas por la curva de distribución en equilibrio del sistema. Para soluciones líquidas diluidas estas concentraciones en equilibrio están relacionadas por la Ley de Henry (Bailey y Ollis, 1977), como se indica en la ecuación 1.

$$P_i = H C_i \quad (1)$$

Donde H es la constante de Henry

De acuerdo con la primera Ley de difusión de Fick, el flux de oxígeno (J_{O_2}), en sistemas diluidos se define de acuerdo a la ecuación 2, relacionándolo con el coeficiente de difusión (D_L), el gradiente de concentración (ΔC) y la distancia que separa el origen del destino de la difusión (δ).

$$J_{O_2} = \frac{D_L}{\delta} \Delta C \quad (2)$$

El flux de oxígeno se refiere a la cantidad de masa de oxígeno transferida por unidad de tiempo y por unidad de superficie la cual es perpendicular a la dirección de flujo.

Para que una fermentación aerobia no se vea limitada por la cantidad de oxígeno presente en el sistema, la velocidad de transferencia de oxígeno debe tener un valor por encima o por lo menos igual al consumo de los microorganismos, de manera que el oxígeno disuelto se encuentre en una concentración que no limite su crecimiento y productividad. Por esta razón es que a lo largo de toda la biorreacción cambia la

concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo, la ecuación 3 muestra esta variación:

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C^* - C_L) - Q_{O_2} X \quad (3)$$

Donde:

$k_L a (C^* - C_L)$ = velocidad de transferencia de oxígeno (g/Lh)

$Q_{O_2} X$ = velocidad de consumo de oxígeno (g/Lh)

$k_L a$ = coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (h^{-1})

C^* = concentración de oxígeno disuelto en equilibrio con la presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa (g/L)

C_L = concentración de oxígeno disuelto en la fase líquida (g/L)

El $k_L a$ es el coeficiente global de transferencia de masa del sistema gas-líquido, por lo que es el parámetro más utilizado para evaluar la capacidad de transferencia de oxígeno en un biorreactor; su magnitud depende del diseño del biorreactor, de las propiedades del líquido y de las condiciones de operación.

El $k_L a$ se constituye a su vez, por el coeficiente de película líquida (k_L) y por el área interfacial específica (a).

Área interfacial específica

En el flux de oxígeno la superficie perpendicular a través de la cual se transfiere el oxígeno es precisamente el área interfacial específica que se define como la superficie

(A) de todas las burbujas formadas en una unidad de volumen de dispersión gas-líquido, y se representa por la ecuación 4.

$$a = \frac{A}{V_{GL}} \quad (4)$$

Por lo tanto, el área interfacial específica depende de la cantidad de volumen de gas presente en la dispersión gas-líquido y de la distribución de las burbujas en el medio. La cantidad de gas contenido se representa por la fracción de gas retenido (ϵ) que se define como la fracción en volumen de gas contenido en una unidad de volumen de dispersión gas-líquido, y se representa mediante la ecuación 5.

$$\epsilon = \frac{V_g}{V_{GL}} \quad (5)$$

Para describir la distribución de las burbujas se emplea el diámetro promedio de burbuja de Sauter (\bar{d}_{32}) y que se define como el diámetro de burbuja que tiene una relación superficie a volumen de todas las burbujas presentes en la dispersión gas-líquido. La ecuación 6 representa el diámetro promedio de burbuja de Sauter, donde n_i es el número de burbujas que tienen un diámetro d_i .

$$\bar{d}_{32} = \frac{\sum_i^n n_i d_i^3}{\sum_i^n n_i d_i^2} \quad (6)$$

Debido a que el volumen V_{GL} de la ecuación 5 es igual al volumen del gas (V_G) dividido por la fracción de gas retenido, el área interfacial específica se puede expresar de la siguiente forma

$$\alpha = \frac{A\varepsilon}{V_G} \quad (7)$$

Por otra parte el área superficial (A) se puede representar como $\pi \sum n_i d_i^2$ y el volumen de gas V_G por $(\pi/6) \sum n_i d_i^3$ entonces sustituyendo en la ecuación 7, se obtiene la ecuación 8.

$$\alpha = \frac{\pi \sum_i^n n_i d_i^2 6\varepsilon}{\pi \sum_i^n n_i d_i^3} \quad (8)$$

Sustituyendo la ecuación 6 en la 8, obtenemos la ecuación que define el área interfacial específica (Winkler, 1990)

$$\alpha = \frac{6\varepsilon}{d_{32}} \quad (9)$$

Puede notarse claramente que para obtener altas velocidades de transferencia de oxígeno es necesario tener una mayor área interfacial específica, la cual se logra con una alta fracción de gas retenido y burbujas pequeñas.

Métodos de determinación del área interfacial específica

Los métodos de determinación del área interfacial específica los clasificaremos en directos e indirectos.

Los métodos directos son el método óptico y el método de oxidación de sulfito.

Métodos directos.

Método óptico. Este método se desarrolló en 1958 y se basa en la refracción de un haz de luz transmitido a través de la dispersión de gas-líquido. Este método requiere de calibración antes de la realización de cada experimento y es un método que proporciona valores globales del área interfacial específica.

Método de oxidación química. Se basa en la oxidación de sulfito de sodio por oxígeno disuelto en presencia de sales de cobre o de cobalto como catalizadores. Al cuantificar la velocidad de desaparición del sulfito del medio reaccionante, se cuantifica a su vez, aunque indirectamente, la velocidad de transferencia de oxígeno del sistema gracias a la estequiometría de la reacción.

Este método generalmente implica la suposición de que la velocidad de reacción entre el sulfito de sodio y el oxígeno, es lo suficientemente rápida como para que la concentración de oxígeno en el seno del líquido sea cero y lo suficientemente lenta como para que no exista reacción del oxígeno en la película difundente. Es un método de aplicación restringida debido a las condiciones de reacción requeridas además de que proporciona valores globales de k_L y a .

Método indirecto.

El método indirecto se basa en la determinación de los parámetros constitutivos del área interfacial específica como se describe a continuación.

Como se vio, el área interfacial específica también se puede calcular a partir de datos de fracción de gas retenido y de valores de diámetro promedio de burbuja de Sauter mediante la ecuación 9.

A continuación se describirá con más detalle cada uno de los parámetros.

Fracción de gas retenido

Por ser la fracción de gas retenido un parámetro constitutivo del área interfacial específica tiene una gran influencia sobre ésta. Generalmente bajo condiciones normales de operación, en medios de cultivo no viscosos, la fracción de gas retenido puede variar hasta un orden de magnitud (Akita y Yoshida, 1974).

Las propiedades físicas del líquido cambian durante el transcurso de una fermentación, debido a que los microorganismos consumen sustratos y liberan metabolitos al líquido. En algunos caldos de fermentación, las burbujas pequeñas tienden a unirse formando burbujas más grandes, fenómeno conocido como coalescencia. Cuando la concentración de metabolitos en el medio es mayor disminuye la coalescencia y esto da como resultado fracciones de gas retenido más altas, lo cual es positivo ya que esto da como resultado una mayor velocidad de transferencia de oxígeno. Por lo tanto, la coalescencia es un fenómeno que influye tanto en la fracción de gas retenido como en el diámetro de las burbujas.

La fracción de gas retenido no es uniforme en todo el biorreactor, sino que existe toda una distribución de fracciones locales de gas retenido que resultan de la heterogeneidad

de los diámetros de las burbujas. Las diferentes fracciones de gas retenido en las diversas zonas del biorreactor, ocasionan el movimiento global del líquido siguiendo patrones de flujo que dependen del diseño del biorreactor, de las condiciones de operación y de las propiedades físicas del medio de cultivo.

Método de succión no isocinética para la determinación de la fracción de gas retenido

Este método es de fácil aplicación y bajo costo y se basa en la extracción por succión de una muestra de dispersión gas-líquido en un punto de la columna. Se miden los volúmenes de gas y de líquido para determinar la fracción de gas retenido mediante la ecuación 9. No obstante de acuerdo con Alves y col. (2002), Tabera (1990), así como con Yang y Wang (1991), esta técnica debe realizarse en condiciones isocinéticas, es decir, con una velocidad de remoción de la dispersión gas-líquido igual a la velocidad de desplazamiento de las burbujas en el biorreactor.

$$\varepsilon_E = \frac{V_{GL} - V_G}{V_{GL}} \quad (10)$$

La necesidad de mantener condiciones isocinéticas o, al menos, condiciones de succión proporcionales a las condiciones existentes en el biorreactor, es una limitación importante de la técnica para la determinación práctica de la fracción de gas retenido, esto es debido a que estas condiciones exigen una caracterización previa de las condiciones hidrodinámicas del biorreactor, lo que resultaría al menos de igual complejidad que la propia determinación de la fracción de gas retenido.

Por esta razón es que el método empleado se realiza en condiciones no isocinéticas ya que esto permite una implementación práctica de la técnica. Sin embargo, es claro que la relación de volumen entre el gas y el líquido succionados no sería igual a la fracción de gas retenido, por lo que el método de succión no isocinética se calibró con el método manométrico, en el cual se obtuvo un error de 4%.

Diámetro de burbuja

Para comprender mejor el proceso de transporte, es necesario describir cómo la fase gaseosa persiste dentro del biorreactor. La fase gaseosa en la mayoría de los biorreactores persiste en forma de burbujas. Una burbuja es un cuerpo auto-contenido de un gas o mezcla de gases, separado del medio que la rodea por una interfase reconocible. El mecanismo de la transferencia de oxígeno puede ser apreciado por la consideración del efecto del tamaño de la burbuja sobre el parámetro compuesto $k_L a$. Las burbujas grandes ascienden más rápidamente que las burbujas pequeñas, pero tienen una menor área interfacial. El movimiento más rápido de las burbujas grandes estimula la transferencia de masa, así que tienden a tener un mayor coeficiente de transferencia de masa k_L , pero es contrabalanceado por el bajo valor del área interfacial específica a .

La transferencia de masa global obtenida es entonces determinada por la cantidad de tiempo que la burbuja permanece en contacto con el líquido. Las burbujas grandes, de ascenso rápido tienden a tener un tiempo de contacto menor que las pequeñas, de movimiento lento; así que la eficacia del sistema de disolución de oxígeno depende de la habilidad para crear y mantener burbujas pequeñas en el líquido. El mantenimiento de burbujas pequeñas depende a su vez del equilibrio que se establezca entre la

coalescencia del líquido durante la biorreacción y el rompimiento de las burbujas debido a los esfuerzos de corte prevaletientes en el biorreactor.

La caracterización completa de la dispersión gas-líquido en el seno de un biorreactor, debe incluir información relativa al diámetro de las burbujas, por ser este un parámetro constitutivo del área interfacial específica. Los diámetros de burbuja se representan mediante un diámetro promedio de burbuja, que puede calcularse de distintas formas de acuerdo a los fines que se persigan. Para cálculos de transferencia de masa se elige el diámetro promedio de burbuja de Sauter (\bar{d}_{32}).

Métodos electro-óptico en condiciones de succión no isocinéticas para la determinación del diámetro de burbuja

Para determinar el diámetro de burbuja se acopló el método de succión en condiciones no isocinéticas a un método electroóptico (Buchholz y Shügerl en 1979), que consiste en la detección de las burbujas mediante dos sensores ópticos montados en el tubo capilar a través del cual se succiona la dispersión gas-líquido a una presión de succión constante. Las señales de detección de las burbujas y las dimensiones del capilar, permiten calcular el diámetro de cada burbuja.

Sin embargo, la remoción de la dispersión gas-líquido en condiciones no isocinéticas, hace que se detecten burbujas de tamaño diferente a las que llegan al punto de succión (Lübbert, 1991). Por ejemplo, cuando la velocidad de remoción es menor que la velocidad de las burbujas, se pueden detectar burbujas más grandes que las que están presentes en la dispersión gas-líquido, porque en la entrada del capilar, que generalmente tiene forma de embudo invertido, se pueden juntar varias burbujas y

coalescer. Por otro lado, si la velocidad de remoción es mayor que la velocidad de las burbujas, entonces éstas se pueden romper a la entrada del capilar, registrándose burbujas más pequeñas.

El problema de la detección de las burbujas de tamaño diferente, al de las burbujas presentes en la dispersión gas-líquido, cuando se determina el diámetro de burbuja usando el método electro-óptico en condiciones no isocinéticas, podría vencerse mediante una calibración apropiada de este método, usando otro método ya conocido para la determinación del diámetro de burbuja. Lo cual se realizó con el método fotográfico.

Biorreactores

La biotransformación se lleva a cabo en sistemas físicos llamados biorreactores que generalmente son recipientes los cuales están diseñados para proveer las condiciones ambientales (pH, temperatura, presión, esfuerzo de corte, suministro de oxígeno, etc.) necesarias para el desempeño del biocatalizador.

Tipos de biorreactores

Existen diferentes tipos de biorreactores, generalmente se clasifican en base a su configuración geométrica, en base al mecanismo de aireación y en base al tipo de biorreacción que se lleve a cabo, la cual puede ser fermentación sumergida o fermentación en sustrato sólido. En base a esto tenemos que los diferentes tipos de biorreactores son: 1) biorreactor tipo tanque agitado, 2) biorreactor airlift, 3) biorreactor de columna de burbujeo, y 4) biorreactor de lecho empacado; los tres primeros

biorreactores están diseñados para fermentaciones sumergidas y el último para fermentación en sustrato sólido.

El propósito del presente trabajo es determinar el área interfacial específica en una columna de burbujeo, por lo cual nos centraremos en la descripción del fenómeno hidrodinámico en este tipo de biorreactor.

Biorreactor de columna de burbujeo

El diseño básico de un biorreactor de columna de burbujeo es un recipiente cilíndrico que tiene una relación de altura a diámetro de 6 a 10, equipado con un difusor de aire en el fondo. El ascenso de las burbujas de aire ocasiona el movimiento del líquido. Dependiendo de la cantidad de aire suministrada al biorreactor, el movimiento del líquido puede presentar dos tipos de flujo, el homogéneo y el heterogéneo. El flujo homogéneo ocurre a bajas velocidades superficiales de aire (< 1 a 4 cm/s) y cuando el aire se distribuye homogéneamente en toda la sección transversal de la columna, en estas condiciones hay ausencia de corrientes de flujo circulares. El flujo heterogéneo generalmente ocurre a velocidades superficiales de aire mayores a 4 cm/s, lo que ocasiona que dominen corrientes de flujo circulares

Los biorreactores de columna de burbujeo son ampliamente utilizados para la producción de antibióticos, aminoácidos y proteína unicelular, entre otros. La altura de la columna con respecto al radio es variable, pero generalmente se encuentra en una proporción de 3:1 hasta 6:1. La fase gaseosa asciende a través del líquido que fluye, el cual en columnas largas tal vez no se encuentre bien mezclado. En la mayoría de los casos de interés, la resistencia de la película líquida controla la transferencia de masa

global y el coeficiente de transferencia de masa gas-líquido $K_g a$ puede reemplazarse como ya se vio anteriormente por el $k_L a$. Si se puede conocer el tamaño de las burbujas en el biorreactor, es posible calcular el $k_L a$ directamente.

II. JUSTIFICACIÓN

El área interfacial específica es uno de los parámetros constitutivos del $k_L a$, por lo que conocer su distribución en diferentes zonas de un biorreactor permite un análisis detallado del fenómeno de transferencia de masa. Esto es útil en la definición del diseño y de las condiciones de operación de un biorreactor para mejorar la productividad de un proceso en particular.

III. OBJETIVOS

General

Conocer la distribución del área interfacial específica local en un biorreactor de columna de burbujeo bajo diferentes condiciones de operación así como también variando el diseño del biorreactor y las propiedades fisicoquímicas del líquido.

Particulares

- Determinar la fracción de gas retenido local en un biorreactor de columna de burbujeo usando el método de succión no isocinética
- Determinar el diámetro promedio de burbuja en un biorreactor de columna de burbujeo usando el método de succión no isocinética y electroóptico

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Los valores locales del área interfacial específica fueron calculados usando la ecuación (9), partiendo de los valores locales de la fracción de gas retenido ε y de los valores locales del diámetro promedio de burbuja con base en el volumen \bar{d}_3 .

$$a = \frac{6\varepsilon}{\bar{d}_3} \quad (9)$$

Columna de burbujeo y condiciones de operación

La columna tiene un diámetro interno de 12 cm y una altura de 160 cm, posee 7 tomas de muestra, ubicadas cada 16 cm y un difusor poroso en el fondo. Los difusores probados fueron de vidrio sinterizado de 2 y 12 cm de diámetro, con diámetros de poro de 100 a 160 μm (Schott, Alemania). La velocidad superficial del gas v_g fue de 0.20 cm/s a 3.42 cm/s. El flujo de aire se controló con una válvula de aguja y se midió con un rotámetro de área variable (Cole Parmer, USA).

Los medios que se usaron fueron agua destilada como líquido coalescente y una solución acuosa 0.13 M de KCl como líquido no coalescente. El volumen de trabajo fue de 14 L. La altura de la dispersión gas-líquido se mantuvo constante en $H_d/(2R) = 10.4$, donde H_d es la altura de la dispersión gas-líquido y R es el radio de la columna.

Determinación de fracción local de gas retenido

Dispositivo de succión

El dispositivo cuenta con tres elementos importantes: 1) un tanque de vacío sirviendo de fuente motriz para la aspiración de la muestra, 2) un tubo capilar para la toma de las muestras, y 3) una manguera de recuperación del gas y del líquido aspirados. El capilar se conecta a una manguera de silicón de 4 mm de diámetro interno, a su vez conectada a la manguera para la recepción del gas y del líquido succionados. El dispositivo de succión se conecta a un tanque de vacío de 2 L y a una bomba neumática de vacío (PIAB, Vacuum Products, USA). La presión de vacío fue de 3 kPa y se midió con un vacuómetro (Ashcroft, USA).

Método de succión no isocinética

Antes de la medición, el capilar se coloca en la posición seleccionada y la presión de vacío se ajusta al valor deseado. Una vez ajustada la presión de vacío a 3kPa se realiza la succión durante el tiempo necesario (45 s) para recuperar una cantidad suficiente de aire y de líquido. Después de tomar la muestra del líquido aireado se mide la masa de la manguera y se determinan los volúmenes de gas y líquido succionados. Ahora, utilizando la ecuación 11 se calcula un parámetro (E), considerado como proporcional a la fracción local de gas retenido.

$$E = \frac{V_G}{V_L} \quad (11)$$

Método manométrico y método de expansión

Simultáneamente a la medición del parámetro E local, la fracción local de gas retenido se midió manométricamente, en una sección transversal, a partir de la diferencia de presión entre dos puntos verticales, como lo describe Chisti (1989). En este caso en

particular los puntos de las tomas de presión estaban separadas por una diferencia de $\Delta h = 16$ cm. El parámetro E se midió por triplicado en cinco radios diferentes ($r/R = 0, 0.54, 0.70, 0.83$ y 0.95).

Un parámetro de extracción global E_0 , obtenido a partir de 35 valores locales de E , siete axiales y cinco radiales, fue comparado con la fracción de gas retenido global (ϵ_{0E}) medida con un método de expansión (Lübbert, 1991) para la determinación de la fracción de gas retenido global; el cual consiste en medir el volumen de líquido del líquido sin aireación (V_L) y el volumen de la dispersión gas-líquido una vez que hay aireación.

Determinación del diámetro de burbuja

Sistema de medición del método electro-óptico bajo condiciones de succión no isocinéticas

El sistema de medición consta de los siguientes elementos: 1) Dispositivo de succión (el mismo que se usa en la determinación de fracción gas retenido); 2) un sensor para detectar las burbujas; y, 3) un circuito electrónico para contar las burbujas que pasan a través del tubo capilar.

Sensor y circuito electrónico

El sensor está formado de un diodo emisor y un diodo receptor de infrarrojo ($\lambda = 600$ nm) (QT Optoelectronics, USA). Ambos diodos estuvieron montados a 8 cm de distancia de la entrada del tubo capilar. El tubo capilar usado tiene orificio recto.

Método electro-óptico en condiciones de succión no isocinéticas

El método consiste en medir el volumen de gas y contar el número de burbujas en la muestra succionada de dispersión gas-líquido. La medición del volumen de gas se realizó mediante el método de succión no isocinética explicado anteriormente. La forma de contar las burbujas se basa en el principio de medición del método electro-óptico. Cuando una muestra de dispersión gas-líquido es succionada a través de un tubo capilar de vidrio, las burbujas adquieren la forma cilíndrica del capilar y pasan entre un diodo emisor y un diodo receptor (sensor). La detección se basa en la diferencia del índice de refracción del aire y del líquido. Cuando pasa aire por el tubo capilar, parte del rayo incidente es refractado, lo cual genera una menor detección de luz en el diodo receptor. La intensidad máxima de luz es registrada por el detector cuando pasa solamente líquido por el capilar. El amplificador del circuito electrónico produce una señal proporcional a la intensidad de la luz. Así, una burbuja produce una disminución en el voltaje que es registrado por el contador de pulsos.

Con el volumen de aire succionado (V_G) y el número de burbujas (n) se calculó un volumen promedio de burbuja de acuerdo a la ecuación 12 y el diámetro promedio de burbuja basado en el volumen se calculó con la ecuación 13.

$$\bar{V} = \frac{V_G}{n} \quad (12)$$

$$\bar{d}_3 = \left(\frac{6\bar{V}}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (13)$$

Cabe mencionar que el volumen de aire succionado V_G es el volumen medido a la presión de succión, por lo tanto, no corresponde al volumen de las burbujas antes de ser

succionadas. Además es importante hacer notar que el diámetro promedio basado en el volumen no es el diámetro promedio de Sauter, generalmente utilizado en la caracterización de la transferencia de masa en biorreactores. Adelante se mostrará el error cometido al emplear un diámetro diferente al diámetro de Sauter.

Una vez que el diámetro promedio de burbuja basado en el volumen \bar{d}_3 se ha obtenido, se correlaciona con el diámetro promedio basado en el volumen obtenido con otro método. En este caso, se empleó el método fotográfico para calibrar el método empleado en este trabajo.

Método fotográfico

Las burbujas se fotografiaron con una cámara digital Nikon Coolpix 5700, empleando una velocidad del obturador de (1/2000) s y una sensibilidad ISO 400, con iluminación lateral de una lámpara de 500 W. Alrededor de la columna está instalada una caja de vidrio (14 cm x 14 cm x 14 cm), a una altura de $h/2R = 6.75$. La caja se llena con agua cada vez que se toman las fotos para evitar una distorsión óptica que se genera por la curvatura de la columna. Las condiciones de iluminación y enfoque, así como el empleo de la caja de vidrio llena de agua, fueron semejantes a las reportadas por Buchholz y Shügerl, (1979).

Determinación del área interfacial específica local

Una vez que se determinaron la fracción local de gas retenido y el diámetro local promedio de burbuja de Sauter, se procede a la determinación del área interfacial específica local mediante la ecuación 9 mencionada anteriormente.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparación entre el promedio del parámetro de extracción \bar{E} y el promedio de la fracción de gas retenido manométrica

El promedio del parámetro de extracción \bar{E} se calculó en las siete posiciones axiales, usando medios coalescentes y no coalescentes (agua destilada y solución acuosa de KCl 0.13 M, respectivamente), para la comparación se tomaron los valores de las posiciones $h/H = 0.67$ y 0.50 debido a que las tomas de presión estática para medir el promedio de la fracción de gas retenido manométrica $\bar{\epsilon}$ se encontraban justo en estas posiciones. La figura 1 muestra la correlación entre el promedio del parámetro de extracción \bar{E} y el promedio de la fracción de gas retenido manométrica $\bar{\epsilon}$. La ecuación de correlación para el medio coalescente ($r^2 = 0.953$) fue:

$$\bar{\epsilon} = 1.460 \bar{E} \quad (14)$$

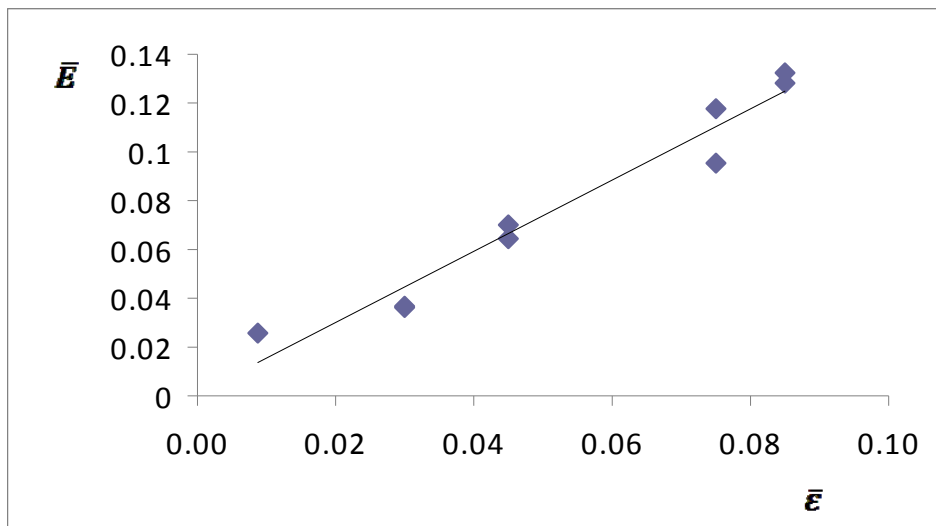


Figura (1). Promedio del parámetro de extracción \bar{E} versus promedio de la fracción de gas retenido manométrica $\bar{\epsilon}$ para medio coalescente (agua destilada) a una presión de vacío de 3 kPa. Diámetro de difusor de 12 cm.

La ecuación de correlación para el medio no coalescente ($r^2 = 0.9984$) fue:

$$\bar{\epsilon} = 1.1546 \bar{E} + 0.0257 \quad (15)$$

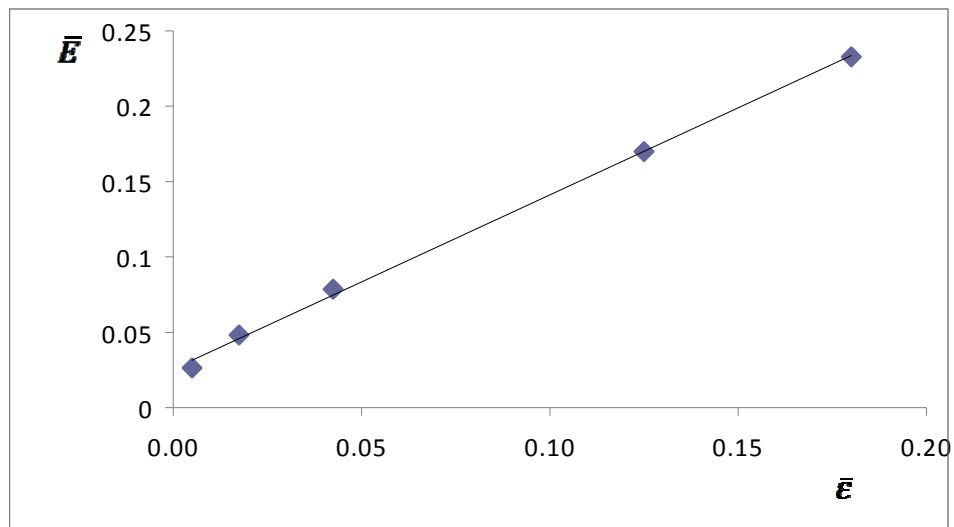


Figura (2). Promedio del parámetro de extracción $\bar{\epsilon}$ versus promedio de la fracción de gas retenido manométrica \bar{E} para medio no coalescente (disolución 0.13 M de KCl) a una presión de vacío de 3 kPa. Diámetro de difusor de 12 cm.

Asimismo, para el difusor de 2 cm se llevó a cabo una comparación del promedio del parámetro de extracción $\bar{\epsilon}$ contra el promedio de la fracción de gas retenido \bar{E} . La ecuación de correlación para el medio coalescente ($r^2 = 0.9959$) fue:

$$\bar{\epsilon} = 1.4114 \bar{E} - 0.0025 \quad (16)$$

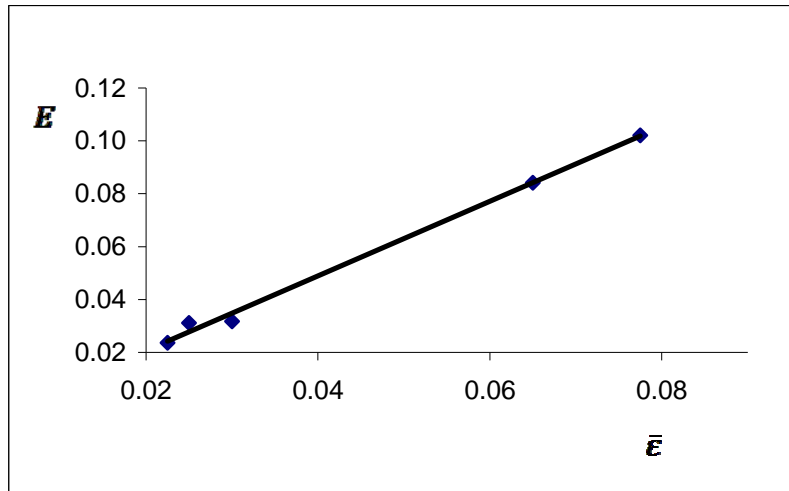


Figura (3). Promedio del parámetro de extracción \bar{E} versus promedio de la fracción de gas retenido manométrica $\bar{\epsilon}$ para medio coalescente (agua destilada) a una presión de vacío de 3 kPa. Diámetro de difusor de 2 cm.

La ecuación de correlación para el medio no coalescente ($r^2 = 0.9782$) fue:

$$\bar{\epsilon} = 1.5072 \bar{E} - 0.0184 \quad (17)$$

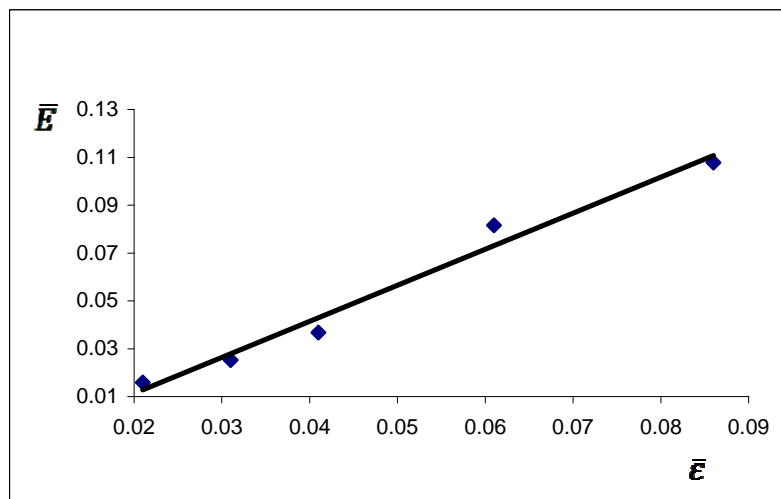


Figura (4). Promedio del parámetro de extracción \bar{E} versus promedio de la fracción de gas retenido manométrica $\bar{\epsilon}$ para medio no coalescente (disolución 0.13 M de KCl) a una presión de vacío de 3 kPa. Diámetro de difusor de 2 cm.

Mediante las diferentes ecuaciones de correlación obtenidas tanto para los diferentes tamaños de difusor como para los medios empleados, se obtuvieron los valores de la fracción de gas retenido local, los cuales se observarán más adelante.

Calibración del método electro-óptico

El método electro-óptico se calibró con el método fotográfico, por lo que los valores del diámetro de burbuja obtenidos con el método fotográfico, se consideraron como los valores exactos del diámetro de burbuja y se usaron como referencia para comparar el diámetro de burbuja obtenido con el método electro-óptico de succión no isocinética.

La figura 5 muestra el diámetro promedio de burbuja basado en el volumen, obtenido con el método electro-óptico de succión no isocinética (\bar{d}_{3S}), *versus* el diámetro promedio de burbuja basado en el volumen obtenido con el método fotográfico (\bar{d}_{3F}), usando un medio coalescente (agua destilada).

La ecuación 18 muestra la correlación lineal ($r^2 = 0.9395$) obtenida entre \bar{d}_{3S} y \bar{d}_{3F} a una presión de 3 kPa.

$$\bar{d}_{3F} = 0.3055 \bar{d}_{3S} + 0.664 \quad (18)$$

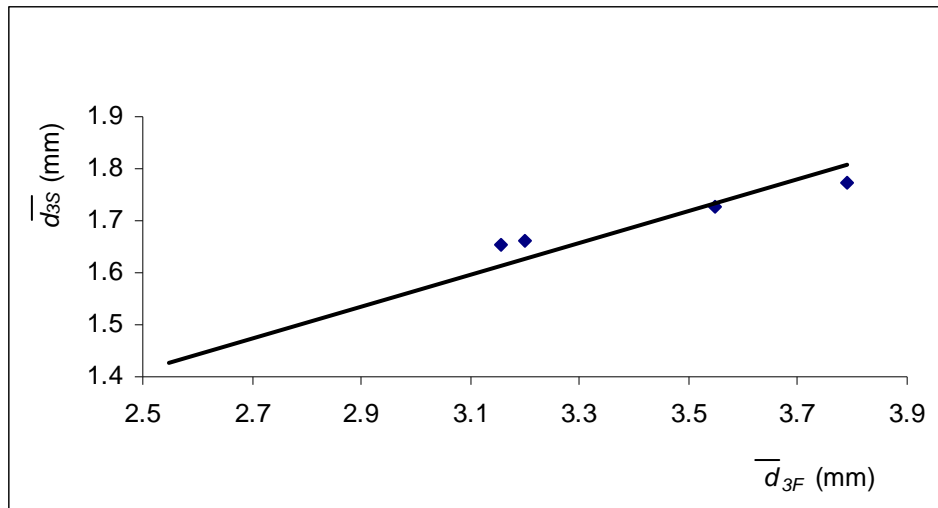


Figura (5). Diámetro promedio de burbuja basado en el volumen obtenido con el método de succión (\bar{d}_{3S}), *versus* diámetro promedio de burbuja basado en el volumen medido con el método fotográfico (\bar{d}_{3F}), a una altura de $h/H = 0.67$, empleando un difusor de 12 cm de diámetro, medio coalescente (agua destilada) a una presión de 3 kPa.

La ecuación 19 muestra la correlación lineal ($r^2 = 0.9916$) obtenida entre \bar{d}_{3S} y \bar{d}_{3F} a una presión de 3 kPa para el medio no coalescente.

$$\bar{d}_{3F} = 0.1957 \bar{d}_{3S} + 0.8849 \quad (19)$$

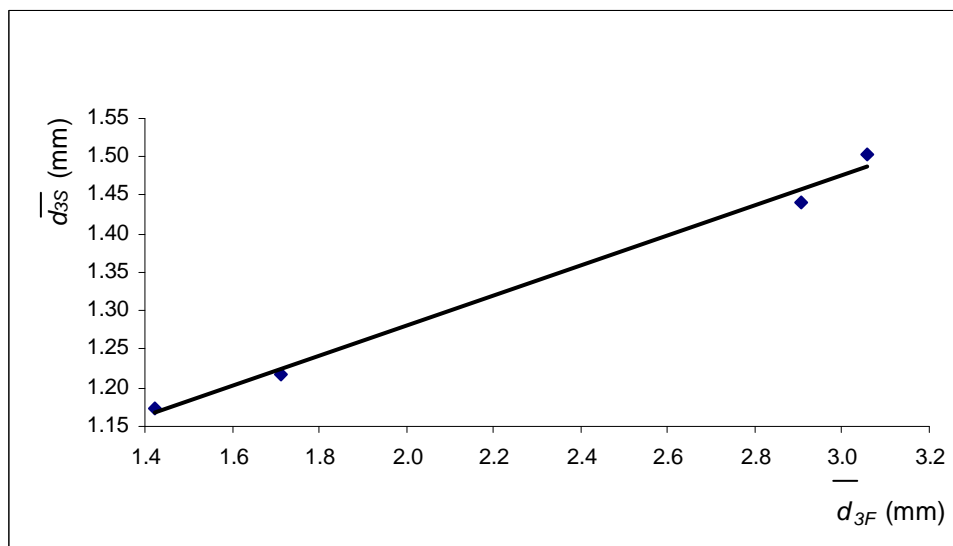


Figura (6). Diámetro promedio de burbuja basado en el volumen obtenido con el método de succión (\bar{d}_{3S}), *versus* diámetro promedio de burbuja basado en el volumen medido con el método fotográfico (\bar{d}_{3F}), a una altura de $h/H = 0.67$, empleando un difusor de 12 cm de diámetro, medio no coalescente (disolución 0.13 M de KCl) a una presión de 3 kPa.

Mediante las diferentes ecuaciones de correlación obtenidas tanto para los diferentes tamaños de difusor como para los medios empleados, se obtuvieron los valores locales del diámetro promedio de burbuja basado en el volumen, que se observarán con más detalle adelante.

Se pueden observar diferencias importantes entre las correlaciones obtenidas para líquidos coalescentes y no coalescentes, por lo que es importante tomar en cuenta que cada vez que se cambie la composición del medio empleado se tiene que calibrar nuevamente el método.

Distribución de la fracción de gas retenido, del diámetro de burbuja y del área interfacial específica en la columna de burbujeo

Las figuras (7) y (8) muestran la distribución del área interfacial específica en medio coalescente (agua destilada) y en medio no coalescente (solución acuosa de KCl 0.13 M), empleando un diámetro de difusor de 12 cm, para velocidades superficiales de aire de 0.54 cm/s y 3.42 cm/s, respectivamente. En general, al aumentar la velocidad superficial de aireación, la fracción de gas retenido también aumenta tanto para el líquido coalescente como para el líquido no coalescente; en cuanto al diámetro de burbuja se puede apreciar que hay una variación en cuanto a la distribución de tamaños de las burbujas lo que puede tener una relación con la velocidad superficial de aireación tal que cuando aumenta esta velocidad disminuye el intervalo del tamaño de burbuja, así como también se observa que el tamaño de las burbujas es menor cuando se aumenta la velocidad superficial de aireación; el área interfacial específica tiene un comportamiento similar al de la fracción de gas retenido, ya que mientras aumenta la velocidad

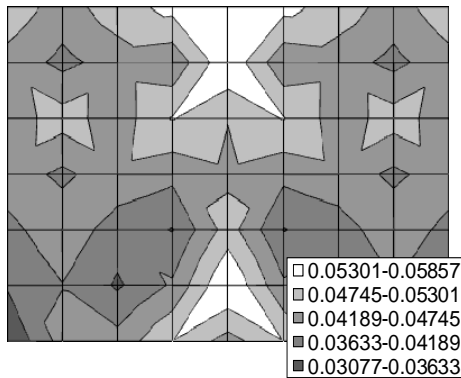
superficial de aireación aumenta también al área interfacial específica, esto a su vez está relacionado con la disminución del tamaño de burbuja que es inversamente proporcional al aumento de la velocidad superficial de aireación como se mencionó anteriormente, lo que contribuye, por su parte, al aumento de área interfacial específica. Por otro lado, el área interfacial específica, obtenida con el medio no coalescente, fue mayor que la correspondiente al medio coalescente, esto se puede observar también mediante la fracción de gas retenido y el diámetro de burbuja, ya que mientras aumenta la velocidad superficial de aireación la primera aumenta también mientras que el segundo disminuye. Asimismo se puede observar que al aumentar el diámetro del difusor de 2cm a 12 cm, el área interfacial específica aumenta hasta en un doble de su valor normal. Estos resultados ya se esperaban, de acuerdo a lo reportado por Zieminski y Whittemore (1971), así como por Godbole y col. (1984).

Asimismo, en las figuras (9) y (10) se identifican zonas con diferente actividad de transferencia de masa, pues el área interfacial específica es mayor en la región del difusor y menor en las regiones cercanas a la pared de la columna.

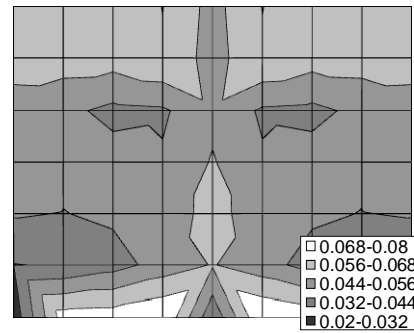
$v_g = 1.08 \text{ cm/s}$, diámetro difusor = 12 cm

Agua destilada

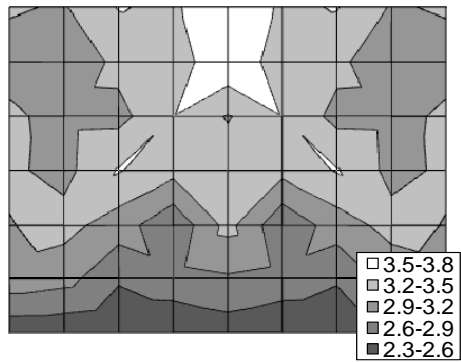
KCl 0.13M



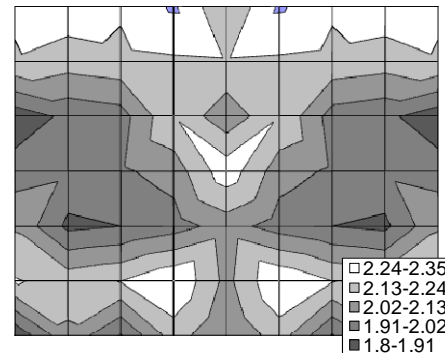
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



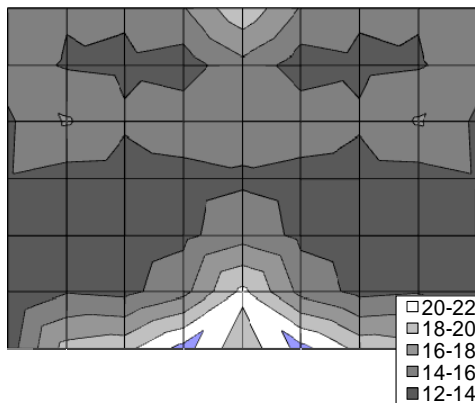
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



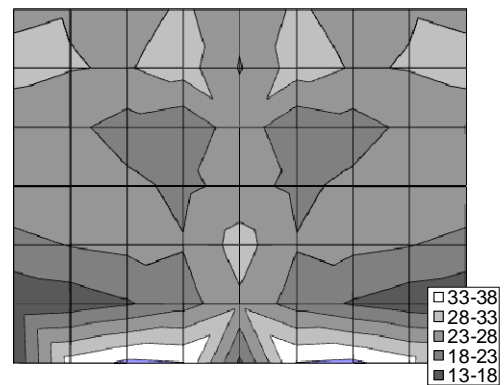
Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Área interfacial específica, a (m^{-1})



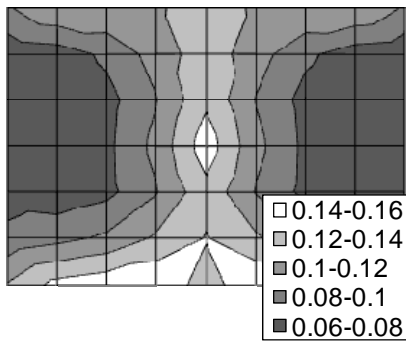
Área interfacial específica, a (m^{-1})

Figura (7). Distribución radial y axial de la fracción de gas retenido, el diámetro de burbuja y el área interfacial específica a , en agua destilada y en solución acuosa de KCL 0.13 M, empleando un difusor de 12 cm de diámetro, a $v_g = 1.08 \text{ cm/s}$. Valores del eje x: $r/R = -0.95, -0.83, -0.70, -0.54, 0, 0.54, 0.70, 0.83, 0.95$ (adimensional); valores del eje y: $h/H = 0.00, 0.17, 0.33, 0.50, 0.67, 0.83, 1.00$ (adimensional).

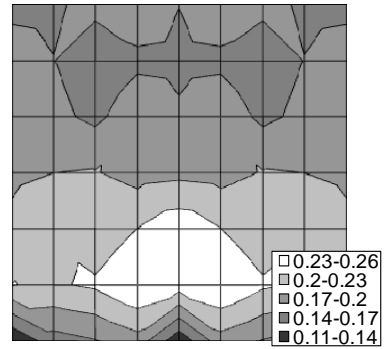
$v_g = 3.42$ cm/s, diámetro difusor = 12 cm

Agua destilada

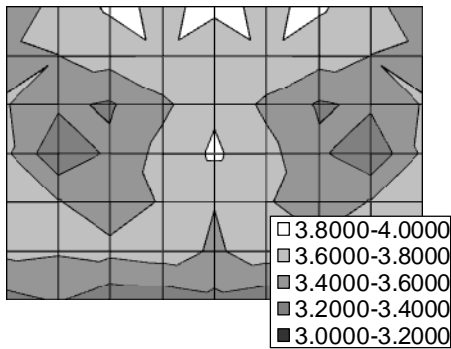
KCl 0.13M



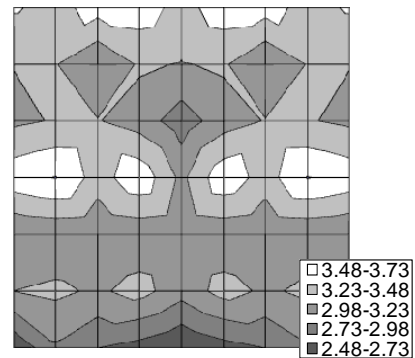
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



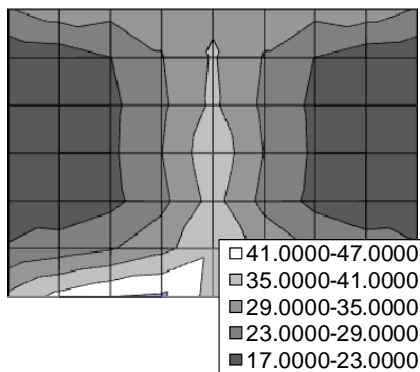
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



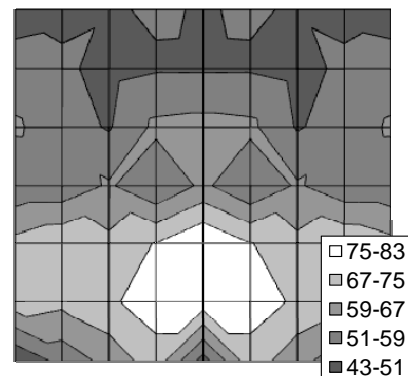
Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Área interfacial específica, a (m^{-1})



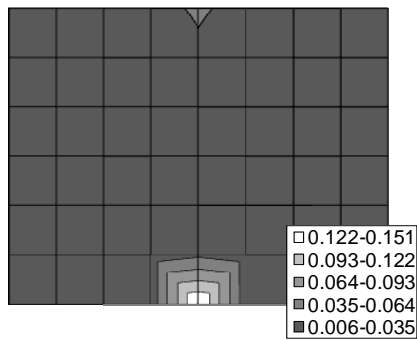
Área interfacial específica, a (m^{-1})

Figura (8). Distribución radial y axial de la fracción de gas retenido, el diámetro de burbuja y el área interfacial específica a , en agua destilada y en solución acuosa de KCl 0.13 M, empleando un difusor de 12 cm de diámetro, a $v_g = 3.42$ cm/s. Valores del eje x: $r/R = -0.95, -0.83, -0.70, -0.54, 0, 0.54, 0.70, 0.83, 0.95$ (adimensional); valores del eje y: $h/H = 0.00, 0.17, 0.33, 0.50, 0.67, 0.83, 1.00$ (adimensional).

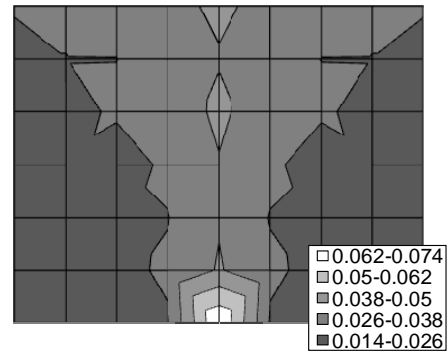
$v_g = 0.54$ cm/s, diámetro difusor = 2 cm

Agua destilada

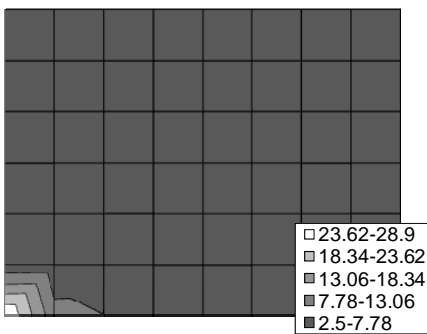
KCl 0.13M



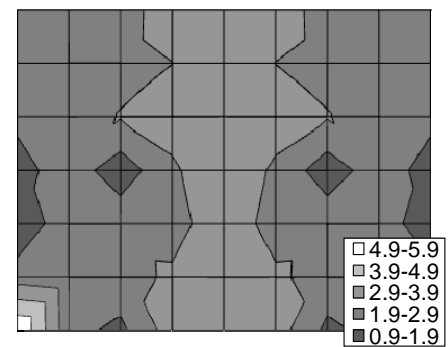
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



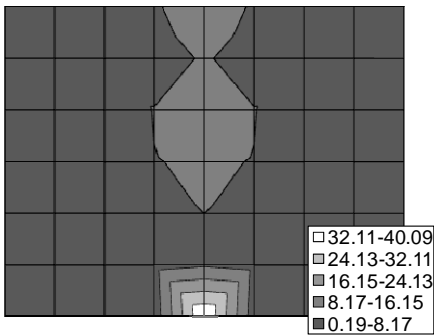
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



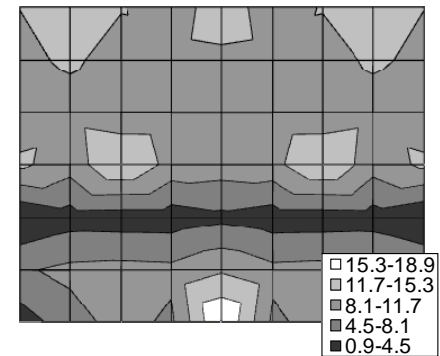
Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Área interfacial específica, a (m^{-1})



Área interfacial específica, a (m^{-1})

Figura (9). Distribución radial y axial de la fracción de gas retenido, el diámetro de burbuja y el área interfacial específica a , en agua destilada y en solución acuosa de KCl 0.13 M, empleando un difusor de 2 cm de diámetro, a $v_g = 0.54$ cm/s. Valores del eje x: $r/R = -0.95, -0.83, -0.70, -0.54, 0, 0.54, 0.70, 0.83, 0.95$ (adimensional); valores del eje y: $h/H = 0.00, 0.17, 0.33, 0.50, 0.67, 0.83, 1.00$ (adimensional).

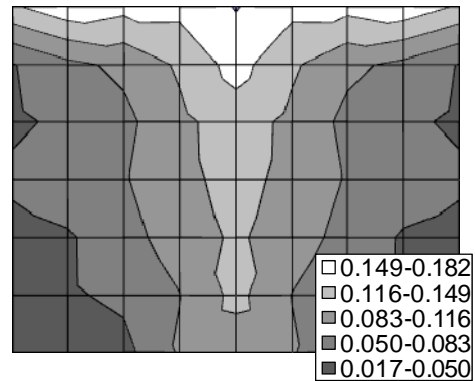
$v_g = 3.42$ cm/s, diámetro difusor = 2 cm

Agua destilada

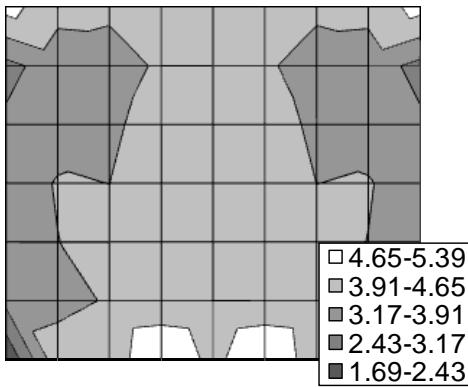
KCl 0.13M



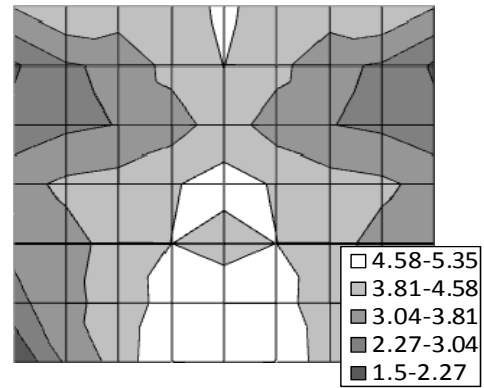
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



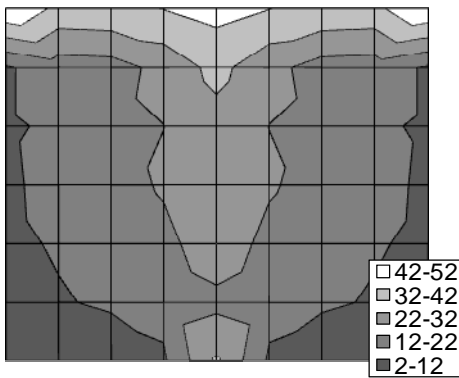
Fracción de gas retenido, ε (adimensional)



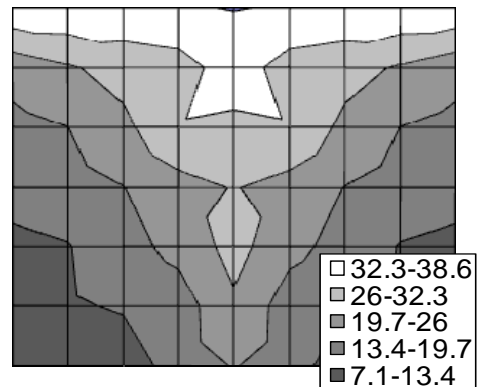
Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Diámetro de burbuja, d_3 (mm)



Área interfacial específica, a (m^{-1})



Área interfacial específica, a (m^{-1})

Figura (10). Distribución radial y axial de la fracción de gas retenido, el diámetro de burbuja y el área interfacial específica a , en agua destilada y en solución acuosa de KCl 0.13 M, empleando un difusor de 2 cm de diámetro, a $v_g = 3.42$ cm/s. Valores del eje x: $r/R = -0.95, -0.83, -0.70, -0.54, 0, 0.54, 0.70, 0.83, 0.95$ (adimensional); valores del eje y: $h/H = 0.00, 0.17, 0.33, 0.50, 0.67, 0.83, 1.00$ (adimensional).

En la figura (11) se puede observar el comportamiento global del área interfacial específica en función de la velocidad superficial de aireación, esto es para los dos difusores empleados y para los diferentes líquidos manejados. Lo que podemos apreciar es que el área interfacial específica es mucho más grande cuando se emplea el difusor de 12 cm y utilizando la solución salina como líquido de prueba; esto es esperado ya que esas condiciones son las óptimas para una óptima transferencia de oxígeno. Por otra parte, se observa que con el difusor de 12 cm se tiene y agua destilada se tiene una mayor área interfacial específica comparado con el difusor de 2 cm manejando la solución salina, hasta este momento y en este caso particular podemos decir que el parámetro que más influye en la distribución del área interfacial específica es el diámetro del difusor por encima de las propiedades del líquido que se emplee.

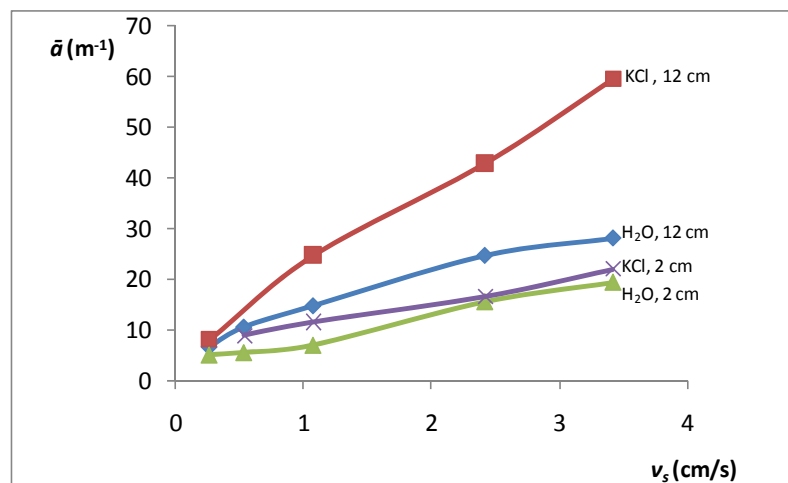


Figura (11). Comportamiento del área interfacial específica (m^{-1}) en función de la velocidad superficial de aireación (cm/s).

Los valores locales de la fracción de gas retenido y del diámetro promedio de burbuja basado en el volumen, obtenidos con los métodos de succión no isocinética y electro-óptico, desarrollados en este trabajo, permitieron calcular el área interfacial específica en diferentes regiones de la columna de burbujeo.

La distribución del área interfacial específica en columnas de burbujeo ha sido objeto de trabajos anteriores tales como el de Kulkarni y col. (2001), quienes usaron la técnica de anemometría de película caliente. Por otro lado, en reactores de tanque agitado, Popovic y Robinson (1987) mencionan diferencias importantes en el cálculo del área interfacial al emplear tres métodos: fotografía, dispersión de luz y oxidación de sulfito. Oyevaar y Westerterp (1989), reportan un error menor a 20% entre los valores de área interfacial específica obtenidos utilizando el método de oxidación y geoméricamente, debido a promedios incorrectos cuando los tamaños de burbuja y tiempos de residencia no son uniformes.

La distribución de área interfacial en reactores de tanque agitado, también ha sido el objeto de trabajos anteriores como los de Greaves y Kobbacy (1984); y Alves y col. (2002), quienes usaron el método electroóptico. La diferencia del método empleado por ellos, con respecto al método presentado en este trabajo, es que ellos trataron de emplear condiciones de succión isocinéticas, mientras que en este trabajo, la succión se realizó a condiciones claramente no isocinéticas. Esto representa una ventaja de nuestro método con respecto a la facilidad de aplicación.

La principal limitante de nuestro trabajo en el cálculo de área interfacial específica, es que el diámetro utilizado fue el diámetro promedio basado en el volumen y no el diámetro promedio de Sauter. Los errores máximos observados fueron el de la fracción de gas retenido (4%) y el del diámetro promedio de burbuja basada en el volumen (4%); estos errores determinan que el error máximo en la determinación de la área interfacial específica, sería de $\pm 8\%$ y el error promedio sería de $\pm 4\%$.

Los errores cometidos en la determinación de los parámetros constitutivos del área interfacial específica calculada en este trabajo, es inferior al 20% obtenido por Oyevaar y Westerterp, (1989), como se mencionó anteriormente. También, Kawase y col. (1987) hacen referencia de la gran dispersión en datos publicados de área interfacial específica. En efecto, en este trabajo el error fue de $\pm 8\%$. Sin embargo, el cálculo de área interfacial específica fue realizado a partir de datos de fracción de gas retenido y de diámetro de burbuja basado en el volumen, que fueron obtenidos con métodos sencillos, que conforman un mismo sistema, constituido de partes fáciles de conseguir y de bajo costo. Es importante hacer notar que el método empleado para el cálculo del área interfacial específica tiene la ventaja de que se obtienen tres parámetros (fracción de gas retenido, diámetro de burbuja y área interfacial específica) simultáneamente, mientras que con otros métodos se obtienen los parámetros de manera disgregada y esto puede ser la causa de la obtención de mayores porcentajes de error que en el método empleado en este trabajo.

Los resultados presentados en las figuras (7) y (8) muestran una clara distribución de área interfacial específica. Esos resultados permiten identificar zonas en donde el área interfacial es baja o nula.

VI. CONCLUSIONES

El método de succión no isocinética y electro-óptico para la determinación del área interfacial específica es sencillo, económico y práctico.

El error máximo de la determinación del área interfacial específica es de 8%. Dicho error es resultado de la propagación de los errores de los métodos de determinación de la fracción de gas retenido y diámetro de burbuja.

La fracción de gas retenido y el diámetro de burbuja basado en el volumen, obtenidos con dicho método, permitieron determinar el área interfacial específica *local*.

El acoplamiento de los métodos de succión no isocinética y electro-óptico permite la obtención simultánea de los tres parámetros, esto hace que sea no solamente un método práctico y de fácil aplicación sino que además evita el llevar a cabo diferentes métodos para la obtención de dichos parámetros de manera separada, y esto evita a su vez, ser una causa de errores en las determinaciones.

El método de succión no isocinética y electro-óptico permite obtener parámetros locales, mediante los cuales se observa toda una distribución del área interfacial específica, esto nos ayuda a comprender la distribución de la transferencia de oxígeno en las diferentes zonas del biorreactor bajo diferentes condiciones de operación.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar la medición del coeficiente volumétrico de transferencia de masa k_La por el método dinámico en el biorreactor.

A través del k_La y el a se puede obtener el k_L , y así tener todos los parámetros constitutivos del coeficiente volumétrico de transferencia de masa, para así determinar cuál de todos ellos tiene mayor impacto en la transferencia de oxígeno.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hernández González I. C.; 2006. Medición de la fracción de gas retenido en un biorreactor de columna de burbujas. Tesis Profesional para obtener el Título de Ingeniero Biotecnólogo. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional. Departamento de Bioingeniería.
- Vital Martínez V. H.; 2006. Medición del diámetro de burbuja en un biorreactor de columna de burbujas. Tesis Profesional para obtener el Título de Ingeniero Biotecnólogo. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional. Departamento de Bioingeniería.
- Buchholz, R., Shügerl, K., 1979. *Bubble column bioreactors. I. Methods for measuring the bubble size*. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 6, 301-313.
- Buchholz, R., Shügerl, K., 1979. Investigations of the structure of two phase flow model media in bubble column bioreactors. Transvers variations of local properties when coalescence-promoting media are used. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 6, 135-145.
- Akita, K., Yoshida, F., 1974. Bubble size, interfacial area, and liquid-phase mass transfer coefficient in bubble columns. Industrial and Engineering Chemistry, Process Design and Development, pp. 84-91
- Bailey J. E. Ollis, D.F., 1977. Biochemical Engineering Fundamentals. McGraw-Hill, New York, pp. 411-496.
- Deckwer, W.D., 1992. Bubble Column Reactors. Willey, New York, pp. 157-254.
- Fröhlich, S., Lotz, M., Larson, B., Lübbert, A., Shügerl, K., Seekamp, M., 1991. Characterization of a pilot plant airlift tower loop reactor: III Evaluation of a local properties of the dispersed gas phase during yeast cultivation and in a model media. Biotechnology and Bioengineering 38, 56-64.
- García-Salas, S., Orozco-Álvarez, C., Porter, R.M., Thalasso, F., 2000. Measurement of local gas holdup in bubble columns via a non-isokinetic withdrawal method. Chemical Engineering Science 60, 6929-6938.

- Greaves, M., Kobbacy, K., 1984. Measurement of bubble size distribution in turbulent gas-liquid dispersions. *Chemical Engineering Research and Design* 62, 3-12.
- Hofmeister, J.J.M., 1988. Gas holdup measurements in bioreactors. *Trends in biotechnology* 6, 19-22.
- Kargi, F., Moo-Young, M., 1985. *Transport Phenomena in Bioprocesses: Comprehensive Biotechnology*. Pergamon Press 2: 6-54.
- Lee, J.M., 1992. *Agitation and Aeration*. En: *Biochemical Engineering*. Prentice-Hall, Inc. NJ. USA, pp. 240-283.
- Lübbert, A., 1991. Characterizations of bioreactors. En: Shügerl, K., (ed) *Measuring, Modelling and Control*. In Rehm H.J., Reed G (eds). *Biotechnology*, vol. 4 VCH Weinheim, pp. 109-142.
- Montgomery, D.C., 1997. *Design and analysis of experiments*. Wiley, New York, pp. 20-62.
- Treybal, R.E., 1980. *Mass Transfer Operations*, McGraw-Hill, New York
- Winkler, M.A., 1990. Problems in fermenter design and operation. En: *Chemical Engineering Problems in Biotechnology. Critical Reports on Applied Chemistry*. Vol. 29. Winkler, M.A. (Editor). SCI by Elsevier Applied Science. London & New York, pp. 235-278.
- Zieminsky, S.A., Whittemore, R.C., 1971. Behavior of gas bubbles in aqueous electrolyte solutions. *Chemical Engineering Science* 26, 509-520.